



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA E AMBIENTE
CENTRO INTERDISCIPLINAR DE ENERGIA E AMBIENTE (CIEnAm)
DOUTORADO EM ENERGIA E AMBIENTE

ADRIANO BRAGA DOS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E
BIOLÓGICOS DE RSU PARA AVALIAÇÃO DO AMBIENTE DE
DECOMPOSIÇÃO EM ATERROS SANITÁRIOS**

Salvador
2020

ADRIANO BRAGA DOS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E
BIOLÓGICOS DE RSU PARA AVALIAÇÃO DO AMBIENTE DE
DECOMPOSIÇÃO EM ATERROS SANITÁRIOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia e Ambiente, programa do Centro Intedisciplinar em Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Energia e Ambiente.

Orientadores: Prof^o. Dr. Sandro Lemos Machado
Prof^o. Dr. Ednildo Andrade Torres

Salvador
2020

S237 Santos, Adriano Braga dos.
Utilização de parâmetros físicos, químicos e biológicos de RSU para
avaliação do ambiente de decomposição em aterros sanitários/ Adriano Braga dos
Santos. – Salvador, 2020.
117 f. : il. color.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Lemos Machado.
Coorientador: Prof. Dr. Ednildo Andrade Torres.

Tese (doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica,
2020.

1. Aterro sanitário. 2. Resíduos sólidos urbanos. 3. Digestão anaeróbica. 4.
Microorganismo. I. Machado, Sandro Lemos. II. Torres, Ednildo Andrade. III.
Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

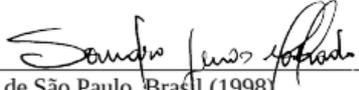
CDD: 624.4

TERMO DE APROVAÇÃO

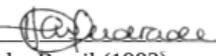
ADRIANO BRAGA DOS SANTOS

“UTILIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE RSU PARA AVALIAÇÃO DO AMBIENTE DE DECOMPOSIÇÃO EM ATERROS SANITÁRIOS”.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Sandro Lemos Machado  _____
Doutor em Geotecnia pela Universidade de São Paulo, Brasil (1998).

Prof. Dr. Ednildo Andrade Torres  _____
Doutor em Engenharia Mecânica pela Universidade Estadual de Campinas, Brasil (1999).

Profa. Dra. Heloysa Martins Carvalho Andrade  _____
Doutora em Química pela Universidade de São Paulo, Brasil (1983).

Profa. Dra. Adriana Oliveira Medeiros  _____
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil (2005).

Prof. Dr. Aristóteles Góes-Neto  _____
Doutor em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil (2001).

Profa. Dra. Carine Tondo Alves  _____
Doutor em Engenharia Industrial pela Universidade Federal da Bahia, Brasil (2012).

Salvador, 15 de julho de 2020.

Aos meus pais (*in memoriam*) pela educação alicerçada nos valores de respeito, dedicação e honestidade na minha vida e dos meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força para enfrentar todos os momentos difíceis da minha vida.

A minha querida esposa Emanuele, companheira e sempre presente na minha vida.

A meu filho João Miguel e minha enteada Laylla e meus irmãos: Flávio, Fábio, Fernando e Tarciano pelas palavras, gestos de carinho, incentivo e presença na minha vida.

Ao amigo e parceiro Anderson Viana pela energia e incentivo na seleção do doutorado.

Ao meu orientador Sandro Lemos Machado, pela oportunidade, apoio permanente e exigência para realização desta pesquisa mesmo em tempos difíceis da educação pública.

Agradeço ao meu orientador prof. Ednildo Andrade Torres pela simplicidade e sugestões valiosas durante a pesquisa.

Ao meu Co-Orientador, o prof. Aristóteles Góes Neto pelo seu idealismo acadêmico, as sugestões e apoio decisivo nas análises da metagenômica.

Ao professor Gilson Correia de Carvalho da UFBA pela costumeira parceria e ajuda com a Bioestatística no tratamento dos resultados.

Ao pessoal da Biologia da UFMG por todo apoio nas análises da metagenômica.

A prof(a) Adriana Medeiros e a mestranda Juliana do Laboratório de Microbiologia Ambiental da UFBA pelo acolhimento e apoio incondicional nos ensaios microbiológicos.

Agradeço a Coordenação do PGENAM, o professor Caio Mário, a secretaria em nome de Vera e Ana por todo apoio e acolhimento durante toda minha jornada no curso.

À empresa BATTRE e aos seus colaboradores na parceria com o GEOAMB e UFBA.

Aos colegas do GEOAMB, pelo apoio nas atividades de campo e laboratório. Em especial aos técnicos Jeová e Ricardo pelo apoio constante e convivência agradável.

Aos meus colegas de luta da EMBASA pelos incentivos na caminhada.

Aos colegas do doutorado e do Geoamb da UFBA, Àtila Caldas, Cássia Juliana, Larissa Damasceno, Leandro Gomes, Raul Guerreiro, Zenite, Bruno Lôbo, Fernanda e Vitor.

O meu sincero obrigado.

Quando tudo estiver ruim não abaixe a cabeça. Pense positivo e perceba que há mais coisas belas do que você imagina. Tudo tem dois lados. Fique com o lado bom...

(Divaldo Franco)

SANTOS, A.B. Utilização de Parâmetros Físicos, Químicos e Biológicos de RSU para Avaliação do Ambiente de Decomposição em Aterros Sanitários. 117 p. il. 2020. Tese (Doutorado) - Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

RESUMO

Os aterros sanitários são equipamentos de engenharia para disposição de resíduos sólidos urbanos (RSU) com vistas à proteção do meio ambiente e da saúde pública, modernamente encarados como biorreatores, onde as atividades microbianas de digestão anaeróbia desempenham um papel crucial no seu comportamento e na geração do biogás com potencial energético. Nesse trabalho técnicas moleculares (metagenômica) foram utilizadas para testar a hipótese de que uma eventual entrada de oxigênio nas células do maciço através da camada de cobertura estivesse interferindo na composição, diversidade e estrutura microbiana dos RSU dispostos no Aterro Sanitário Metropolitano Centro (ASMC), localizado na Região Metropolitana de Salvador (RMS), na Bahia. Os resultados da análise metagenômica demonstraram que o sequenciamento de alto rendimento do rDNA 16S pode fornecer uma visão abrangente da estrutura e diversidade das comunidades procarióticas e do padrão de distribuição de grupos no ambiente de decomposição dos RSU. No presente caso, as análises taxonômicas indicaram que os filos Firmicutes (41,3%) e Euryarchaeota (16,8%) são os táxons microbianos mais abundantes dos RSU já aterrados nas áreas rentes ao dreno de gás DG 266 de alta sucção do ASMC. Os grupos microbianos encontrados no aterro sanitário se encaixam bem nas vias clássicas dos processos de digestão anaeróbica. A maioria dos gêneros microbianos identificados foram anaeróbicos e superiores aos gêneros aeróbicos. Apesar de uma predominância dos gêneros anaeróbicos, o uso da técnica estatística PCA com distância Hellinger evidenciou a diferença entre amostras com distâncias/profundidades diferentes ($p = 0,0001$ e $p = 0,0025$, respectivamente). Os gêneros de micro-organismos mais abundantes encontrados foram *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanofollis*, *Desulfosporosinus*, *Anaerolinea* e *Clostridium*, todos anaeróbicos. Os resultados obtidos corroboram a hipótese de entrada de oxigênio para o interior do maciço de RSU já aterrado do ASMC pela camada de cobertura, o que altera o ambiente de decomposição e leva a uma queda na produção de metano. A variável que mais apresentou coeficiente de correlação elevado foi a distância, seguida de Eh e profundidade. As análises de correlação e de PCA mostraram que a diversidade microbiana no aterro foram afetadas pela distância e profundidade de aterramento.

Palavras – chave: Aterro Sanitário, Resíduos Sólidos Urbanos, Digestão anaeróbica, Micro-organismos, Metagenômica.

SANTOS, A.B. Utilization of Physical, Chemical and Biological Parameters of MSW for Evaluation of Decomposition Environment in Sanitary Landfills. 117 p. il. 2020. Tese (Doutorado) - Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

ABSTRACT

The landfills are engineering equipment for the disposal of solid urban waste (MSW) with a view to protecting the environment and public health, modernly regarded as bioreactors, where anaerobic digestion microbial activities play a crucial role in their behavior and biogas generation, with energy potential. In this work molecular techniques (metagenomics) were used to test the hypothesis that an eventual oxygen entry into the massif cells through the cover layer was interfering in the composition, diversity and microbial structure of the MSW disposed at the Metropolitan Sanitary Landfill Center (MSLC), in the Metropolitan Region of Salvador (MRS), in Bahia. The results of metagenomic analysis demonstrated that high throughput sequencing of 16S rDNA can provide a comprehensive overview of the structure and diversity of prokaryotic communities and the pattern of group distribution in the MSW decomposition environment. In the present case, taxonomic analyzes indicated that Phyla Firmicutes (41.3%) and Euryarchaeota (16.8%) are the most abundant microbial taxa from MSW ever grounded in the areas surrounding the MSLC DG 266 high suction gas drain. The microbial groups found in the landfill fit well with the classic pathways of anaerobic digestion processes. Most of the microbial genera identified were anaerobic and superior to the aerobic genera. Despite the predominance of anaerobic genera, the use of the Hellinger distance PCA statistical technique showed the difference between samples with different distances / depths ($p = 0.0001$ and $p = 0.0025$, respectively). The most abundant genera of microorganisms found were *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanofollis*, *Desulfosporosinus*, *Anaerolinea* and *Clostridium*, all anaerobic. The results corroborate the hypothesis of oxygen inflow into the MSLC already grounded MSW massif by the cover layer, which changes the decomposition environment and leads to a drop in methane production. The variable with the highest correlation coefficient was distance, followed by Eh and depth. Correlation and PCA analyzes showed that the microbial diversity in the landfill was affected by the distance and depth of grounding.

Keywords: Landfill, Urban solid waste, Anaerobic Digestion, Microorganisms, Metagenomic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Destinação de resíduos domésticos e resíduos públicos em relação à quantidade...	25
Figura 2- Evolução das quantidades de resíduos domésticos mais resíduos públicos destinados a lixões, aterros e unidades de triagem e compostagem nos 4 últimos anos.....	26
Figura 3 - Fatores que interferem na produção de biogás.....	27
Figura 4 - Etapas metabólicas e microbiota envolvida na digestão anaeróbica.....	30
Figura 5 - Características gerais de Bactéria, Archaea e Eukarya.....	34
Figura 6 - Valores de L_0 experimentais e ajustados em função do tempo de aterramento.....	43
Figura 7 - Curva do comportamento da geração total de CH_4 no ASMC.....	44
Figura 8 - Aparato experimental de biodigestor anaeróbico.....	45
Figura 9 - Aparato experimental do biodigestor.....	45
Figura 10 - Aparato experimental de biodigestor.....	46
Figura 11 - Estação de Transbordo de RSU no bairro de Canabrava, Salvador-Ba.....	50
Figura 12 - Vista aérea do ASMC, Salvador-Ba.....	51
Figura 13 - Fluxograma dos ensaios físico, químicos e biológicos.....	52
Figura 14 - Processo de coleta e quarteamento do RN no ASMC.....	53
Figura 15 - Processo de separação das amostras de RN no ASMC.....	53
Figura 16 - Delimitação da área de estudo e dreno de gás DG 266 no ASMC, Salvador-Ba...	54
Figura 17 - Localização dos pontos de amostragem e atividades no DG 266 do ASMC.....	56
Figura 18 - Máquina usada para retirada do solo e do RA no ASMC.....	56
Figura 19 - Adaptação do equipamento de teste de sondagem a percussão.....	56
Figura 20 - Cilindro de N_2 e aparato de coleta de RA no ASMC.....	57
Figura 21 - Monitoramento do O_2 com o GEM 5000 e dreno DG 266 a no ASMC.....	57
Figura 22 - Fotos ilustrativas do processo de seleção dos constituintes do RSU.....	59
Figura 23 - Aparato para determinação do pH e do Eh.....	60
Figura 24 - Aparato do ensaio com a placa de fluxo.....	61
Figura 25 - Materiais para realizar da técnica de diluição seriada.....	63
Figura 26 - Meio <i>PCA</i> para bactérias aeróbicas.....	63
Figura 27 - Meio de cultura Anaerobic Agar.....	64
Figura 28 - Câmara de fluxo para inoculação.....	64
Figura 29 - Jarra de anaerobiose com Anaerocult.....	65
Figura 30 - Biodigestores de aço inox para o BMP.....	67
Figura 31 - Biodigestor de aço inox para análise de BMP com o Gasgem 5000.....	68
Figura 32 - Aparato experimental para confinamento dos digestores.....	68
Figura 33 - Composição gravimétrica dos RN 10/17 em base seca.....	74
Figura 34 - Abundância relativa (%) de OTUs por filos nos RSU do ASMC.....	81
Figura 35 - Abundância relativa (%) de arqueas e bactérias.....	83
Figura 36 - Abundâncias (%) dos filos nas áreas. a) D2P2; b) D2P4; c) D20P2 e d) D20P4...	84
Figura 37 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D2P2...	86
Figura 38 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D2P4...	87
Figura 39 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D20P2.	87
Figura 40 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D20P4.	88
Figura 41 - PCA da distância Hellinger relacionando com diferentes distâncias.....	94
Figura 42 - PCA da distância Hellinger relacionando com diferentes profundidades.....	95
Figura 43 - PCA e a superposição das variáveis ambientais em diferentes distâncias.....	96
Figura 44 - PCA e a superposição das variáveis ambientais em diferentes profundidades.....	96
Figura 45 - Abundâncias dos gêneros relacionados às diferentes etapas de biodecomposição	98
Figura 46 - Emissões fugitivas na área de estudo.....	100

Figura 47 - Comportamento da geração de CH ₄ durante os ensaios de BMP para RN.....	103
Figura 48 - Comportamento da geração de CH ₄ durante os ensaios de BMP para RA.....	104

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Sequência das etapas dos ensaios através da Microbiologia tradicional.....	62
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Teor de umidade em base seca de cada componente do RN.....	70
Tabela 2 -Teor de umidade em base seca de cada componente do RA.....	70
Tabela 3 - Teor de umidade global para os RN.....	71
Tabela 4 -Teor de umidade global para os RA.....	71
Tabela 5 - Composição gravimétrica dos RN na base seca (BS) e base úmida (BW).....	72
Tabela 6 - Composição gravimétrica dos RA na base seca (BS) e base úmida (BW).....	73
Tabela 7 -Teor de STV, MO e Lignina para a fração pastosa dos RN.....	75
Tabela 8 -Teor de Fração Pastosa, STV, Lignina e MO para a fração pastosa dos RA.....	75
Tabela 9 - Resultados de pH e Eh, dos RSU já aterrados (RA).....	77
Tabela 10 - Resultados de bactérias aeróbicas e anaeróbicas dos RA.....	79
Tabela 11 - Características biológicas dos micro-organismos por filos.....	80
Tabela 12 - Correlação dos micro-organismos relacionados com as variáveis independentes.....	90
Tabela 13 - Grupos microbianos anaeróbicos relacionados com as variáveis independentes.....	92
Tabela 14 - Grupos microbianos A e ANF relacionados com as variáveis independentes.....	93
Tabela 15 - Correlação dos grupos microbianos com as variáveis ambientais.....	93
Tabela 16 - Resultados da geração e da composição do biogás, L0 e dos valores ajustados de k para as amostras de RN e RA ensaiadas nos testes de BMP.....	101

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ASMC	Aterro Sanitário Metropolitano Centro
BMP	Potencial Bioquímico de Metano
BW	Base Úmida
BS	Base Seca
CONDER	Companhia de Desenvolvimento Urbano do Estado da Bahia
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DG	Dreno de Gás
Eh	Potencial redox
IPCC	Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas
GEOAMB	Laboratório de Geotecnia Ambiental
k	Constante relacionada à taxa de geração de metano
L ₀	Potencial de geração de metano
MO	Matéria orgânica
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OTU	Unidade Taxonômica Operacional
p	Probabilidade
PCA	Análise de Componentes Principais
<i>PCA</i>	<i>Plate Count Agar</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogênionico
RA	Resíduo Aterrado
RN	Resíduo Novo
rRNA	<i>Ribosomal ribonucleic Acid</i>
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SPT	<i>Standard Penetration test</i>
STV	Sólidos Totais Voláteis
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Objetivos.....	20
1.1.1 Objetivo Geral.....	20
1.1.2 Objetivos específicos.....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS.....	22
2.2 ATERROS SANITÁRIOS.....	24
2.2.1 Drenagem do biogás.....	27
2.2.2 Camada de cobertura.....	27
2.3 DIGESTÃO ANAERÓBICA DOS RSU.....	28
2.3.1 Hidrólise.....	30
2.3.2 Acidogênese.....	31
2.3.3 Acetogênese.....	32
2.3.4 Metanogênese.....	32
2.4 COMUNIDADES MICROBIANAS ENVOLVIDAS NA DIGESTÃO DOS RSU... 33	
2.4.1 Bactérias.....	34
2.4.2 Archaeas.....	35
2.5 TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS TRADICIONAIS.....	37
2.6 TÉCNICAS MOLECULARES EMPREGADAS PARA OS ESTUDOS DA MICROBIOTA RELACIONADA COM A DIGESTÃO ANAERÓBICA DOS RSU.....	39
2.7 GERAÇÃO DE CH ₄ EM ATERROS SANITÁRIOS.....	41
2.8 TÉCNICAS LABORATORIAIS PARA O ESTUDO DO BMP EM RSU.....	45
2.9 TÉCNICAS DE METAGENÔMICA USADAS EM ATERROS SANITÁRIOS.....	47
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	50
3.2 ANÁLISES EXPERIMENTAIS.....	51
3.2.1 Caracterização dos RSU.....	52
3.2.1.1 Coleta dos RN.....	52
3.2.1.2 Coleta de amostras de RA.....	53
3.2.1.3 Ensaio de umidade dos RN e RA.....	58

3.2.1.4	<i>Análise da composição gravimétrica dos RN e RA</i>	58
3.2.1.5	<i>Análise do teor de STV dos RN e RA</i>	59
3.2.1.6	<i>Análise de lignina dos RN e RA</i>	59
3.2.1.7	<i>Análise do pH e do potencial redox (Eh) dos RA</i>	60
3.2.2	Ensaio de placa estática no maciço de RA.....	60
3.2.3	Análises biológicas tradicionais dependentes de cultivo.....	61
3.2.3.1	<i>Processamento das amostras</i>	62
3.2.3.2	<i>Análise dos micro-organismos aeróbicos</i>	63
3.2.3.3	<i>Análise dos micro-organismos anaeróbicos</i>	64
3.2.4	Análises biológicas moleculares independente de cultivo.....	65
3.2.4.1	<i>Processamento das amostras em laboratório úmido</i>	65
3.2.4.2	<i>Processamento das amostras em laboratório seco</i>	66
3.2.5	Análise do BMP nas amostras de RN e RA.....	66
3.2.6	Análise estatística de correlação.....	69
3.2.7	Análise bioestatística multivariada.....	69
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS RSU.....	70
4.1.1	Umidade dos RN e RA.....	70
4.1.2	Composição gravimétrica dos RN e RA.....	72
4.1.3	STV e Teor de Lignina dos RN e RA.....	74
4.2	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH), POTENCIAL REDOX (Eh) e TEMPERATURA DOS RA.....	76
4.3	RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS QUANTITATIVOS PARA AERÓBICOS E ANAERÓBICOS DOS RA.....	78
4.4	RESULTADOS DA METAGENÔMICA DOS RSU JÁ ATERRADOS (RA).....	79
4.4.1	Análise Taxonômica Microbiana a Nível de Filo.....	79
4.4.2	Análise Taxonômica Microbiana a Nível de Gênero.....	85
4.4.3	Diversidade Microbiana relacionada a Variáveis Independentes.....	89
4.4.4	Composição Microbiana relacionada com as Fases/tipo de Decomposição Anaeróbica.....	97
4.5	MEDIÇÕES DO ENSAIO DE PLACA ESTÁTICA NO MACIÇO DE RSU.....	99

4.6 POTENCIAL DE GERAÇÃO DE METANO (BMP) EM RN e RA.....	101
5 CONCLUSÃO.....	105
6 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS.....	107
REFERÊNCIAS.....	108

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas ambientais e de saúde pública no mundo é proveniente da disposição inadequada de resíduos sólidos. Dentre estes, o resíduo que vem recebendo maior atenção das administrações municipais, dos técnicos e da sociedade em geral, é o resíduo sólido urbano (RSU), isso muito em função do grande volume gerado e conseqüentemente dos enormes custos envolvidos (GHANEM et al., 2001).

No Brasil, a situação não é diferente e, em especial na Bahia, este é um problema de grande dimensão, perante o enorme volume gerado, problemas logísticos para coleta e transporte, além da condição errada em que os RSU são dispostos em boa parte dos seus municípios.

Apesar disso, é digno de nota, a criação no Brasil de um arcabouço legal que estabelece diretrizes para a gestão dos resíduos sólidos, por meio da Política Nacional de Resíduos Sólidos (Lei nº 12.305/2010), e para a prestação dos serviços públicos de limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos por meio da Lei Federal de Saneamento Básico (Lei nº 11.445/2007).

Todo este aparato legal, se empregado corretamente, deverá permitir o resgate da capacidade de planejamento e de gestão dos serviços públicos de saneamento básico, fundamental para a promoção de um ambiente mais saudável, com menos riscos à população.

No Brasil, os RSU são dispostos muitas vezes em condições inadequadas, nos aterros controlados e em lixões. Os aterros controlados são estruturas que levam em consideração alguns critérios de engenharia para confinar os RSU, como compactação da base e/ou cobertura diária de RSU, pecando, contudo, pela falta de adoção de diversas outras medidas de proteção ambiental. Dentre as alternativas ambientalmente defensáveis, o aterro sanitário é indicado como uma forma de armazenamento e tratamento de RSU com base em critérios de engenharia com vista à proteção ambiental e da saúde pública (CALDAS, 2011).

Por outro lado, frente a crise de combustíveis fósseis, a poluição atmosférica e o aquecimento global, o desenvolvimento de formas de energia renováveis tornou-se imperativo para a sociedade, sendo que a geração de biogás da biomassa dos RSU provenientes dos aterros sanitários, considerada renovável e favorável ao meio ambiente, vem ganhando mais atenção em muitos países. Por conta destes aspectos, apesar da existência de processos alternativos de tratamento e redução de volume dos RSU, como a incineração e a compostagem, os aterros sanitários continuam sendo uma tecnologia de tratamento comumente utilizada em muitos países no mundo, singularmente nas nações em desenvolvimento como o Brasil, onde os aterros sanitários são a principal forma embasada na engenharia de disposição de resíduos.

A operação e funcionamento dos aterros sanitários envolvem diversos problemas geotécnicos

que, para serem solucionados, exigem uma visão ampla do comportamento dos RSU ao longo do tempo, bem como, a atuação destes em relação as diferentes tecnologias e operação (MARQUES 2001).

Desta forma, na rotina operacional deve-se levar em conta os aspectos geotécnicos, a pressão do biogás no maciço e o volume de líquido percolado e os aspectos relacionados a geração de biogás, a umidade, o ambiente de decomposição e o lançamento de novas camadas. Por conta do potencial aproveitamento do metano, com a conseqüente redução das emissões fugitivas e os ganhos com os créditos de carbono, o aterro sanitário é hoje considerado como um grande biorreator, onde ocorrem diversas reações químicas e biológicas sob a interferência direta das condições ambientais durante a sua operação.

Em se tratando do ASMC, localizado na Região Metropolitana de Salvador (RMS), na Bahia, objeto de estudo deste trabalho, Caldas (2011), onde obteve o potencial de geração de CH_4 (L_0) com valores entre 17,7 e 26,8 $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{Mg-RSU}$ seco e a constante relacionada à taxa de geração de CH_4 (k) igual a $0,38 \text{ ano}^{-1}$ dos RSU já aterrados do ASMC. De acordo os resultados apresentados pelo autor em 2009 ocorreu uma queda na produção de CH_4 *in loco* devido as mudanças operacionais no aterro, as quais impactaram com valores abaixo do mínimo do I.C. (intervalo de confiança).

Damasceno (2018), que estudou as emissões fugitivas no ASMC, relata que a produção de metano apresentou em média 57% da capacidade prevista para a sua geração, indicando que o sistema de drenagem e reaproveitamento de biogás do aterro não vem trabalhando com total eficiência. Ainda segundo a autora, as emissões fugitivas de metano não é a única variável que vem causando redução na geração do gás no aterro, pois, representaram em média apenas 14%, assim os estudos da autora não explicou a queda da produção de metano na sua totalidade.

Desta forma, acredita-se que o problema da queda na produção do biogás do ASMC esteja relacionado a outras variáveis físicas, químicas e biológicas, assim como uma série de medidas operacionais especificamente, o uso de camadas de cobertura com solo de permeabilidade média a alta, sem a adoção de mantas impermeáveis e principalmente a aplicação de elevadas pressões de sucção nos drenos de biogás a qual pode estar favorecendo a entrada do oxigênio atmosférico para o interior das células, pelo menos nas regiões situadas mais proximamente aos drenos instalados. Assim, estes eventos podem estar interferindo nas condições internas das células que regulam os processos de decomposição, causando interferência na composição microbiana anaeróbica que é essencial, à fase metanogênica, imprescindível à geração do gás metano.

Nesta pesquisa foram desenvolvidas diversas atividades investigativas de campo com vistas a análise da eventual entrada de oxigênio nas células do maciço em decorrência das elevadas pressões de sucção aplicados aos drenos e seus efeitos na composição, diversidade e estrutura microbiana

dos RSU já aterrados através de técnicas tradicionais e moleculares (metagenômica), assim como, avaliar a produção de biogás no ASMC a partir da digestão anaeróbica dos RSU.

Essa pesquisa tem relevância na área de energia e meio ambiente, bem como, ecologia e saúde pública contribuindo com informações sobre as variáveis que influenciam os processos de decomposição dos RSU e da geração de biogás nos aterros sanitários, o que permitirá um melhor controle das emissões de CH₄ para o ambiente e um maior aproveitamento desse gás.

O trabalho está organizado de forma que o objetivo geral, bem como os objetivos específicos, são apresentados no capítulo 1. Na revisão bibliográfica pesquisou-se sobre os RSU, construção e operação de aterros sanitários, características dos lixiviados, digestão anaeróbica de RSU, comunidades microbianas envolvidas na digestão dos RSU, as técnicas microbiológicas tradicionais e moleculares empregadas para os estudos da microbiota relacionada com a digestão anaeróbica dos RSU, a avaliação da produção de CH₄ nos aterros sanitários, as diferentes técnicas laboratoriais para o estudo do potencial bioquímico de produção de metano (BMP) em RSU e as técnicas de metagenômica usadas em aterros sanitários, sendo esta apresentada no capítulo 2. Os materiais e os métodos utilizados para o atendimento dos objetivos específicos, particularmente dos ensaios de BMP e dos ensaios físicos, químicos e biológicos, são apresentados no capítulo 3, dividido consonante o objetivo estabelecido, onde traz as atividades de campo e laboratório. No capítulo 4, são apresentados os resultados encontrados nos trabalhos de campo e laboratório e a discussão dos resultados analisados. Por fim são apresentadas nos capítulos 5 e 6, as conclusões e pesquisas futuras do trabalho da tese e em seguida, as referências bibliográficas utilizadas nesta pesquisa.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência de aspectos da operação na produção de metano (CH₄) no ASMC.

1.1.2 Objetivos específicos

a) Caracterização biológica, com o uso de técnicas tradicionais dependentes de cultivo para a quantificação dos micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos e de técnicas moleculares independentes de cultivo (metagenômica), da composição taxonômica, a diversidade e estrutura de

bactérias e archaeas em diferentes pontos do maciço do ASMC, correlacionando os resultados obtidos com as características da operação do aterro sanitário;

b) Avaliar em laboratório o potencial de geração de metano (L_0) e a constante relacionada à taxa de geração de metano (k) em RSU novo e com um ano de aterramento através do ensaio do Potencial Bioquímico de Metano (BMP).

c) Comparar os resultados obtidos em laboratório com o posicionamento em relação a um dreno de biogás com alto valor de sucção aplicada e com a idade estimada das amostras de RSU já aterradas de forma a confirmar/refutar a hipótese de entrada de oxigênio no maciço como uma das causas do decréscimo observado na produção do biogás no ASMC.

d) Avaliar os resultados de emissão fugitiva obtidos por intermédio de ensaios de placa de forma a corroborar os resultados das análises biológicas laboratoriais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS

De acordo com a abordagem de Copola (2011) os resíduos são sobras, restos, tudo aquilo que resta, que é remanescentes da cadeia produtiva, mas que ainda pode sofrer processo de tratamento e recuperação para reutilização, enquanto os rejeitos são os resíduos sólidos que já sofreram processo de tratamento e não apresentam outra opção a não ser a disposição final em aterros sanitários instalados na forma da Política Nacional dos Resíduos Sólidos.

Face a sua variedade, o RSU apresenta muitas peculiaridades, onde exige um maior estudo, assim como as suas propriedades globais e individuais dos constituintes. Assim, de acordo com Mateus (2008) a composição dos RSU depende do local e momento onde foi gerado e para caracterizá-lo é utilizado, dentre outros, o estudo de sua composição gravimétrica e dos seus conteúdos de água, em que os constituintes são representados em porcentagem de massa total, seja em base seca ou úmida.

Para definir a tecnologia mais adequada para tratamento, aproveitamento ou disposição final dos RSU é necessário conhecer a sua classificação, pois estes possuem uma complexa composição de substâncias de diferentes origens. Os RSU podem ser classificados de acordo com a sua natureza física, composição química e os seus possíveis danos ao ambiente, entre outros. A NBR 10.004 (ABNT, 2004) – “Classificação de resíduos sólidos”, define as seguintes classes quanto ao grau de periculosidade:

- Classe I – Perigosos – sendo os resíduos que apresentam periculosidade, ou uma das características: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade.
- Classe II – Não perigosos – sendo enquadrado nessa classe os não pertencentes a classe I – perigosos. Essa classe é dividida em duas partes:

Resíduos não inertes (classe II A) e inertes (classe II B). Na classe II os resíduos apresentam como características principais: combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água. Um resíduo sólido para ser classificado pela NBR 10.004, deve ser amostrado de acordo com a norma NBR 10.007, “Amostragem dos resíduos sólidos”, e submetido a ensaios de lixiviação e solubilização segundo, respectivamente, as normas NBR 10.005, “Procedimentos para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos” e NBR 10.006, “Procedimentos para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos” (ABNT, 2004).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) classifica a origem dos resíduos sólidos em domiciliar, comercial, de limpeza pública, resíduos sólidos especiais, industriais, serviços de saúde, agrícolas e radioativos, cujas definições são as seguintes (ABNT, 2004):

- Resíduos domiciliares: constituem quaisquer resíduos sólidos gerados em imóveis residenciais que contem significativa abundância de matéria orgânica, plásticos, lata, vidro, papéis, podendo existir alguns resíduos tóxicos como tintas, lâmpadas, baterias e outros.

- Resíduos comerciais: são os resíduos sólidos produzidos em estabelecimentos comerciais como bares, restaurantes, lojas, escritórios, hotéis e bancos. Apresenta sua composição variada em função da atividade comercial desenvolvida, podendo citar entre eles: papéis, plásticos, resíduos de asseios e embalagens em geral.

- Resíduos de limpeza pública: são os resíduos sólidos decorrentes da limpeza e conservação de logradouros públicos, praças, praias, jardins, podas de árvores, recolhimento de animais mortos nas vias públicas, bocas de lobo e outros.

- Resíduos sólidos especiais: são os resíduos sólidos que, devido a suas características peculiares, podem apresentar risco a saúde humana, animal e vegetal, ao meio ambiente, ou devido ao volume de resíduo gerado, podem não se enquadrar nas especificações da coleta regular de resíduos, exigindo cuidados especiais em seu acondicionamento, coleta, transporte, tratamento e/ou destinação final, por exemplo, os resíduos de indústrias, serviços de saúde e cemitérios.

- Resíduos industriais: são os resíduos sólidos provenientes ou gerados durante a transformação da matéria-prima em unidade industrial. Algumas indústrias do meio urbano produzem resíduos semelhantes ao doméstico, como no caso das padarias.

- Resíduos de serviços de saúde: são os resíduos sólidos produzidos em estabelecimentos de saúde, tais como: hospitais, clínicas, postos de saúde, pronto socorro, laboratórios, ambulatórios, farmácias, consultórios médicos e odontológicos, compostos por agulhas, seringas, sangue coagulado, gazes, algodão, órgão ou tecidos removidos, filmes fotográficos de raio-X, entre outros.

- Resíduos agrícolas: são os resíduos sólidos resultantes das atividades pecuárias, agrícolas, embalagens de adubos, defensivos agrícolas, restos de colheita, ração, esterco animal, embalagens de agroquímicos diversos e outros.

O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) classifica os resíduos sólidos em quatro grupos, conforme a Resolução 005/93, em que cada grupo apresenta características distintas.

- Grupo A: São os resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente devido à existência de fontes biológicas. Esse grupo é composto basicamente pelos resíduos de serviços de saúde e não podem ser reciclados;

- Grupo B: resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente proveniente das características químicas. Nesse grupo são encontrados os resíduos farmacêuticos, as drogas quimioterápicas e, os demais produtos perigosos, classificados pela NBR 10.004 (ABNT, 2004);

- Grupo C: resíduos radiativos – enquadram-se neste grupo os materiais radioativos ou contaminados com radionuclídeos, provenientes de laboratórios de análises clínicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia, conforme resoluções do Conselho Nacional de Energia Nuclear – CNEN.

- Grupo D: resíduos comuns, que não se enquadram nos grupos anteriores.

Além das classificações acima citadas, existem outras formas de classificar os resíduos, como por exemplo, pelo seu comportamento mecânico, e em virtude de sua estabilidade bioquímica e morfologia. Conhecer as características dos resíduos que estão sendo dispostos no aterro, permite a tomada de ações que melhoram o gerenciamento e o desempenho geotécnico do maciço.

2.2 ATERROS SANITÁRIOS

As quantidades de resíduos sólidos produzidos no mundo pelas sociedades modernas são consideráveis e crescentes. As duas tecnologias mais utilizadas para a destinação final dos RSU são a incineração e a deposição em aterros (Tyagi et al., 2013).

A disposição dos resíduos sólidos, especialmente os resíduos sólidos urbanos (RSU), constitui um problema importante e preocupante. Globalmente, os aterros sanitários são o principal método de tratamento dos RSU, uma vez que é a prática mais simples e economicamente atrativa para armazenar os RSU (Williams, 2005).

O aterro sanitário é uma das instalações mais seguras no mundo para a disposição e tratamento de RSU. Entretanto, precisa de um alto padrão de proteção ambiental na sua operação (Davis e Cornwell, 1998).

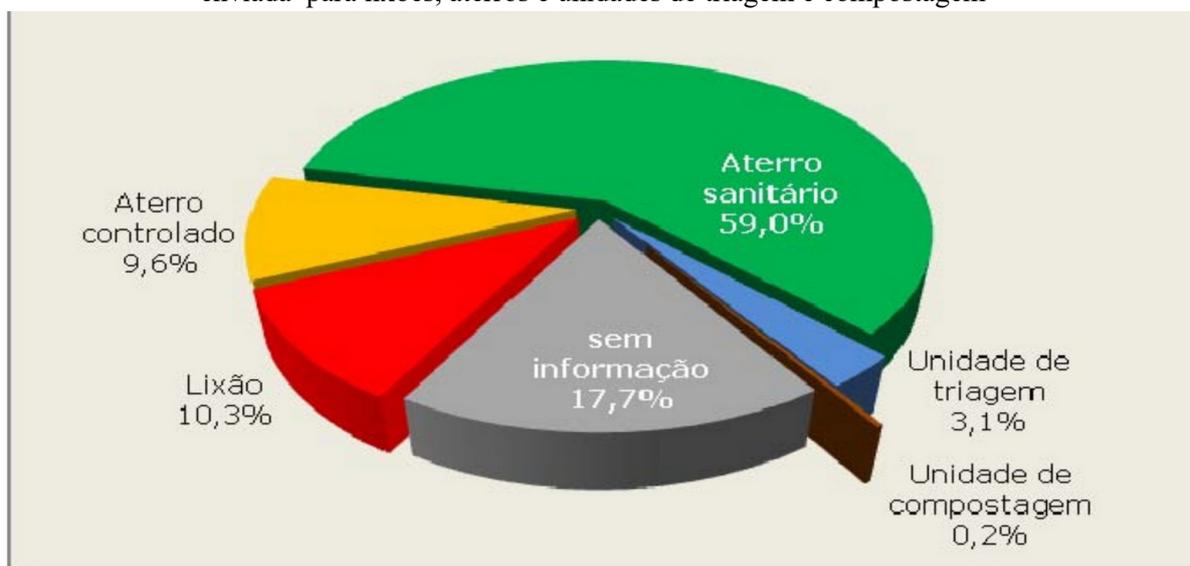
Os Resíduos sólidos urbanos de aterros municipais representam a opção dominante para a destinação final de resíduos em muitas partes do mundo. Em geral, os custos relativamente altos de tratamento e eliminação são uma das principais razões para a dependência de aterros de resíduos sólidos urbanos, sobretudo nas economias em desenvolvimento (Fellner e Brunner, 2010). No entanto, até mesmo alguns países altamente industrializados, como os EUA, Austrália, Reino Unido e Finlândia dependem em grande parte da destinação final de RSU em aterro.

No mundo os RSU são dispostos de diversas maneiras. A disposição no Brasil ocorre em geral em aterros sanitários, aterros controlados e em lixões a céu aberto, sendo estas destinações com diversas peculiaridades, porém, em termos de preservação e proteção do meio ambiente, a disposição

em aterros sanitários apresenta-se como a melhor alternativa entre as citadas, face os critérios de engenharia para implantação, operação e manutenção do sistema, de forma a manter preservadas as condições ambientais.

A Figura 1 mostra a realidade brasileira dos municípios a cerca da destinação de resíduos domésticos, mais resíduos públicos em relação à quantidade enviada para lixões, aterros e unidades de triagem e compostagem.

Figura 1 - Destinação de resíduos domésticos e resíduos públicos em relação à quantidade enviada para lixões, aterros e unidades de triagem e compostagem



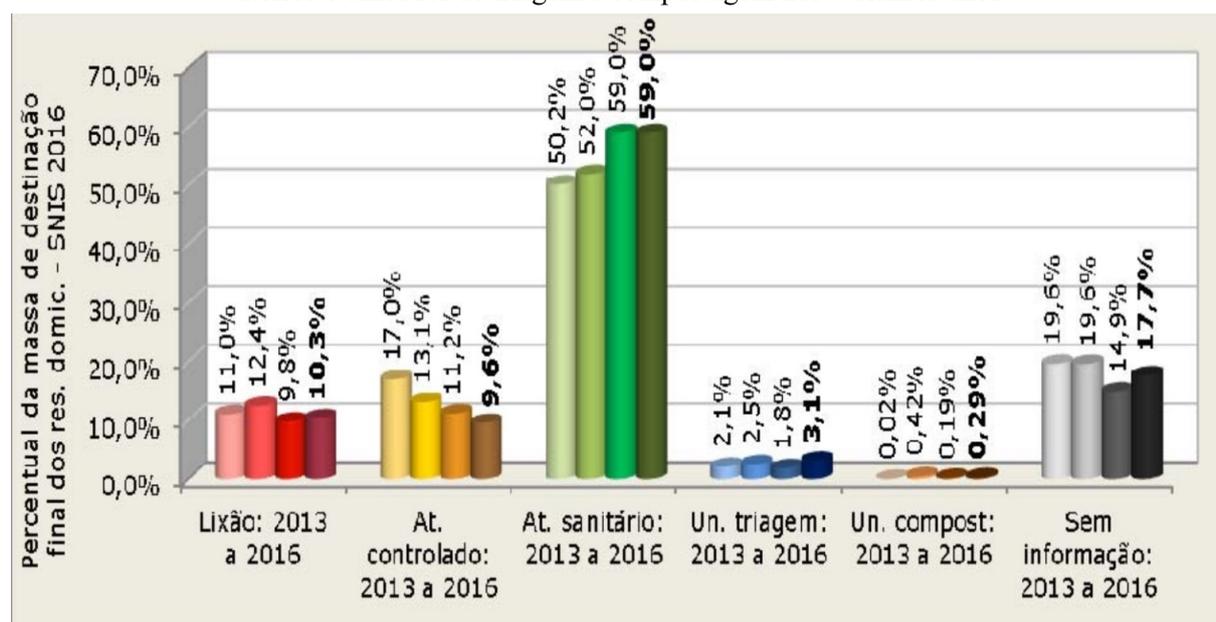
Fonte: BRASIL (2018)

O conjunto de informações apresentadas na Figura 1 fazem referência a percentuais em termos de massa de resíduos. Os municípios pequenos normalmente fazem uso de aterro controlado e/ou lixão. Observa-se um alto percentual (17,7%) de municípios sem enviar as informações ao Ministério das Cidades, o que prejudica a qualidade do diagnóstico realizado.

Segundo os dados apresentados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. (SNIS) de 2016 na Figura 2, os números ficam próximos aos do ano anterior, destacando-se o percentual da massa enviada para aterros sanitários que se manteve em 59,0%, embora, também se deva alertar que subiu o percentual da parcela “Sem informação” passando de 14,9 para 17,7%. Para as outras destinações se registram leves variações, sendo que a mais significativa está na parcela dos aterros controlados que passa de 11,2 para 9,6%. Embora os números do gráfico corroborem o percentual de 59,0% da massa destinada a aterros sanitários, verifica-se, nesta edição, que o mesmo estagnou, interrompendo uma sequência de elevação do percentual da massa destinada a aterros sanitários vista a partir do ano 2013, o que é preocupante. Nota-se que é imperativo superar o desafio do cumprimento da meta da Política Nacional de Resíduos Sólidos –

PNRS, Lei nº 12.305/10 – que determinou a eliminação de todos os lixões do País até o ano 2014, data agora postergada de 2021 a 2024 a depender do porte do município. Assim, fica claro o enorme esforço coletivo que é necessário para a eliminação de um grande número de pequenos lixões localizados, sobretudo, nos pequenos municípios.

Figura 2- Evolução das quantidades de resíduos domésticos mais resíduos públicos destinados a lixões, aterros e unidades de triagem e compostagem nos 4 últimos anos



Fonte: BRASIL (2018)

Tradicionalmente, os aterros têm sido pensados como locais para o armazenamento final de resíduo. Recentemente, contudo, o aterro passou a ser considerado como um sistema biológico complexo capaz de estabilizar os resíduos sólidos de uma forma mais proativa (Reinhart e Townsend, 1998). Os Principais fatores que interferem na produção de biogás no aterro são indicados na Figura 3 com base nos estudos de Maciel (2003).

Assim, o processo de geração de biogás nos aterros sanitários acontece com a decomposição da fração biodegradável dos RSU no ambiente interno do maciço através da interação dos fatores físicos, químicos e biológicos.

Figura 3 - Fatores que interferem na produção de biogás

Geometria e operação do aterro	Características iniciais dos resíduos	Ambiente interno	Ambiente externo
Dimensão do aterro	Composição do resíduo	Umidade da massa na degradação	Precipitação e infiltração
Impermeabilização do aterro	Umidade do resíduo	pH nas células	Variação da pressão atmosférica
Compactação do resíduo		Temperatura	Temperatura
		Disponibilidade de nutrientes/bactérias	Evapotranspiração
		Presença de agentes inibidores	Umidade relativa do ar

Fonte: Modificado de Maciel (2003)

2.2.1 Drenagem do biogás

A drenagem interna do biogás normalmente utiliza os mesmos elementos da drenagem do lixiviado, que é realizada por uma rede de drenos internos dotados de tubos vazados envolvidos em brita, levando a esses compostos coletados ao devido tratamento.

Os gases resultantes da fração biodegradável do processo de digestão anaeróbica devem ser captados, evitando sua migração nos meios porosos que constituem o subsolo, podendo atingir redes de esgotos, fossas, poços e edificações (IPT, 1995).

Para aterros que não utilizam mecanismos de aproveitamento energético do biogás, normalmente o biogás é emitido diretamente para a atmosfera ou então queimado nas saídas dos drenos (Guedes, 2007), enquanto que aterros que fazem uso de mecanismos para produção energética utilizam o biogás gerado no aterro como fonte de combustível para a geração de energia.

2.2.2 Camada de cobertura

Em projetos de disposição de resíduos, um dos principais objetivos consiste em evitar a contaminação do lençol freático, de forma que deve-se trabalhar pela redução da geração de lixiviado, a qual é fortemente influenciada pela cobertura final (CARVALHO, 1999).

A camada drenante de águas pluviais reduz a carga hidráulica sobre a camada de cobertura, evitando a infiltração, o que diminui a geração de lixiviado e reduz as pressões neutras na massa de

resíduos. A captação do biogás na cobertura é realizada por uma camada drenante, evitando a saída dos mesmos para a atmosfera e direcionando-os para o sistema de coleta e/ou tratamento de gases (BOSCOV, 2008).

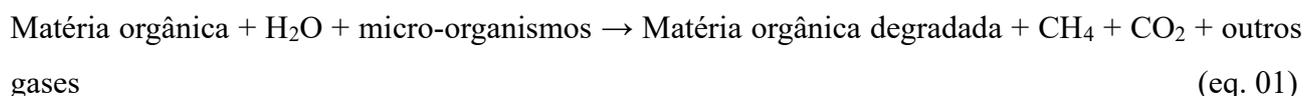
Mais recentemente, camadas de cobertura de aterros têm sido confeccionadas com materiais alternativos, como resíduos de construção.

2.3 DIGESTÃO ANAERÓBICA DOS RSU

A digestão anaeróbica envolve diversas reações bioquímicas utilizando micro-organismos, em anaerobiose, para a decomposição de matéria orgânica. Os produtos finais desse processo são o dióxido de carbono, a amônia e o metano, sendo este último utilizado como fonte alternativa de geração de energia, dado ao seu acentuado poder calorífico favorável a queima e posterior transformação energética.

Para Zhang et. al. (2014), os micro-organismos envolvidos na digestão anaeróbica podem se desenvolver nas faixas de temperaturas psicrófila (10-30 °C), mesófila (30-40 °C) e termófila (50-60 °C). O pH ideal para os micro-organismos metanogênicos seria na faixa de 6 a 8 onde permite uma maior eficiência no processo anaeróbico. Assim, os fatores ambientais e a disponibilidade de nutrientes para a microbiota são fundamentais para o processo de digestão anaeróbica dos RSU no aterro sanitário.

A representação do processo de digestão anaeróbica para geração do biogás é sintetizado por Tchobanoglous et al. (1993) na equação 01.



Segundo Li et. al. (2013), o processo bioquímico para a geração de metano anaeróbico é complexo. A diversidade e a abundância dos micro-organismos envolvidos no processo certamente desempenham um papel importante, sendo influenciadas pelas composições da comunidade microbiana, pelos materiais de fermentação e pelas variações climáticas.

O processo bioquímico da digestão anaeróbica envolvem diversas etapas sequenciais e sintróficas entre os procariotos em ambiente anóxico e é detalhado ainda por Li et. al. (2013), onde relata que nas etapas iniciais da digestão anaeróbica, os micro-organismos hidrolíticos reduzem macromoléculas maiores (incluindo proteínas, lipídeos e carboidratos complexos) a estruturas químicas menores (aminoácidos, ácidos graxos e monossacarídeos) e outras bactérias (incluindo

acidogênicas e acetogênicas), onde degradam estes compostos em outros intermediários ainda menores como acetato, dióxido de carbono e hidrogênio. Nas etapas posteriores, as archaeas metanogênicas convertem os substratos menores em metano pelas vias acetoclástica e hidrogenotrófica.

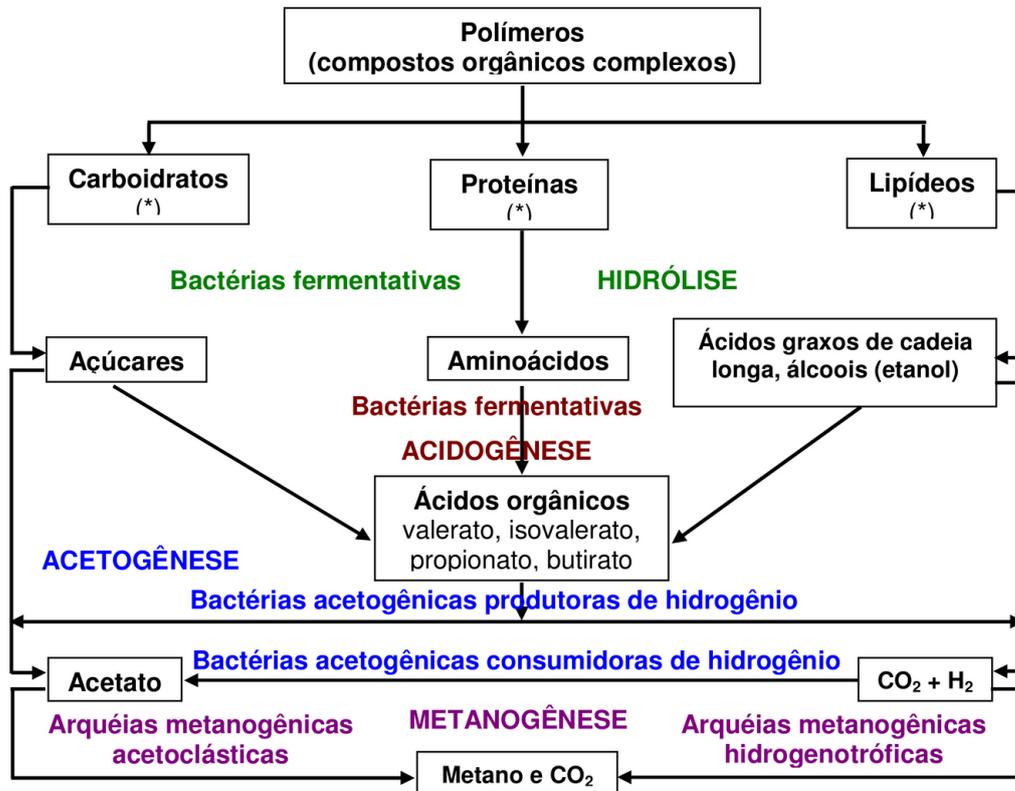
No Brasil, a digestão anaeróbica para decomposição de resíduos sólidos ocorre principalmente em aterros sanitários. No caso dos aterros, ocorreu com o curso dos anos uma adaptação do sistema para o aproveitamento do biogás gerado, utilizando-o para a geração de energia elétrica.

Segundo Silva e Campos (2008), o que se verifica na maior parte dos casos, entretanto, é uma perda do biogás através de trincas e fissuras na camada de cobertura do aterro, as quais também permitem a entrada de oxigênio, resultando assim em uma diminuição na quantidade e na qualidade do biogás, o que foi demonstrado na pesquisa de Damasceno (2018), onde avaliou as emissões fugitivas de metano pelo sistema de cobertura de RSU novos na célula 6 no ASMC, por meio de ensaios de placa de fluxo estática, realizados em zonas trincadas e não trincadas no entorno dos drenos de gás, de acordo com os modelos de estimativa de emissões fugitivas de metano na área de estudo, durante todo o período de análise, a região não trincada apresentou valores de emissão inferiores ($J_{CH_4} = 4,4 \text{ g/m}^2 \cdot \text{dia}$) quando comparado aos da região trincada ($J_{CH_4} = 455,3 \text{ g/m}^2 \cdot \text{dia}$).

A degradação da fração orgânica dos RSU complexa é apresentada em Lobo (2003) como diversas fases de decomposição anaeróbica que começam pela hidrólise do sólido orgânico, dando origem a polímeros mais simples como proteínas, carboidratos e lipídios que, por sua vez, são hidrolisados e formam açúcares, aminoácidos e ácidos graxos voláteis de alto peso molecular. Os aminoácidos e carboidratos são convertidos em outras substâncias (ácidos voláteis) ou são fermentados produzindo ácido acético, sendo que em ambos os casos é gerada amônia. Os ácidos graxos de cadeia longa são decompostos em produtos intermediários e hidrogênio. Os produtos da degradação final são o dióxido de carbono e o metano.

De acordo com Abreu (2007) ao contrário da degradação aeróbica, na qual a matéria orgânica carbonácea é usualmente metabolizada diretamente a CO_2 , a degradação anaeróbica envolve 4 etapas metabólicas distintas (Figura 4). Por se tratar de um material constituído de proteínas, carboidratos e lipídeos, vários são os caminhos metabólicos possíveis durante a conversão dos compostos a metano, realizados principalmente por micro-organismos heterótrofos.

Figura 4 - Etapas metabólicas e microbiota envolvida na digestão anaeróbica



Fonte: adaptado de Mc Carty et al. (1982); Zehnder et al. (1982)

Portanto, a digestão anaeróbica constitui-se de um processo bioquímico complexo, composto de várias reações sequenciais (hidrólise, acidogênese, acetogênese e a metanogênese), cada uma com determinadas comunidades microbianas, e que veremos a seguir:

2.3.1 Hidrólise

A hidrólise é a primeira etapa na degradação anaeróbica de polímeros complexos, tais como carboidratos, proteínas e lipídeos, necessária para reduzir material particulado e dissolvido, as dimensões menores que 1 nm. Isso é necessário uma vez que as proteínas porinas, presentes na membrana externa de bactérias Gram-negativas, formam canais de aproximadamente 1 nm que permitem a entrada e saída da célula, de substâncias hidrofílicas pequenas (MADIGAN et al., 2014). Sendo assim, a hidrólise do material particulado, bem como de material solúvel de maior tamanho, é uma etapa essencial para aumentar a biodisponibilidade, ou seja, o acesso do substrato às células microbianas (AQUINO, 2005).

Kothari et al. (2014), apresenta um exemplo da reação da hidrólise para mistura de resíduos orgânicos (excluindo nitrogênio e outros componentes menores) pode ser dada pela fórmula geral $C_6H_{10}O_4$. A hidrólise dos resíduos orgânicos alimentares é representada pela equação química 02 com a participação de bactérias hidrolíticas:



O material orgânico particulado é convertido em compostos dissolvidos de menor peso molecular por meio de exoenzimas, que são excretadas por bactérias fermentativas, também denominadas bactérias hidrolíticas.

Dentre os gêneros de bactérias hidrolíticas que se destacam no processo anaeróbico estão: *Clostridium*, *Micrococcus* e *Staphylococcus*, que são gêneros produtores de lipases para degradação de lipídeos a ácidos graxos; *Bacteroides*, *Butyivbrio*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Selenomonas*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Peptococcus* e *Bacillus*, que são gêneros produtores de proteases para degradação de proteínas a aminoácidos; e *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Acetivibrio*, *Eubacterium*, que são gêneros produtores de amilases para degradação de polissacarídeos à açúcares menores. A composição relativa e ativa destes micro-organismos será refletida no tipo de substrato presente no sistema (ANDERSON et al., 2003).

2.3.2 Acidogênese

Os compostos dissolvidos, gerados no processo de hidrólise, são absorvidos e metabolizados pelas bactérias fermentativas acidogênicas, que, por sua vez, excretam substâncias simples, como ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeia curta, álcoois, ácido lático e compostos inorgânicos (CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S , etc.). A acidogênese é realizada por um grupo diversificado de bactérias anaeróbicas obrigatórias em sua maioria (ARCHER, 1990). Entretanto, algumas espécies são facultativas e podem metabolizar a matéria orgânica por via oxidativa, utilizando oxigênio molecular (O_2) como acceptor de elétrons, removendo, eventualmente, resíduos de oxigênio dissolvido no sistema e, dessa forma, eliminando qualquer efeito tóxico aos micro-organismos anaeróbicos, dentre eles, as arqueias metanogênicas.

Dentre os gêneros de bactérias acidogênicas mais comuns em reatores anaeróbicos estão *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyribacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Desulfobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, e *Escherichia*. Estima-se que este grupo ocorra em reatores anaeróbicos em uma densidade que varia de 10^6 a 10^8 cé-

lulas por mL de lodo (ARCHER, 1990). Os produtos metabólicos gerados pela atividade das bactérias acidogênicas são importantes substratos para as bactérias acetogênicas e para as arqueias metanogênicas (ARCHER, 1990).

2.3.3 Acetogênese

Segundo Aquino (2005), a principal função das bactérias acetogênicas na digestão anaeróbica é a produção de acetato, CO₂ e H₂, substratos que são metabolizados pelas arqueias metanogênicas. Dois grupos distintos de acetogênicas podem ser distinguidos, baseados em seu metabolismo. O primeiro grupo é de bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio obrigatórias, também chamadas de acetogênicas redutoras de prótons, que produzem ácido acético, CO₂ e H₂ a partir de uma grande variedade de substratos, dentre eles: ácidos graxos intermediários (propionato e butirato), álcoois ou outros ácidos orgânicos maiores (valerato, isovalerato, palmitato).

Baseados em considerações termodinâmicas, especificamente na energia livre (ΔG) resultante da oxidação dos ácidos graxos, é previsto que estas bactérias sejam capazes de crescer apenas em ambientes sob baixas pressões de hidrogênio. Esta condição é alcançada quando micro-organismos consumidores de hidrogênio estão presentes no sistema, tais como arqueias metanogênicas hidrogenotróficas ou bactérias redutoras de sulfato (BRS). A maioria dos ambientes metanogênicos mantém uma concentração de H₂ baixa (abaixo de 10⁻⁴ atm), que é suficiente para estimular o crescimento destas bactérias acetogênicas, evitando-se o acúmulo de ácidos. A esta relação de dependência é dado o nome de sintrofia, e sabe-se que a presença de micro-organismos sintróficos é essencial para um eficiente desempenho da digestão anaeróbica. Poucos micro-organismos deste grupo têm sido isolados de lodos anaeróbicos, sendo os gêneros *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter* e alguns gêneros de BRS os mais conhecidos (AQUINO, 2005).

2.3.4 Metanogênese

Denominada também de fase metanogênica, nesta fase os micro-organismos predominantes são estritamente anaeróbicos, chamados de metanogênicos ou formadores de metano, que a partir de ácido acético (CH₃COOH) e H₂, produzem CH₄ e CO₂. Apresenta-se a equação 03 que leva em consideração a interação de ácidos orgânicos, CO₂ e H₂ com bactérias metanogênicas para produzir CH₄, CO₂ e H₂O (TCHOBANOGLIOUS et al. 1993).



O metano é produzido pelas arqueias por duas vias metabólicas principais: hidrogenotrófica e acetotrófica (ou acetoclástica). As arqueias hidrogenotróficas são autótrofas, reduzindo CO_2 a CH_4 e usando H_2 como doador de elétrons, liberando H_2O . As archaeas acetoclásticas são heterótrofas, produzindo o CH_4 e CO_2 a partir da redução do acetato (fermentação). Estas têm grande importância em reatores anaeróbicos, uma vez que é conhecido que cerca de 70% do CH_4 produzido nestes sistemas é resultante da degradação de acetato (JETTEN et al., 1992; CHERNICHARO, 2007).

Segundo Maciel (2009), a composição do biogás na fase metanogênica é de cerca de 60% de CH_4 , 40% de CO_2 e outros gases em pequenas concentrações, somente apresentando grandes alterações em caso de perturbações do equilíbrio de fatores, como umidade e remoção da “cobertura final” do maciço de resíduos.

2.4 COMUNIDADES MICROBIANAS ENVOLVIDAS NA DIGESTÃO DOS RSU

Os estudos das comunidades microbianas são importantes para entender a ecologia microbiana no ecossistema. As comunidades microbianas continuam sendo uma das mais difíceis de caracterizar devido à sua imensa diversidade.

Segundo Atalia (2015) atualmente existe um interesse particular na biodiversidade microbiana, simplesmente definida como a quantidade e a qualidade das espécies microbianas presentes no ecossistema e sua função particular neste, sendo que a caracterização da biodiversidade pode ser capaz de entender o funcionamento do ecossistema, a sua interação com a microbiota e a sua capacidade de suportar perturbações graves.

A diversidade microbiana é um importante fator na avaliação do processo de decomposição de resíduos. Assim, essa tarefa é um dos principais passos em direção ao entendimento das propriedades metabólicas espécie-específicas, responsáveis pela decomposição dos resíduos (KLAMMER et al., 2008).

De acordo com Madigan et al. (2014), o processo de biodigestão dos RSU envolve a sucessão biológica de várias comunidades naturais de micro-organismos, sendo estes considerados domínios (Figura 5) e que com suas características distintas desempenham um papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos.

Há cerca de vinte anos, Carl Woese e colaboradores sugeriram que os organismos vivos fossem classificados em três grupos principais: Archaea, Bacteria e Eukarya, com base no estudo das sequências das moléculas do gene 16S do RNA ribossomal (16S rRNA). Esses grupos são chamados de domínios e acredita-se que surgiram através de vias evolutivas distintas a partir de um

ancestral comum. A noção de dicotomia da vida entre eucariontes e procariontes, que ainda domina a Biologia e influência, em particular, a percepção sobre o domínio Archaea, está sendo lentamente revista por grupos atuantes em microbiologia (Madigan et al., 2014).

Figura 5 - Características gerais de Bactéria, Archaea e Eukarya

Características	Bactéria	Archaea	Eukarya
Presença de núcleo	Não	Não	Sim
Parede celular	Peptidoglicano	Não- Peptidoglicano	Não- Peptidoglicano
Lípidios de membrana	Ligação éster	Ligação éter	Ligação éster
Cromossomo	Circular	Circular	Linear
Histonas	Ausentes	Presentes	Presentes
RNA polimerases	Uma (4subunidades)	Uma (8-12 subunidades)	Três (12-14 subunidades)
Ribossomos (massa)	70S	70S	80S
Iniciador tRNA	Formilmetionina	Metionina	Metionina
Introns	Não	Alguns genes	Sim
Operons	Sim	Sim	Não
no mRNA	Não	Não	Sim
Plasmídeos	Sim	Sim	Raro
Sensibilidade a cloranfenicol, estreptomicina, kanamicina e penicilina	Sim	Não	Não

Fonte: (adaptado de Madigan et al., 2014)

2.4.1 Bactérias

As bactérias são micro-organismos procarióticos muito diversos que, através dos seus produtos metabólicos, atuam diretamente no processo de biodeterioração. As bactérias quimiolitotróficas e quimiorganotróficas oxidam o substrato através dos ácidos inorgânicos e orgânicos produzidos em ações metabólicas. As quimiolitotróficas atuam dentro dos ciclos dos quais fazem parte, por exemplo, o ciclo do enxofre, do carbono e do nitrogênio e onde geram diversos produtos inorgânicos (RESENDE, 2008).

Os grupos bacterianos são responsáveis pela produção do hidrogênio e de dióxido de carbono nos primeiros três estágios da digestão anaeróbica. Na última etapa, as archaeas metanogênicas produzem metano a partir do hidrogênio e dióxido de carbono (Griffin et al, 1998;. Liu et al., 2004).

As bactérias são dominantes na digestão anaeróbica e compreendem até 80% do total da diversidade microbiana (Krause et al., 2008). Filos de bactérias comumente detectados incluem *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Nitrospira*, *Thermotogae*, *Fusobacteria*, *Espiroquetas* e *Deferribacteres*, enquanto representantes de arqueia em sua maioria

pertencem ao filo Euryarchaeota, que inclui todos os metanogênicos conhecidos (Insam et al., 2010).

A comunidade complexa de bactérias anaeróbicas pode assumir a degradação através da produção de enzimas hidrolíticas extracelulares, tais como celulasas e xilanasas e dissimular os biopolímeros complexos em suas unidades estruturais. As bactérias envolvidas nesta fase consistem em subgrupos de *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* (por exemplo, *Bacillus* e *Clostridium*) e *Neocallimastix* (Insam et al., 2010).

2.4.2 Archaeas

No processo bioquímico de decomposição dos RSU, além dos organismos aeróbicos temos a participação de micro-organismos anaeróbicos do grupo das archaeas metanogênicas, que, por sua vez, são amplamente distribuídas em ambientes anóxicos, tais como: sedimentos aquáticos profundos, pântanos, trato digestivo de ruminantes e animais homeotérmicos, biodigestores anaeróbicos de tratamento de resíduos e aterros sanitários (VAZOLLER et al., 2008).

A descrição do Domínio Archaea iniciou-se na década de 1970, quando Woese et al. (1990), investigavam características genéticas e bioquímicas de vários micro-organismos, inclusive dos metanogênicos. Os pesquisadores descobriram que os metanogênicos apresentavam diferenças na constituição química da parede celular e da membrana plasmática, além de possuírem RNA polimerases (enzimas responsáveis pela síntese de proteínas) mais complexas e vias metabólicas incomuns às demais bactérias. Inicialmente, estes micro-organismos foram reunidos no grupo “Arqueobactéria” para distinguir das “Eubactérias” (bactérias verdadeiras). Atualmente, sabe-se que as características genéticas e celulares de arqueias são mais semelhantes às de organismos eucarióticos do que às de bactérias comuns. A reclassificação filogenética, elaborada por Woese e colaboradores, incluiu as archaeas em um Domínio à parte, denominado de Archaea (ABREU, 2007).

As archaeas são, portanto, unicelulares e procarióticas, anaeróbicas, apresentando uma ampla diversidade metabólica, atributos bioquímicos e estruturais únicos, os quais as adaptaram a viver em habitats considerados inóspitos aos demais seres vivos, tais como: fontes geotermiais (hipertermófilos), habitats com elevada salinidade (hiperhalófilos), solos e sistemas aquáticos altamente ácidos ou alcalinos (VAZOLLER et al., 2008). Desde então, investigações têm sido feitas sobre sua importância funcional nestes ecossistemas e sobre a atuação de tais micro-organismos nos processos biogeoquímicos em ambientes não-extremos.

Na prática, as archaeas são estudadas e agrupadas de acordo com o seu metabolismo e fisiologia, sendo alocadas em diversos grupos, como: as metanogênicas, os halófilos extremos (ou hiperhalófilos) e os termófilos extremos (ou hipertermófilos). Sem dúvida, as espécies de Archaea mais conhecidas são as metanogênicas, cuja classificação taxonômica molecular data de 1979, realizada por Balch e colaboradores (Balch et al., 1979).

Provavelmente, pela facilidade de estudos de ambientes anóxicos, ou mesmo pela sua importância em saneamento ambiental, existem cerca de 66 espécies de metanogênicas descritas, em contraste com aproximadamente 24 espécies de hipetermófilas e 18 de halófilas extremas. Contudo, o número de novas espécies descritas nestes dois últimos grupos vem aumentando, em razão do crescente interesse em estudos da diversidade de Archaea em novos ambientes, que empregam metodologias moleculares para a identificação dos organismos através de DNA extraído diretamente das amostras (VAZOLLER, 2008).

Ainda segundo Vazoller et. al. (2008), a característica mais evidente da ecofisiologia dos metanogênicos está relacionada com sua especificidade de substratos para crescimento e produção de metano e a sua relação sintrófica com outros micro-organismos, ou seja, a atividade no meio anaeróbico gera os precursores para a metanogênese. As archaea metanogênicas representam um grupo de micro-organismos polifilético, compreendendo 3 Ordens, com 8 Famílias e 21 gêneros. Apresentam morfologia comum às células procarióticas, com forma de bacilos de diferentes tamanhos, cocos, sarcinas e filamentos. Algumas representantes apresentam propriedade de coloração Gram-positiva e outras Gram-negativa, sendo a taxonomia baseada essencialmente em métodos moleculares, através da comparação de seqüências do RNAr 16S. Análises morfo-fisiológicas facilitam a classificação primária em nível de gênero.

A Ordem Methanobacteriales compreende a Família Methanobacteriaceae, com os gêneros *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e *Methanosphaera*, contendo 18 espécies; e a Família Methanothermaceae, com o gênero *Methanothermus* e duas espécies. A Ordem Methanococcales congrega as Famílias Methanococcaceae, gênero *Methanococcus*, com 7 espécies; Methanomicrobiaceae, com os gêneros *Methanoculleus*, *Methanogenium*, *Methanolacinia*, *Methanomicrobium* e *Methanospirillum*, com 13 espécies; Methanocorpusculaceae, gênero *Methanocorpusculum*, com 5 espécies; Methanoplanaceae, gênero *Methanoplanus*, com duas espécies; Methanosarcinaceae, com os gêneros *Methanococcoides*, *Methanohalobium*, *Methanohalophilus*, *Methanolobus*, *Methanopyrus*, *Methanosaeta*, *Methanosarcina* e *Methanotherix*, com 19 espécies (SOWERS, 1995).

Dentre as archaeas cultivadas, destacam-se as metanogênicas, que têm um histórico de estudo anterior à proposição de Woese e servem como modelo para estudos genéticos, fisiológicos e metabólicos do domínio archaea. Notadamente seu estudo desenvolveu-se na área do saneamento ambi-

ental, onde esse grupo desempenha papel fundamental na mineralização de matéria orgânica e no equilíbrio ecológico.

A bioquímica da formação de metano é encontrada apenas nas archaeas metanogênicas. A metanogênese é uma reação que proporciona um fluxo de prótons nas células e pode suportar um mecanismo quimiosmótico de produção de energia e ATP. A produção de metano pode, portanto, ser encarada como um marcador taxonômico para a identificação de Archaea. Alguns dos micro-organismos apresentam fluorescência sob iluminação ultravioleta decorrente da presença do cofator F420 (VAZOLLER, 2008).

2.5 TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS TRADICIONAIS

Para entender as atividades biológicas que ocorrem nos aterros sanitários na decomposição dos RSU, é necessário, principalmente, que se conheçam os agentes microbiológicos atuantes nesse processo. Assim, o emprego das técnicas microbiológicas tradicionais de cultivo facilita a investigação das comunidades microbianas naturais, onde possibilita entender seu papel no meio e suas interações.

Os métodos tradicionais de rastreamento, através de meios de cultura podem ser uma ferramenta simples e útil na pesquisa microbiológica, pois consegue reproduzir as condições básicas para os micro-organismos de maneira rápida e de baixo custo e assim revelar informações gerais através do fenótipo acerca da composição das comunidades microbianas presentes nos RSU. No entanto, sabe-se das suas limitações, pois cerca de 90% a 99% do número total de micro-organismos que existem no ambiente (por exemplo, no solo, água ou ar) não são cultiváveis em meios de cultura e outras condições laboratoriais conhecidas.

A população microbiana inicial presente nos RSU disposto em aterro sanitário apresenta notável papel na seleção de espécies dominantes, tanto durante o estágio inicial de decomposição, quanto no resíduo decomposto. Um entendimento mais profundo da dinâmica dessa população microbiana fornecerá subsídios para compreender também a sua persistência e o poder de recuperação, na medida em que há mudanças nas condições ambientais e na qualidade do substrato ao longo do tempo (STALEY et al., 2007). Assim, a investigação dos micro-organismos envolvidos e seu papel nos processos de decomposição biológica dos RSU são fundamentais para uma avaliação das condições de operação dos aterros sanitários.

O grau de conhecimento sobre a composição de micro-organismos em lixiviado de aterro é limitado (GRISEY et al., 2010) em comparação às características físicas e químicas deste poluente (BOUMECHHOUR et al., 2013). A quantificação dos micro-organismos através de meios de cultu-

ra foi realizada na pesquisa de Monteiro et al., (2006), segundo os autores os micro-organismos aeróbicos decrescem enquanto os anaeróbicos aumentam em número e com o passar do tempo os organismos anaeróbicos passam de valores em torno de NMP/g de 108 para 1012, principalmente na faixa inferior do lisímetro com RSU oriundos do aterro sanitário em Recife-Pe.

Pesquisas realizadas por Saha (2014) em um aterro sanitário municipal na Índia utilizando técnicas tradicionais de cultivo revelaram a diversidade de gêneros de bactérias aeróbicas (*Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Bacillus*) e anaeróbicas (*Clostridium*) envolvidas no processo de degradação dos RSU despostos no aterro sanitário. Tratam-se de micro-organismos também presentes no solo e que estão envolvidos na decomposição da matéria orgânica, assim atuando nos ciclos biogeoquímicos.

A fim de compreender o processo de geração de um composto orgânico produzido a partir de RSU disposto um aterro sanitário municipal na Etiópia, Kassegn et al (2015) avaliaram as características físicas, químicas e biológicas dos resíduos orgânicos. Os resultados indicaram que a comunidade microbiana dominante era composta principalmente por fungos e bactérias, dentre os grupos bacterianos presentes, as aeróbicas dos gêneros: *Bacillus* e *Pseudomonas*, a anaeróbica do gênero *Clostridium* e que estes participam do processo de degradação biológica dos RSU e na formação do composto que tem potencial para uso na agricultura.

No trabalho de pesquisa realizado por Meira R.C. (2009), que envolveu a construção e monitoramento de uma célula experimental (lisímetro), simulando uma célula de aterro sanitário contendo RSU provenientes de três bairros de classes sociais distintas no município de Campina Grande na Paraíba-PB, foi utilizada a técnica de diluição seriada e o cultivo de micro-organismos. Para entender o processo biodegradativo, foram realizadas as análises de temperatura, teor de umidade e pH. Os resultados encontrados no lisímetro para as bactérias aeróbicas foram na faixa de 10^5 a 10^7 UFC/mL. De acordo a autora, o lisímetro em estudo observa-se que até o 80º dia de monitoramento houve um decaimento dos micro-organismos aeróbicos, que pode está relacionado com o rápido consumo de oxigênio do meio, fazendo com que ocorra o surgimento dos micro-organismos anaeróbicos.

Segundo estudo realizado por Araújo et. al. (2010), com o propósito de entender a degradabilidade dos RSU durante alguns meses de monitoramento em escala experimental numa célula experimental através de indicadores biológicos, a autora avaliou quantitativamente através de técnicas tradicionais de cultivo a microbiota aeróbica e anaeróbica presente na célula de RSU. Os resultados da pesquisa indicaram que os micro-organismos anaeróbicos aumentaram significativamente em ordem de grandeza. Porém, ocorreu uma diminuição nos aeróbicos, pela falta de matéria orgânica e provavelmente pela diminuição do oxigênio presente na massa de RSU.

2.6 TÉCNICAS MOLECULARES EMPREGADAS PARA OS ESTUDOS DA MICROBIOTA RELACIONADA COM A DIGESTÃO ANAERÓBICA DOS RSU

Por muitos anos, investigações microbiológicas em diversos ambientes foram feitas exclusivamente por microscopia e técnicas de cultivo em meios de cultura enriquecidos. No entanto, essas técnicas convencionais oferecem limitações quanto a análise da diversidade microbiana de um ecossistema, pois podem falhar ao simular as condições ambientais naturais que os micro-organismos exigem para proliferação. Além disso, muitos micro-organismos não são detectáveis por microscopia convencional por permanecerem ligados a partículas de sedimentos (MUYZER et al, 1993), e muitos não são cultiváveis por exigirem condições ambientais difíceis de serem mantidas em laboratórios. Amann et al. (1995) estimaram que aproximadamente 99% dos micro-organismos não podem ser isolados de seus habitats naturais em culturas puras.

As dificuldades de compreensão de processos metabólicos envolvidos na degradação da matéria orgânica, os quais são influenciados por processos ecológicos, tais como simbiose e competição entre os micro-organismos foram motivos de intensas pesquisas. Atualmente, este problema tem sido diminuído e o conhecimento da microbiologia ambiental tem se estendido com o uso e avanço das técnicas moleculares através da análise genotípica, que são independentes do isolamento e cultivo de micro-organismos e, muitas vezes, permitem o estudo dos mesmos no próprio ambiente.

As novas técnicas moleculares têm sido valiosas para descobrir a diversidade microbiana envolvida na biodecomposição dos resíduos. Segundo Gonzáles e Saiz-Jiménez (2005), os métodos microbiológicos clássicos, que são baseados em procedimentos de cultura, têm fornecido informações importantes, porém limitadas na diversidade de amostras.

A Biologia Molecular, como novo campo de pesquisas, tem sido desenvolvida ao longo das últimas décadas para elucidar os genomas dos micro-organismos não cultiváveis, com o objetivo de compreender melhor a ecologia microbiana envolvida na decomposição dos resíduos, bem como associá-la a ecologia dos ciclos biogeoquímicos. Esse método foi impulsionado pelo aumento da biotecnologia e das novas demandas pelos conhecimentos a respeito das enzimas e biomoléculas (SCHMEISSER, 2007).

Como a maioria das técnicas de biologia molecular, requerem extração para ser utilizado como um molde para amplificação por PCR e análise de comunidade subsequente. O primeiro passo é extrair o DNA alvo a partir de amostras. O DNA extraído é subsequentemente purificado e quantificado usando kits de reagentes para remover o excesso de iniciadores, nucleótidos, sais e en-

zimas, assim como para quantificar os DNA em solução. Uma vez que o DNA de alta qualidade foi obtido, ele pode ser amplificada por PCR utilizando iniciadores que têm como alvo os genes de rRNA (*ribosomal ribonucleic acid*), quer em diferentes níveis taxonômicos de espécies para filo, ou os genes funcionais de interesse.

Para que as técnicas moleculares funcionem adequadamente em materiais como RSU dispostos em aterros sanitários é fundamental a eficiência na extração de DNA do material, bem como da qualidade e pureza do DNA extraído, no entanto, caso não sejam seguidos os devidos cuidados, pois se tratando dos RSU, as dificuldades são maiores devido as diversas impurezas associadas a esse tipo de material e assim podem interferir no processamento e análise do material em estudo.

Na fase de amplificação, se as concentrações de grupos-alvo devem ser quantificadas, uma reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) é normalmente empregada. Depois de gerar produtos de amplificação de PCR, várias técnicas de biologia molecular têm sido aplicadas em perfilar a comunidade microbiana antes da sequenciação, tais como a aproximação de clonagem, DGGE (eletroforese em gel de gradiente desnaturante) técnica de impressão digital e a metagenômica.

O termo metagenômica significa a análise genômica de uma comunidade de um determinado ambiente através de técnicas de biologia molecular e independente de cultivo (HANDELSMAN, 2004), o que tem sido particularmente útil para análise de procariotos não cultiváveis em meios de cultura tradicionais e que representam até 99% de organismos em alguns ambientes (SCHLOSS e HANDELSMAN, 2003).

A metagenômica envolve construção de bibliotecas genômicas através da lise extração e clonagem de DNA de alto peso molecular. Essa técnica possibilita acessar informações em nível de filogenia, como também isolar e clonar novos genes responsáveis por diversas funções, explorando o potencial biotecnológico dos micro-organismos (RIESENFELD et al. 2004; HANDELSMAN, 2004).

No entanto, de acordo Li et. al. (2013) a metagenômica mais tradicional tem dificuldade em cobrir toda a complexidade de comunidades microbianas através de apenas as sequências de um número limitado de clones específicos para os genes. As tecnologias de sequenciação de última geração superam muitas das dificuldades, particularmente a plataforma pirosequenciamento (tais como o Roche / 454 GS sequenciador FLX) que gera mais e ler comprimentos que variam de 200 a 400 bp em comparação com outras plataformas como o Illumina Hiseq2000 sistema que gera 50-150 bp e lê em suas execuções as corridas de sequenciamento unidirecional, sendo que gera menos distorções no sequenciamento e na construção de bibliotecas.

Segundo Guo et. al. (2015) os métodos de sequenciamento de alto rendimento, como o Illumina e o 454 com a tecnologia de pirosequenciamento, têm sido recentemente aplicadas como métodos novos e promissores para caracterizar a composição filogenética e o potencial funcional das comunidades complexas como em ambientes anaeróbicos.

Assim, a metagenômica de nova geração oferece diversas tecnologias que possuem atributos comuns e um poder de gerar informações genéticas maior que o sequenciamento tradicional, numa significativa economia de tempo e custo por base para o sequenciamento, o que otimiza os trabalhos de pesquisas científicas.

Diversos autores brasileiros, quando realizam estudos moleculares, utilizam a ferramenta BLAST, disponível no E. U. National Center for Biotechnology Information (NCBI), para realização das correspondências entre as sequências moleculares encontradas, sugerindo uma padronização entre as análises (CRISPIM et al., 2004; GAYLARDE et al., 2005).

2.7 GERAÇÃO DE CH₄ EM ATERROS SANITÁRIOS

Em condições normais, a velocidade de decomposição, medida através da produção de gás, chega a um máximo nos dois anos iniciais e decresce lentamente por 25 anos ou mais. Porém, as fases de decomposição dos RSU em um aterro não podem ser claramente definidas, já que novos resíduos são dispostos diariamente.

Assim, os RSU novos chegam no local de disposição do aterro sanitário e entram no processo inicial aeróbico e outros locais com RSU já aterrados já estão na fase anaeróbica em plena produção do gás metano.

Segundo Jardim (2000) a estabilização do resíduo orgânico através de processos anaeróbicos é lenta e pode acarretar no aumento do potencial de geração de lixiviado e ampliação da geração do gás metano. Todavia, dados coletados durante a operação do Aterro Sanitário Metropolitano Centro de Salvador Ba (ASMC) apontam para a geração de metano já nas primeiras semanas em que o RSU é disposto no aterro, de forma que os drenos utilizados para captação do biogás, que são instalados concomitantemente com a frente de operação, detectam a presença de CH₄ (com concentrações em torno de 10%), fornecendo assim o indicativo de início da fase ácida. (MACHADO et al, 2008). Este rápido desenvolvimento dos processos de biodegradação pode estar associado à compactação do RSU realizada por máquinas no momento de sua deposição, que contribui para a diminuição do oxigênio no interior das células.

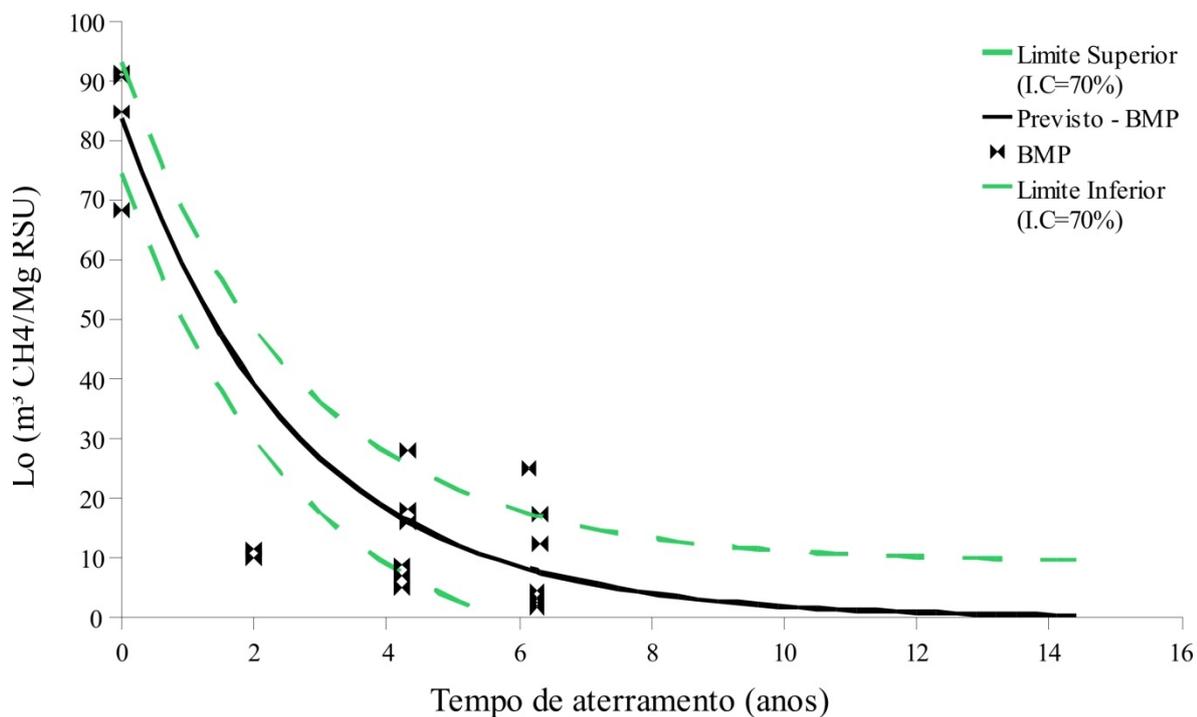
Na maioria dos casos utiliza-se o modelo de decaimento de primeira ordem, como uma primeira aproximação que é recomendada pela EPA (USEPA, 1996; 1998; 2005) e pelo IPCC

(IPCC, 2006), visando a determinar a emissão de CH₄ em aterros sanitários, conforme se observa na Equação 04, onde q é a taxa específica de geração de metano (m³ CH₄/ano Mg-resíduo), L_0 é o potencial de geração de metano (m³ CH₄/Mg-resíduo), k é a taxa constante de geração de CH₄ por ano (ano⁻¹) e t é o tempo de disposição do resíduo (ano).

$$q=L_0 \cdot K \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{eq. 04})$$

Caldas (2011) obteve valores de L_0 a partir do método proposto por Machado et al. (2009) e da realização de ensaios para a determinação do potencial de geração de metano dos RSU (ensaios BMP). Os resultados obtidos por ambos os métodos se apresentaram coerentes. Em geral, os valores de L_0 obtidos foram menores que os apresentados na literatura técnica para países em desenvolvimento e de clima tropical. Essa diferença é explicada por Machado et al. (2009), que afirmam que os baixos resultados de L_0 são consequência dos altos teores de umidade do RSU (em torno de 100%, base seca), que contrabalanceiam a ocorrência de altos teores de matéria orgânica. Deve-se notar aqui que a água atua como catalisador nos processos de decomposição aeróbica, não possuindo o carbono em sua composição que possa contribuir para a geração de metano. De acordo com a Figura 6, os resultados dos ensaios de BMP realizados pelo autor seguem a mesma tendência de variação dos valores de L_0 calculados a partir dos procedimentos de Machado et al. (2009) e IPCC (2006). Nos primeiros anos de aterramento o processo de digestão anaeróbica se mostra mais vigoroso que o previsto pelo modelo de decaimento de primeira ordem. A partir de 4 anos de aterramento, contudo, quando o valor de L_0 previsto pela curva de ajustamento do BMP se encontra na faixa de 20 m³ CH₄/Mg-RSU esse processo se torna bem lento e as condições de operação do ASMC normalmente não apresentam-se eficientes para o aproveitamento do $L_0(t)$.

Figura 6 - Valores de L_0 experimentais e ajustados em função do tempo de aterramento

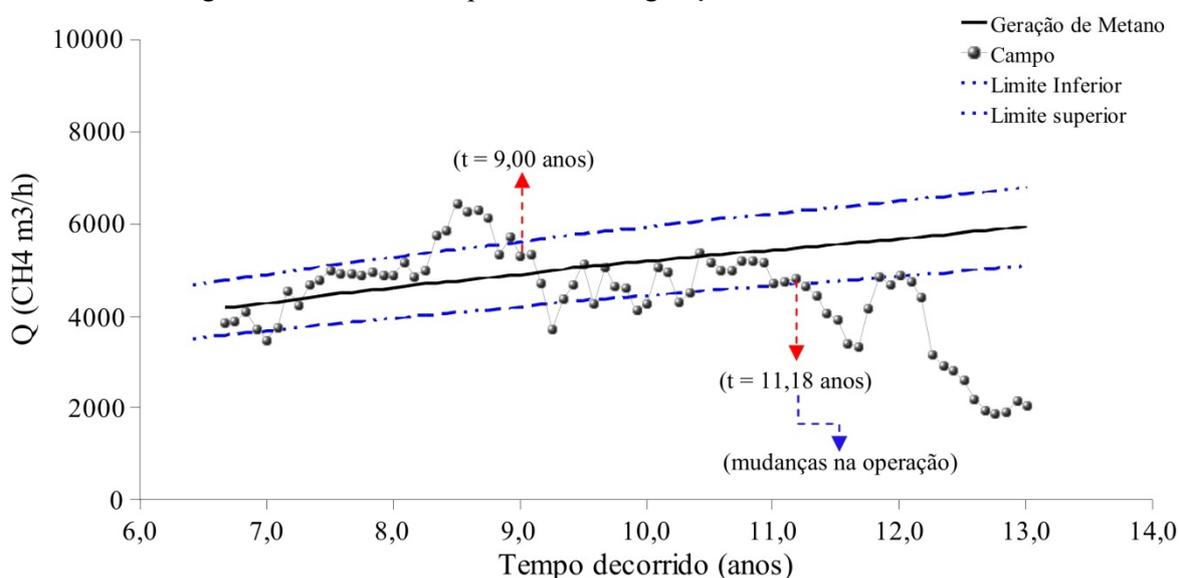


Ainda de acordo com Caldas (2011) os valores de k obtidos de ensaios de laboratório normalmente se apresentam significativamente superiores aos obtidos em campo. Enquanto que ensaios de laboratório para a determinação do potencial de geração de metano são finalizados de 1 a 3 meses, mesmo em condições favoráveis à decomposição, levam-se anos para se entrar na fase de maturação em campo. Devido à impossibilidade de utilização direta dos valores de k obtidos em laboratório em ambiente de campo, um procedimento alternativo para a determinação do k é o traçado da curva de $L_0(t)$ ou L_0 remanescente, determinada a partir de amostras de RSU coletadas com diferentes tempos de aterramento. Neste caso, a redução nos valores de $L_0(t)$ é devida ao processo de decomposição de campo, em condições compatíveis com as condições ambientais do local de estudo. Caldas (2011) ilustra a obtenção de valores de k com o uso deste procedimento os quais se mostraram superiores às indicações do IPCC (2006), que prescreve para regiões de clima tropical úmido, o k variando entre 0,15 a 0,20 ano⁻¹. De posse dos resultados de L_0 e k dos RSU do ASMC, obtidos conforme descrito acima, além do histórico mensal das quantidades de RSU dispostos no ASMC, determinou-se a geração horária de CH₄ (Q) estimada para as células de disposição do aterro, para o período de operação da central de captação do biogás, a qual foi comparada com os valores de geração de CH₄ medida em campo. No mesmo estudo também foram estimadas as curvas que delimitam os limites superiores e inferiores para um intervalo de confiança (I.C.) de 70% dos resultados.

Conforme a pesquisa de Caldas (2011) o decréscimo na geração de CH_4 em campo (a partir do tempo de disposição de 9 anos - outubro de 2006) tem relação com as mudanças na operação do aterro, tais como disposição de resíduos novos sobre RSU já aterrados há algum tempo (Figura 07), o que para Machado et al. (2009) altera o ambiente de decomposição estabelecido no interior do maciço, em que archaeas metanogênicas já estabelecidas sofrem com a influência das bactérias acidogênicas. Além disso, os altos valores de sucção impostos a alguns drenos pode estar proporcionando a entrada de oxigênio nas células, afetando a produção de metano em campo.

Ainda de acordo com as pesquisas de Caldas (2011), conforme a Figura 7, no período em que antecedeu a segunda queda de geração de CH_4 (a partir de janeiro de 2009), ocorreu no ASMC a disposição de mais resíduos novos sobre RSU antigos e principalmente, a não cobertura diária de grandes áreas contendo resíduos, o que aumentou significativamente as emissões fugitivas de CH_4 para a atmosfera que antes correspondiam a 5% (BRITTO, 2006). A não cobertura diária dos RSU aumenta também a duração da fase aeróbica devido à aeração constante do ambiente interno das células, e provoca lixiviação de nutrientes e de micro-organismos essenciais à fase metanogênica.

Figura 7 - Curva do comportamento da geração total de CH_4 no ASMC

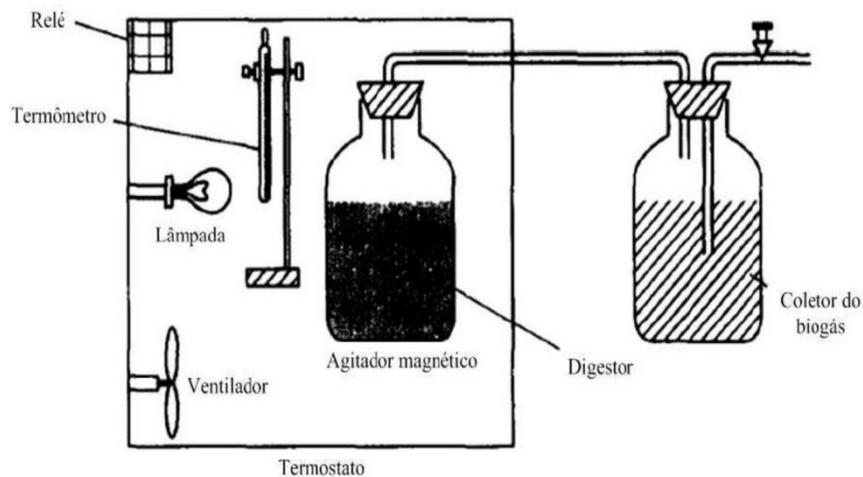


Vale salientar que nos estudos de Caldas (2017) foi descartada a hipótese de que a disposição de uma camada de RSU novo sobre outra em processo de anaerobiose já estabelecido pudesse causar impactos negativos na medida em que os micro-organismos presentes nos RSU novos entrasse em competição com as Arqueas metanogênicas, assim, os resultados do autor comprovaram que essa condição não influenciou no comportamento da geração de biogás.

2.8 TÉCNICAS LABORATORIAIS PARA O ESTUDO DO BMP EM RSU

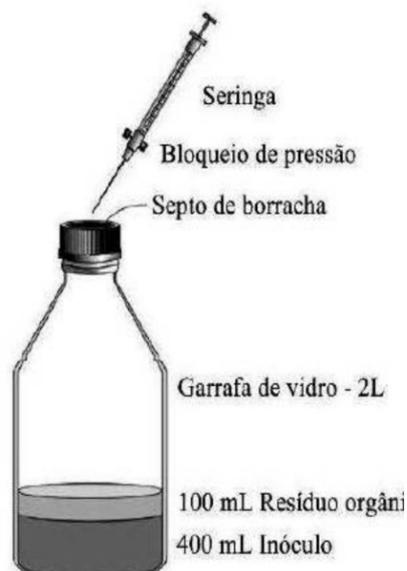
O ensaio de BMP emprega normalmente uma incubação anaeróbica em temperatura controlada (de 37 a 40°C) de pequena quantidade de RSU em conjunto com lixiviado no biodigestor anaeróbico. Nos experimentos são consideradas as medições dos gases gerados em diferentes escalas (pequenos reatores, reatores piloto, digestores ou células experimentais. Nas Figuras 8, 9 e 10 respectivamente, são mostrados os digestores utilizados por Mandal e Mandal (1997), Hansen et al. (2004) e Caldas (2011). Assim, nota-se uma semelhança na forma de confecção dos biodigestores utilizados nos ensaios.

Figura 8 - Aparato experimental de biodigestor anaeróbico



Fonte: Mandal e Mandal (1997)

Figura 9 - Aparato experimental do biodigestor



Fonte: Hansen et. al (2004)

Figura 10 - Aparato experimental de biodigestor



Fonte: Caldas (2011)

Um procedimento laboratorial para aferição do CH_4 em amostras de RSU foi realizado por Hansen et al. (2004). Esses autores utilizaram reatores em triplicata e em cada um deles foram colocados 10 gramas de resíduos em cerca de 400 mL de inóculo oriundo de uma estação de biogás que trata principalmente estrume, acompanhado de alguns resíduos orgânicos e industriais e eventualmente resíduos sólidos orgânicos domésticos. Após a mistura dos RSU com os inóculos, os reatores recebem uma recirculação por cerca de 2 minutos de uma mistura de gás (80% N_2 e 20% CO_2) e, por fim, são armazenados em uma estufa sob temperatura de 55°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). A pressão no reator foi aferida periodicamente e a composição do biogás produzido ao longo do tempo foi medida por meio de um cromatógrafo.

Machado (2009) relata que em experimentos de laboratório, existem muitas dificuldades em reproduzir as condições reais de deposição em aterro, e as medições de gás em células em escala piloto e aterros de grande escala geralmente representam o gás recuperado, e não o gás gerado.

Portanto, pode-se dizer que a padronização normativa do volume do gás metano e da base do substrato para a análise de BMP é um desafio a ser superado nas metodologias existentes no Brasil, o que concorda com Steinmetzs (2012), em que relata que os dados disponíveis para BMP em resíduos no Brasil não utilizam uma metodologia padrão (ou seja, de biogás ou de produção de metano não expresso em volume normalizado ou expresso em base diferente, por exemplo: carbono orgânico total, ou sólidos voláteis, ou não expressa numa base específica).

A fim de compreender o processo de geração de biogás de RSU e a estrutura microbiana envolvidas no processo de digestão anaeróbica, Bernat et al (2015), realizou estudos em duas regiões da Polônia que teve como propósito a caracterização de RSU pré-tratados mecanicamente, em frações de diversos tamanhos (0-20 mm, 20-40 mm, 20-80 mm e 40-100 mm) de onde avaliou a composição e produção de biogás durante 90 dias de medição. Os resultados indicaram que os micro-

organismos na fração de tamanho 20-80 mm produziu a maior quantidade de biogás (252 ± 11 L/kg ST, k biogás = $0,16 \pm 0,04$ dias⁻¹), que apresentou o maior teor de metano (cerca de 50%), provavelmente porque esta fração de tamanho apresentou o maior conteúdo orgânico e maior diversidade na comunidade microbiana. Nesta fração de tamanho foram encontradas as archaeas: *Methanosarcinaeae* (micro-organismos acetoclásticos) e *Methanobacteriaceae* (micro-organismos hidrogenotróficos) foram mais abundantes do que em outras frações. A fração 0-20 mm produziu a menor quantidade de biogás (65 ± 8 L / kg ST); Entretanto, seu k biogás foi o mais alto ($0,32 \pm 0,05$ dias⁻¹), sugerindo que a matéria orgânica era facilmente acessível aos micro-organismos.

No trabalho de Schirmer et al (2014), foi realizada uma pesquisa onde monitorou a geração de biogás (taxa de geração e composição) a partir da degradação da fração orgânica de RSU de duas idades diferentes (novo e 1 ano) em um aterro sanitário na região metropolitana de Recife-PE, utilizando o método BMP. Além da avaliação do potencial de geração de biogás dos RSU, o estudo monitorou o gás metano, dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio ao longo do período de biodigestão, para acompanhar a evolução da formação de gás nas diferentes fases de degradação de lixo. O estudo da biodigestão dos RSU orgânico de diferentes idades revelou um padrão muito similar de curvas de degradação. Assim, a produção de biogás em frascos de BMP para ambos os tipos avaliados foi também semelhante: 1816 NmL de biogás acumulado para os resíduos novos e 1846 NmL para resíduos de 1 ano.

Maciel (2009) realizou ensaios de BMP para resíduos sólidos orgânicos provenientes do Aterro da Muribeca-PE, coletados nos meses de julho, novembro e dezembro de 2007. Considerando a concentração de CH₄ de 55% nos digestores, a média dos resultados executados pela autora para as amostras dos referidos meses foram de 62,0, 74,3 e 94,8 mL CH₄/g de base seca de resíduos sólidos orgânicos. Maciel (2009) ressalta que a diferença de valores encontrados por ele com valores publicados na literatura, possivelmente pode ser devido à não padronização dos ensaios, entre os quais se destacam: quantidade e qualidade do lodo, adição de nutrientes, temperatura, volume do recipiente, quantidade de resíduos e tempo de execução dos ensaios.

2.9 TÉCNICAS DE METAGENÔMICA USADAS EM ATERROS SANITÁRIOS

O método de digestão anaeróbica em estado sólido tem sido usado para produzir biogás a partir de vários resíduos sólidos na China, no entanto, a eficiência da produção de metano requer melhoria constante. A fim de compreender a diversidade e abundância de micro-organismos relevantes que desempenham papéis importantes na metanogênese da biomassa, Li et. al. (2013) utilizou em seus estudos a plataforma de pirosequenciamento de alta produtividade de última

geração da metagenômica (Roche/454 GS FLX Titanium). De acordo os autores a técnica de metagenômica pode fornecer uma ferramenta poderosa para a descoberta de novos microorganismos dentro das comunidades geradoras de biogás.

Assim, a metagenômica torna-se uma interessante possibilidade investigativa em revelar a diversidade microbiana presente em aterros sanitários, sendo este um ambiente predominante favorável aos processos físicos, químicos e biológicos e que tem como resultado a geração de biogás.

Para avaliar a diversidade microbiana do solo e os aspectos funcionais relacionados à degradação de determinados compostos recalcitrantes, Gupta et. al. (2017) usando uma abordagem metagenômica, em um lisímetro de aterro sanitário preparado com solo do aterro de Ghazipur, Nova Delhi, Índia. A análise metagenômica dos autores revelou a presença de diversas comunidades microbianas e a análise funcional sugeriu a presença de vários genes relacionados à degradação de compostos xenobióticos sob condições ambientais predominantes.

Os estudos no mundo envolvendo a abordagem metagenômica tem sido utilizados em pesquisas em escala piloto, a exemplo dos lisímetros em aterros sanitários, bem como, em larga escala *in situ* nos aterros sanitários, o que permite obter informações importantes sobre a diversidade microbiológica do aterro e relacionar o papel da microbiota no processo de digestão anaeróbica dos RSU e constantemente na geração do biogás.

De acordo, Wang et. al. (2017) que utilizaram em seus estudos o método de sequenciamento de alto rendimento MiSeq onde foi aplicado para examinar a diversidade microbiana do solo de cobertura e dos resíduos sólidos urbanos armazenados e localizados em diferentes profundidades (0-150 cm) do aterro sanitário típico de RSU na cidade de Yangzhou, leste da China. De acordo os resultados da pesquisa dos autores, a riqueza e a abundância microbiana foram significativamente maiores nos resíduos armazenados do que no solo de cobertura do aterro. A análise da diversidade microbiana revelou que uma maior riqueza microbiana foi encontrada nas camadas superior e inferior dos resíduos armazenados, no entanto, uma menor riqueza foi encontrada na parte intermediária.

A microbiota responsável pela digestão anaeróbica dos RSU pode está distribuída em diversas camadas de RSU aterrados dispostos nos aterros sanitários, sendo que a diversidade pode ser afetada por fatores inibidores, como a entrada de oxigênio, a presença de metais pesados, os antibióticos, as substâncias químicas domésticas descartadas, etc. Assim, a técnica da metagenômica pode ser uma importante ferramenta para avaliação dessa distribuição e diversidade microbiana e ainda poder relacionar com a presença desses fatores inibidores prejudiciais no

processo de digestão anaeróbica, sendo este importante para a decomposição dos RSU e a produção do biogás.

O aterro municipal é um exemplo de ambiente de disposição e tratamento de RSU e que abriga uma diversidade complexa de comunidades de micro-organismos. Para avaliar essa complexidade, as estruturas de comunidades bacterianas em aterros ativos (operacionais) e fechados (não operacionais) na Malásia, Zainun (2018) analisou com abordagens metagenômicas independentes de cultivo. Vários pontos de amostras de solo foram coletados de 0 a 20 cm de profundidades, os resultados do autor demonstraram que existem algumas variações entre as comunidades microbianas encontradas em aterros ativos e fechados e que em ambos os aterros foram dominados pelo filo Proteobacteria, enquanto os filotaxos para comunidades em aterros fechados eram dominados por filotaxos de acidobactérias e actinobactérias. Houve também Euryarchaeota (Archaea), que se tornou um filo de menor presença no aterro ativo, mas quase completamente ausente em aterro fechado.

A técnica de metagenômica quando empregada para investigar a diversidade biológica envolvida na digestão anaeróbica de RSU normalmente se aplica nos aterros sanitários ativos, porém, pode se constituir também uma interessante ferramenta para investigação das comunidades microbianas em aterros fechados, sendo que estes locais ainda podem conter RSU em processo de estabilização e geração de biogás.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O local da pesquisa foi o Aterro Sanitário Metropolitano Centro (ASMC) operado pela empresa BATTRE S.A, sendo a maior unidade de disposição final de RSU do estado da Bahia. O ASMC recebe diariamente cerca de 3.000 toneladas de RSU, provenientes dos municípios de Lauro de Freitas, Salvador e Simões Filho, sendo cerca de 1.500 toneladas provenientes da Estação de Transbordo do bairro da Canabrava (Figura 11). O ASMC fica situado na Região Metropolitana de Salvador (RMS), na Bahia, na cidade do Salvador, na rodovia BA-526 (Centro Industrial de Aratu-Aeroporto), Km 6,5, s/n - Zona Norte.

Figura 11 - Estação de Transbordo de RSU no bairro de Canabrava, Salvador-Ba



Fonte: Solví (2010)

Os trabalhos com os RSU no ASMC iniciaram no ano de 1997 pela Companhia de Desenvolvimento Urbano do Estado da Bahia (CONDER) que depois transferiu o aterro para a Prefeitura Municipal do Salvador (PMS) em 1998. Em 2000 a PMS concedeu por 20 anos a empresa privada, a Bahia Transferência e Tratamento de Resíduos S/A - BATTRE, sendo esta responsável por todas as atividades do aterro sanitário (implantação, operação, tratamento do lixiviado, tratamento do biogás e manutenção).

Os RSUs recebidos pelo ASMC correspondem a resíduos domiciliares, resíduos comerciais, resíduos das varrições das praias, resíduos das feiras livres e resíduos das capinações e de podas de jardins. A Figura 12 representa uma vista aérea do ASMC.

Figura 12 - Vista aérea do ASMC, Salvador-Ba

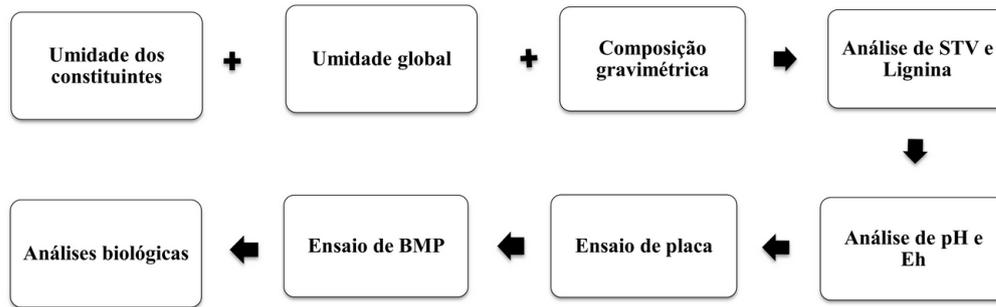


Fonte: Solví (2010)

3.2 ANÁLISES EXPERIMENTAIS

As análises feitas neste estudo contemplaram a realização de ensaios em triplicata para a investigação da influência da sucção aplicada a um dreno de biogás (DG 266) do ASMC na eventual entrada de oxigênio nas células do maciço e, conseqüentemente, na alteração das condições anaeróbicas de decomposição. Procurou-se também avaliar a influência das características biológicas do RSU com diferentes graus de decomposição nos valores de potencial de geração de metano. Foi realizado um planejamento das atividades de campo e laboratório, sendo estas descritas e detalhadas nos itens 3.2.1 a 3.2.5 e conforme o fluxograma (Figura 13) dos ensaios físicos, químicos e biológicos para Resíduos Novos (RN) e Resíduos já aterrados (RA).

Figura 13 - Fluxograma dos ensaios físico, químicos e biológicos



3.2.1 Caracterização dos RSU

A realização da caracterização dos RSU envolveu as análises da composição gravimétrica, do teor de umidade (w) do RSU em geral e dos seus componentes, teor de sólidos totais voláteis (STV) e de lignina, sendo que, esses dois últimos, são indicativos da quantidade total de matéria orgânica e da matéria orgânica dificilmente degradável presentes na fração pastosa dos RSU.

As atividades de caracterização foram realizadas no laboratório de campo do Geoamb localizado no próprio ASMC onde envolveu a segregação manual e imediata dos diferentes componentes dos RSU em bandejas metálicas previamente identificadas em seguida foram pesados em balança e submetidos a secagem em estufa a temperatura de 70 °C até a constância de massa, após essas etapas foram realizadas as análises da composição gravimétrica, teor de umidade global/dos constituintes, STV e lignina, conforme detalhes nos itens 3.2.1.3 a 3.2.1.6.

3.2.1.1 Coleta dos RN

Em Outubro de 2017 foi coletada uma amostra de RN na frente de serviço do ASMC a qual foi utilizada como amostra de referência para a realização dos ensaios físico-químicos e de BMP.

A coleta do RSU novo foi realizada no ASMC utilizando-se de material proveniente de duas carretas consecutivas. Foram coletados cerca de 400 litros (100 kg em média) de resíduos em cada veículo com o apoio de uma escavadeira (Figuras 14 e 15).

Figura 14 - Processo de coleta e quarteamento do RN no ASMC



Figura 15 - Processo de separação das amostras de RN no ASMC



Em seguida, procedeu-se a homogeneização e quarteamento dos RSU, até a obtenção de duas amostras representativas. Uma amostra de 60 kg foi utilizada para obtenção da composição gravimétrica e caracterização dos RSU e para a determinação da umidade dos componentes enquanto que uma outra, de 15 kg, foi utilizada para a análise da umidade global. Por fim com a fração orgânica do RN foram realizados os ensaios de STV e Lignina.

3.2.1.2 Coleta de amostras de RA

As amostras de RA (1 ano de aterramento) foram coletadas em 08/11/17 no ASMC a diferentes distâncias e a diferentes profundidades do dreno de gás de alta sucção DG 266 (Figura

16), de forma a verificar a eventual existência de gradientes nas proporções das bactérias anaeróbicas/aeróbicas que validassem a hipótese de entrada de oxigênio no maciço. Foram coletadas amostras em 4 locais distintos, sendo a 1-2 m e 4-5 m de profundidade, rente (1 m) ao dreno e numa distância radial de 20 m do mesmo, conforme legendas: D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4. O dreno foi escolhido previamente pela BATTRE, com a participação do GEOAMB, por se tratar de um dreno que aplica altos valores de sucção ao maciço, estando localizado em área a qual não sofreu intervenções no período de desenvolvimento experimental do trabalho.

Figura 16 - Delimitação da área de estudo e dreno de gás DG 266 no ASMC, Salvador-Ba



As amostras coletadas a diferentes profundidades tiveram também o intuito de observar a influência da camada de cobertura na criação de condições aeróbicas dentro do maciço. Conforme relatado, a ideia principal nesta etapa de estudo foi avaliar a ocorrência de gradientes na proporção entre a presença de micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos em função da distância do dreno e da profundidade. Para que a influência da camada de cobertura nas condições aeróbicas/anaeróbicas do maciço fossem avaliadas, foram também realizados ensaios de placa de fluxo estática para estimar as emissões fugitivas do aterro e como estas emissões se comportam em relação à distância ao dreno de referência (DG 266). Estes ensaios podem ser observados em sua totalidade no trabalho de

Damasceno (2018).

Para a coleta de amostras para os ensaios biológicos do RA (Figura 17), a camada superficial de solo (cerca de 1 m) foi retirada utilizando a máquina retroescavadeira (Figura 18). Ao atingir o maciço de RSU, o processo de perfuração e coleta prosseguiu com o auxílio de um amostrador do tipo parede fina de 430 mm de comprimento e com 50 mm diâmetro interno, com ponta biselada removível e folga interna, no interior do qual era instalado um filme (*liner*) de PVC transparente para amostragem do RSU de 50 mm x 30 cm. O amostrador possui, em sua parte superior, uma válvula que permite o escape de gases no caso de pressão positiva, mas bloqueia a entrada de gases e ajuda a manter a amostra no seu interior pela imposição de vácuo. Para a cravação do amostrador no RSU foi utilizada uma adaptação do equipamento para teste de sondagem à percussão (SPT), que consistiu num andaime metálico equipado com sarilho, roldana e corda; 4 tubos metálicos de revestimento de 2 m de comprimento e com diâmetro interno de 63,5 mm (2,5”) e martelo de ferro para cravação das hastes de perfuração de 1 m de comprimento e com diâmetro externo de 25,4 mm (1,0”) as quais são unidas ao amostrador (Figura 19). O martelo é cilíndrico e possui massa de 65 kg, sendo encaixado sobre um guia metálico de 1 m de comprimento o qual é fixado na haste do amostrador. A perfuração foi realizada até atingir a profundidade de 2 m e assim procedeu-se a primeira coleta (RSU coletado entre 1 e 2 m). A segunda coleta foi realizada entre as profundidades de 4 e 5 m.

As coletas das amostras de RSU foram realizadas tomando cuidados especiais no sentido de não haver contaminação por oxigênio na atmosfera do interior do maciço e assim interferir o menos possível nos resultados das análises microbiológicas anaeróbicas tradicionais. Para tanto, durante todo o processo de escavação/coleta de amostras, foi insuflando nitrogênio através de uma mangueira de polyflor de 1/4” conectada a um cilindro de 10 m³ do gás, a qual tinha a sua saída fixada logo acima do amostrador. Durante cada manobra, após a retirada da amostra de RSU do amostrador, o seu espaço interno era saturado de nitrogênio e a sonda era inserida no maciço. Durante as coletas das amostras de RSU foi realizado o monitoramento do O₂ no furo de sondagem com o uso de um aparelho analisador de gases GEM 5000 da Landtec assegurando o controle dos percentuais de oxigênio nos locais das escavações (Figuras 20 e 21). Foi realizada a medição da temperatura nos locais escavados com o uso de um termômetro Infravermelho Raytek MT4.

Figura 17 - Localização dos pontos de amostragem e atividades no DG 266 do ASMC

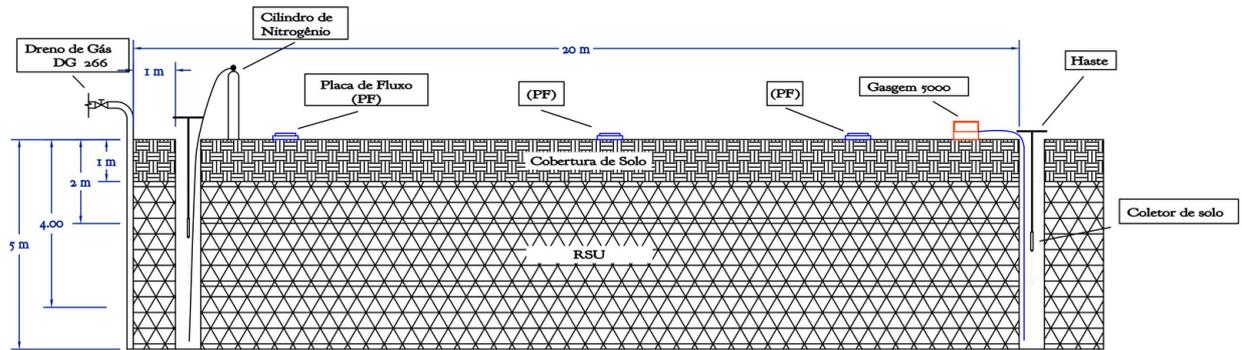


Figura 18 - Máquina usada para retirada do solo e do RA no ASMC



Figura 19 - Adaptação do equipamento de teste de sondagem a percussão



As amostras de RSU coletadas foram imediatamente acondicionadas na jarra de anaerobiose contendo como material redutor de oxigênio, uma placa de *Anaerocult* da Merck®. Após a primeira coleta e colocação da amostra de RSU na jarra de anaerobiose foi realizado o expurgo com N₂ para em seguida proceder com a coleta da segunda amostra e assim foi feito até a última amostra coletada. A coleta das amostras destinadas as análises microbiológicas aeróbicas foram realizadas normalmente sem os cuidados envolvidos nas amostras para as análises anaeróbicas, sendo acondicionadas diretamente em tubos tipo Falcon de 50 ml esterilizados.

Figura 20 - Cilindro de N₂ e aparato de coleta de RA no ASMC



Figura 21 - Monitoramento do O₂ com o GEM 5000 e dreno DG 266 a no ASMC



Após o término dos trabalhos das coletas de campo, todas as amostras destinadas às análises aeróbicas e anaeróbicas foram armazenadas em caixas térmicas até o transporte ao laboratório, onde

ficaram armazenadas em menos de 24 h a 4 °C até o momento da realização dos ensaios.

Também foram separadas em tubos tipo Falcon de 50 ml esterilizados, 2 amostras de cada local do RSU aterrado, totalizando 8 amostras (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4), obtidas conforme descrito anteriormente, para a realização dos ensaios de caracterização biológica através de técnicas moleculares independente de cultivo (metagenômica) no laboratório AQUACEN da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), conforme metodologia descrita no item 3.2.4. Estas amostras ficaram armazenadas a -20 °C até o momento da realização dos ensaios no laboratório.

Após as coletas específicas para os ensaios biológicos procedeu-se a coleta normal de amostras de RA através da escavação mecânica com o uso da concha da retroescavadeira. As amostras foram coletadas nos mesmos locais das destinadas aos ensaios biológicos, as quais foram submetidas à realização dos ensaios físico-químicos, composição gravimétrica, umidade dos constituintes e umidade global, STV, Lignina, pH, Eh e BMP.

3.2.1.3 Ensaio de umidade dos RN e RA

A partir da amostra composta de 60 kg obtida foi realizada a separação dos componentes dos RSU, a qual foi efetuada no laboratório de campo do ASMC, imediatamente após a coleta. A determinação da umidade global e de cada componente foi realizada em bases secas, BS, e úmida, BW, colocando-se o RSU em estufa a 70 °C até a constância de massa. Em Caldas (2011) pode se obter maiores detalhes dos procedimentos adotados das análises de umidade.

3.2.1.4 Análise da composição gravimétrica dos RN e RA

Logo após a coleta, os constituintes dos RN foram segregados e classificados em 9 categorias: madeira, papel/papelão, têxtil, plástico, borracha, vidro, pedra/cerâmica, metal e fração pastosa (Figura 22). A fração pastosa contém os componentes orgânicos mais facilmente degradáveis, como restos de alimentos e podas, além de outros componentes não facilmente separáveis/identificáveis. No caso dos RA, a sua segregação se deu em apenas 4 categorias (papel/papelão, madeira, inertes e fração pastosa). Isto ocorreu devido às dificuldades experimentais dessa etapa, pois a concha da escavadeira acaba por triturar e misturar os resíduos durante a coleta, dificultando a sua separação. A análise permitiu a obtenção de dados da umidade de cada componente, além da composição gravimétrica em BS e em BW para os RSU.

Figura 22 - Fotos ilustrativas do processo de seleção dos constituintes do RSU



3.2.1.5 Análise do teor de STV dos RN e RA

A análise do STV foi realizada, conforme a metodologia de Machado et al. (2009), onde se utilizou a fração pastosa seca, a qual foi quarteada até a obtenção de cerca de 1 kg do material, sendo totalmente triturada, com o objetivo de diminuir o tamanho das partículas para aumentar a superfície específica. Para tanto, foi pesado 25 g de fração pastosa triturada em cadinhos de porcelana com sua respectiva tara e em seguida colocou as amostras em estufa a 70 °C por 1 h e após esta etapa o material foi calcinado em mufla a 600 ± 5 °C durante 2 h. O percentual de STV foi então determinado pela diferença entre a massa da amostra após secagem na estufa e na mufla.

3.2.1.6 Análise de lignina dos RN e RA

O procedimento utilizado para determinação do teor de lignina é fundamentado no procedimento proposto por Hatfield et al. (1994), no qual as porcentagens de ocorrência de Celulose e Hemicelulose presentes na amostra podem ser transformadas em açúcares quando submetidas a dois estágios de hidrólise ácida. O primeiro estágio corresponde à lavagem da amostra com solução de 2:1 de Tolueno + Etanol a 95% para remoção dos lipídios e com Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) a 72% caracterizando a hidrólise primária. A hidrólise secundária é dada pela diluição do H_2SO_4 em água

destilada por 28 vezes, ou seja, uma relação volumétrica de 28 de H₂O para 1 de H₂SO₄. Após a realização das hidrólises ácidas, o remanescente consiste em materiais orgânicos (sem Hemicelulose e Celulose) e inorgânicos.

Após as etapas acima, o material resultante das lixiviações foi submetido a um ensaio de STV e os voláteis calculados pela calcinação em mufla são considerados lignina. A fração pastosa utilizada na determinação do STV foi também utilizada para determinação do teor de lignina. Maiores detalhes sobre o ensaio podem ser encontrados em Machado *et al.*, (2009).

3.2.1.7 Análise do pH e do potencial redox (Eh) dos RA

As análises de potencial hidrogênionico (pH) e do potencial redox (Eh) foram realizadas com sensores específicos para a medição desses parâmetros. O equipamento de medição digital utilizado foi o GEHAKA PG - 1000 com eletrodos combinados e específicos de pH e Eh (Figura 23).

Figura 23 - Aparato para determinação do pH e do Eh



Para medição desses parâmetros em resíduos, foi elaborado um extrato solubilizado conforme a metodologia de Firmo (2013). O método consistiu em se manter uma amostra de RSU já aterrado em contato com um solvente, no caso a água deionizada isenta de CO₂, por alguns minutos sob agitação intensa a fim de proporcionar melhor contato entre as fases e também realizar a homogeneização do extrato. Foi adicionado 250 ml de água deionizada em aproximadamente 100 g de amostra do material sólido.

3.2.2 Ensaio de placa estática no maciço de RA

De forma a complementar as informações a serem obtidas das análises microbiológicas, uma

campanha experimental foi realizada para avaliação das emissões fugitivas de CH₄ pela camada de cobertura do aterro. Para tanto, neste trabalho, foram realizados dois ensaios de placa de fluxo estática em diferentes distâncias do DG 266 (ensaio EP-02, a 20 metros do dreno e o ensaio EP-03, a 2 metros do dreno, conforme Figura 15), no período seco e no período chuvoso. Nestes ensaios a saída de gases pela cobertura do aterro foi medida pela mudança na concentração de CH₄ ao longo do tempo, já que as placas possuem um volume interno conhecido. As análises do biogás foram realizadas com o Gasgem 5000 da Landtec.

As determinações dos fluxos de CH₄ foram realizadas utilizando-se a metodologia do ensaio com placa de fluxo estática, conforme Maciel (2003) e Damasceno (2018), onde podem ser consultados os detalhes da metodologia para a realização dos ensaios de placa, além de serem encontrados resultados de ensaios de placa para muitos outros pontos. A Figura 24 apresenta o aparato experimental utilizado.

Figura 24 - Aparato do ensaio com a placa de fluxo



Com as medidas obtidas no ensaio de placa de fluxo estática se procurou averiguar a existência de gradientes de concentração de CH₄, CO₂ e O₂ em regiões próximas (2 m) do dreno de gás (ponto 03) e mais afastadas do dreno (20 m) no ponto 02 (ver Figura 15). Estes ensaios auxiliaram na análise conjunta dos resultados dos ensaios biológicos realizados.

3.2.3 Análises biológicas tradicionais dependentes de cultivo

Do total das quatro amostras de RA coletadas para cada tipo de análise (aeróbica anaeróbica), foram separadas pequenas alíquotas para a realização dos ensaios de caracterização biológica. Todos os ensaios microbiológicos foram realizados em três réplicas para cada amostra, o que nos conduziu a um total de 24 ensaios.

Nessa pesquisa foi realizada preliminarmente uma análise microbiológica tradicional baseada nos procedimentos de cultura de micro-organismos nas quatro amostras de RSU aterrado. As análises quantitativas dos micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos ocorreu de acordo com a metodologia de Araújo et al. (2010) e Atalia (2015).

As análises da Microbiologia tradicional foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental da Universidade Federal da Bahia (UFBA), conforme as etapas descritas de maneira resumida no Quadro 1.

Quadro 1 - Sequência das etapas dos ensaios através da Microbiologia tradicional

Etapas	Descrição
1 ^a	Processamento das amostras de RA;
2 ^a	Preparação, autoclavagem e plaqueamento dos meios de cultura;
3 ^a	Diluição seriada das amostras nas frações (10^{-1} a 10^{-6});
4 ^a	Inoculação por <i>spread plate</i> em meio de cultura aeróbico PCA (<i>Plate Count Agar</i>);
5 ^a	Incubação direta na estufa a 36,5 °C por 48 h;
6 ^a	Inoculação por <i>spread plate</i> em meio de cultura anaeróbico <i>Anaerobic Agar</i> ;
7 ^a	Colocação das placas em jarra de anaerobiose e incubação em estufa a 36,0 °C por 72 h;
8 ^a	Contagem das placas aeróbicas/anaeróbicas das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL).

3.2.3.1 Processamento das amostras

No laboratório, de cada amostra de RA, foi pesada uma quantidade de 10 g do material na balança de precisão em capela de fluxo laminar. Esse material foi transferido para um béquer de 250 ml e diluído em 90 ml de água destilada esterilizada. Em seguida, a amostra foi agitada manualmente com um auxílio de um bastão e deixada em repouso. A porção líquida da solução foi separada da sólida através de uma peneira plástica, com as dimensões: 12 cm de diâmetro, 25 cm de comprimento, 7 cm de altura e com a abertura da malha de 1,5 mm. A suspensão agitada foi submetida à técnica de diluição seriada em tubos de ensaios, sendo retirado, com o auxílio de um pipetador automático dotado de uma ponteira estéril, 1 ml a ser adicionado a 9 ml de água destilada esterilizada (10^{-1}). Dessa diluição, coletou-se 1 ml os quais foram adicionados a 9 ml de água destilada estéril (10^{-2}). Este procedimento foi repetido até a diluição 10^{-6} , conforme a Figura 25.

Foram selecionadas para a análise as diluições mais significativas (10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6}). Assim, foi retirada, com a ajuda de um pipetador automático dotado de uma ponteira esterilizada, uma alíquota de 1 ml da suspensão a qual foi semeada nas placas de Petri contendo o meio de cultura PCA (*Plate*

Count Agar) da marca Kasvi para o cultivo das bactérias aeróbicas (Figura 26). Esse meio de cultura é específico para análise quantitativa de bactérias. Todo material utilizado foi previamente autoclavado. Realizaram-se três repetições para cada diluição selecionada pela técnica de esgotamento em superfície (*spread plate*), usando a alça de *Drigalsky*.

Figura 25 - Materiais para realizar da técnica de diluição seriada



Figura 26 - Meio *PCA* para bactérias aeróbicas



3.2.3.2 Análise dos micro-organismos aeróbicos

Após esses procedimentos, as placas foram encaminhadas diretamente à estufa a 36,5 °C por 48 horas e em seguida se procedeu a contagem das colônias formadas sobre a superfície da placa e realizou-se o cálculo das unidades formadoras de colônia (UFC/mL) (APHA, 1998), considerando o fator de diluição de cada amostra selecionada.

3.2.3.3 Análise dos micro-organismos anaeróbicos

Para isolamento da microbiota anaeróbica foi utilizado o meio de cultura *Anaerobic Agar* da marca Acumedia (Figura 27) de acordo a metodologia de Ronald M. (2010), sendo este específico para o cultivo de micro-organismos anaeróbicos. As amostras foram processadas conforme o item 3.2.3.2. Após esta etapa foi retirada com um pipetador automático dotado de uma ponteira esterilizada, uma alíquota de 1 ml e em seguida foram inoculadas nas placas de Petri na câmara de fluxo laminar, conforme a Figura 28, contendo os meios previamente autoclavados e nas diluições mais significativas (10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6}). Também neste caso foram realizadas três repetições para cada diluição selecionada pela técnica de *spread plate*, usando a alça de *Drigalsky*.

Figura 27 - Meio de cultura Anaerobic Agar



Figura 28 - Câmara de fluxo para inoculação



O oxigênio contido no meio para anaeróbicos totais foi retirado utilizando a jarra de anaerobiose contendo o material redutor de oxigênio, a placa de *Anaerocult* da Merck®, formando uma atmosfera anaeróbica. Foi afixada com uma fita adesiva à parede da jarra uma tira de *Anaerotest* da Merck® impregnada com azul de metileno que, na ausência de oxigênio, sofreu uma reação de mudança de cor (Figura 29). Por fim, as placas foram levadas à estufa a 36,0°C por 72 h e procedeu a contagem das colônias formadas sobre a superfície da placa.

Figura 29 - Jarra de anaerobiose com Anaerocult



Fonte: Merck® (2017)

3.2.4 Análises biológicas moleculares independente de cultivo

Foi utilizada a metagenômica por meio dos fragmentos de DNA, sendo esta a mais indicada para uma análise mais profunda da biodiversidade microbiana e da abundância biológica nas amostras de RA diretamente do ambiente, conforme a metodologia de Carvalho (2018).

3.2.4.1 Processamento das amostras em laboratório úmido

O processamento das amostras em laboratório úmido envolveu duas etapas sequenciais: extração do DNA metagenômico das amostras e preparação das bibliotecas de amplicons de DNA metagenômico e sequenciamento massivamente paralelo.

O conteúdo líquido de amostras (0,25 g de peso fresco) foi removido por centrifugação a 13.000 rotações por minuto (rpm) durante 10 min a 4 °C. As alíquotas foram então submetidas a extração de DNA metagenômico, utilizando kit *FastDNA Spin, kit for Soil* (kit de solo da MP Biomedicals), conforme recomendação de Li et. al. (2013) na extração de DNA total de solo. A região V4 hipervariável do gene 16S rRNA foi amplificada usando fusão primers F515 (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') e R806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). A PCR em

emulsão da amostra, a quebra de emulsão e enriquecimento foram realizados usando o Ion PGM™ Hi-Q™ do Kit OT2 de acordo com as instruções do fabricante.

3.2.4.2 *Processamento das amostras em laboratório seco*

O processamento das amostras em laboratório seco envolveu duas etapas sequenciais: as análises de bioinformática das amostras sequenciadas e as análises ecológicas dos dados após a curadoria da bioinformática.

Para determinar a qualidade do método metataxonômico foram utilizadas duas comunidades microbianas sintéticas do gene 16S rRNA (Mock Communities) de espécies com genomas conhecidos.

O arquivo Fastq com dados brutos de todos os códigos de barras (esperam-se dois códigos de barras com as comunidades simuladas) foi utilizado no pipeline de classificação OTU (Unidade Taxonômica Operacional) derivado da análise dos dados do perfil de gene 16S rRNA do Projeto Microbioma Brasileiro (Pylro et al., 2014). Resumidamente, o arquivo foi processado para extrair os códigos de barras usando o pacote Usearch. Em seguida, realizou-se filtragem de qualidade, incluindo remoção de sequências truncadas e de baixa qualidade. Em seguida, as sequências foram submetidas à desreplicação, classificação de abundância, remoção de singleton, agrupamento de OTU (97% de similaridade) e filtragem usando a ferramenta Vsearch. Finalmente, as sequências preprocessadas foram atribuídas taxonomicamente usando o pipeline de bioinformática QIIME, sendo requerido 97% do limite de similaridade das sequências em comparação ao banco de dados do programa Greengenes 13,8. Os dois códigos de barras com comunidades falsas foram processados usando os mesmos passos.

3.2.5 **Análise do BMP nas amostras de RN e RA**

Foi realizado o ensaio do potencial bioquímico de geração de metano (BMP) em amostras de RN e RA a 1 ano de aterramento a fim de verificar a influência das características biológicas do RSU com diferentes graus de decomposição nos valores do potencial de geração de metano.

Na análise de BMP as amostras de RSU coletadas foram quarteadas e moídas e em seguida foram acondicionadas em biodigestores em aço inox, conforme a Figura 30, com 2000 ml de volume interno útil. Os ensaios foram realizados mantendo-se os biodigestores acondicionados em câmara com temperatura controlada (37 a 40 °C). O volume de biogás produzido foi avaliado pela variação da pressão interna no biodigestor, a qual foi acompanhada usando um transdutor de

pressão. Após a finalização dos ensaios (obtenção de valores constantes de pressão, indicando o término dos processos de biodigestão). Foi utilizado o analisador de gás Gagem 5000 da Landtec para medida da concentração dos gases de interesse: CO₂, CH₄, O₂ e CO, conforme a Figura 31.

Figura 30 - Biodigestores de aço inox para o BMP



Para acelerar a decomposição dos RN e RA, inoculou-se em cada digester 250 ml de lixiviado oriundo da bacia do ASMC. A quantidade de gás gerado apenas pelo lixiviado também foi monitorada por meio da incubação de digestores sem a presença de RSU (controle), os quais foram confinados em paralelo aos ensaios com RSU. Ao término dos ensaios o volume de biogás produzido nos digestores contendo RSU e lixiviado foi subtraído do volume produzido apenas pelo lixiviado. A quantidade de amostra de RSU utilizada nos ensaios de BMP foi determinada com base no potencial de geração de biogás teórico, de acordo o procedimento proposto por Machado *et al.* (2009).

Figura 31 - Biodigestor de aço inox para análise de BMP com o Gagem 5000



Os ensaios para determinação do BMP foram realizados em triplicata, o que, com o uso dos ensaios de controle (lixiviado), perfizeram um total de 17 ensaios considerando as amostras de controles combinadas com RN e RA. Foi utilizado um cilindro de gás nitrogênio para realização da purga e consequente troca da atmosfera para N_2 nos digestores e o monitor de fluxo e gás portátil Gagem 5000.

Foi utilizado um aparato experimental (Figura 32) para manutenção da faixa de temperatura de 38 a 40 °C durante a realização dos ensaios, o qual é feito com paredes de bloco de cimento rebocadas e revestidas com um isolante térmico. Em Caldas (2011) pode se obter um maior detalhamento do ensaio do BMP.

Figura 32 - Aparato experimental para confinamento dos digestores



3.2.6 Análise estatística de correlação

Foi realizada inicialmente uma análise estatística de correlação baseada nas abundâncias relativas dos micro-organismos encontrados nos quatro pontos de amostragem (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4). Com base nos resultados obtidos, percebeu-se que gêneros anaeróbicos distintos apresentavam comportamentos diferenciados com relação às variáveis independentes empregadas (Distância do dreno, Profundidade, pH, temperatura e Eh). Desta forma, estes organismos foram agrupados (grupos AN1 a AN4) conforme o comportamento apresentado e novas correlações foram realizadas, empregando-se o somatório das abundâncias de cada grupo e as variáveis de interesse. Para os grupos aeróbicos (A) e facultativos (ANF) não foi necessário a separação em grupos devido ao comportamento mais homogêneo apresentado.

3.2.7 Análise bioestatística multivariada

As abundâncias relativas de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) de comunidades bacterianas amostradas foram submetidas à transformação de Hellinger (Legendre e Gallagher, 2001). Os dados transformados foram analisados por intermédio da aplicação da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA). As variáveis ambientais (pH e temperatura) foram adicionadas como variáveis complementares e sobrepostas ao biplot. As amostras da mesma distância e/ou profundidade foram agrupadas ao desenhar as envoltórias no biplot. O número de eixos componentes a serem interpretados foi alcançado pela comparação dos autovalores obtidos com o modelo de Broken Stick (Borcard et al., 2018). Esta análise multivariada foi realizada usando o aplicativo CANOCO v. 5.11 para Windows (ter Braak e Šmilauer, 2018).

Os dados transformados por Hellinger foram usados em uma PERMANOVA de duas vias cruzadas usando a distância euclidiana. Este teste foi utilizado para avaliar a significância dos dois fatores (distância e profundidade) na estruturação das comunidades microbianas, empregando o pacote vegan R (R Core Team, 2018) (Oksanen et al., 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS RSU

4.1.1 Umidade dos RN e RA

Na tabela 1 são apresentados os teores de umidade (BS), de cada componente para o RN coletado em 10/17.

Tabela 1 - Teor de umidade em base seca de cada componente do RN

Teor de umidade (%) - Base seca									
Amostra	Madeira	Pedra / cerâmica	Têxtil	Borracha	Plástico	Vidro	Metal	Papel / Papelo	Fração pastosa
RN 10/17	58,03	10,46	68,27	77,05	86,13	0,61	47,92	78,20	144,88

Na tabela 2 são apresentados, os teores de umidade (BS), de cada componente para os RA localizados a diferentes distâncias do dreno DG 266 e a diferentes profundidades.

Tabela 2 - Teor de umidade em base seca de cada componente do RA

Teor de umidade (%) - Base seca				
Amostra	Madeira	Inertes	Papel / Papelo	Fração pastosa
RA D2P2	-	24,71	59,51	38,69
RA D2P4	-	27,41	62,20	44,77
RA D20P2	-	37,04	63,47	45,20
RA D20P4	48,48	39,48	74,63	59,40
Média	48,48	32,15	64,95	47,01

Conforme a Tabela 1, verifica-se uma significativa variação na umidade dos componentes do RN. Os materiais, vidro, pedra/cerâmica, metal e borracha possuem menor umidade. Isso pode ser devido a própria dificuldade desses materiais em reter água, pela sua baixa superfície específica. Observa-se que madeira, têxtil, papel/papelão e a fração pastosa apresentaram elevados teores de

umidade (acima de 35%), o que é considerado normal, face a maior condição de retenção desses materiais.

O papel apresentou teores de umidade de cerca de 78% e 65% respectivamente para RN e RA (Tabelas 1 e 2), o qual é bem superior aos valores sugeridos por Pivato (2004), que afirma que a decomposição de RSU pode ser fortemente reduzida quando a umidade se apresentar abaixo de 35%. Já o plástico no RN (Tabela 1) apresentou a umidade média de 86,1%. Segundo Machado *et al.* (2010) os elevados teores de umidade encontrados para o plástico podem ser justificados pela presença de outros materiais aderidos à superfície e difíceis de serem removidos durante a separação manual dos componentes, assim como a presença de líquidos dentro de recipientes.

O componente papel apresentou teor de umidade menor (média de 64,9%) nas amostras RA que o valor obtido na amostra de RN (78,2%). Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os valores médios dos teores de umidade global em BS e em BW para o RN e para os RA.

Tabela 3 - Teor de umidade global para os RN

Amostra	Teor de umidade Global	
	(%) - Base seca	(%) - Base úmida
RN 10/17	114,22	53,32

Tabela 4 - Teor de umidade global para os RA

Amostra	Teor de umidade Global	
	(%) - Base seca	(%) - Base úmida
RA D2P2	71,53	41,70
RA D2P4	75,09	42,89
RA D20P2	68,00	40,48
RA D20P4	73,73	42,44
Média	72,08	41,87

Observa-se na Tabela 4 que para o teor de umidade global, os valores apresentados para os RSU já aterrados são inferiores em comparação com o RN (Tabela 3). Segundo Firmo (2013) há uma tendência decrescente do teor de umidade existente nos resíduos conforme avanço da decomposição e diminuição do teor de resíduos degradáveis. Entretanto, esses valores dependem das condições aos quais os resíduos estavam submetidos em campo, inclusive do desempenho das camadas de cobertura. Vale destacar que o teor de umidade remanescente ainda favorece o processo de digestão anaeróbica dos RSU.

4.1.2 Composição gravimétrica dos RN e RA

A composição gravimétrica pode ser utilizada como uma excelente ferramenta para indicar a melhor alternativa de tratamento dos RSU, bem como auxiliar no dimensionamento adequado do aterro, pois possibilita, aliada à taxa de decomposição, estimar a quantidade de biogás a ser gerada em campo. No caso do ASMC o biogás gerado é utilizado na produção de energia, enquanto que o plástico, por se tratar de um componente de elevado poder calorífico que poderia ser aproveitado para geração de calor e em seguida convertido em energia.

Em relação a fração pastosa dos RA, conforme as Tabelas 5 e 6, nota-se que o RN possui valores similares aos RA (era esperada uma queda nos valores de fração pastosa), muito provavelmente devido ao fato do material já aterrado incorporar outros componentes de difícil separação após a disposição.

Na Tabela 5 a fração pastosa do RN apresenta valor acima de 20%, conforme a tendência nacional. Para o caso dos RA (Tabela 6), é possível perceber uma redução da quantidade de matéria orgânica presente no RA com a profundidade, possivelmente em decorrência da ação da microbiota anaeróbica presente nas camadas abaixo de 2 metros.

Tabela 5 - Composição gravimétrica dos RN na base seca (BS) e base úmida (BW)

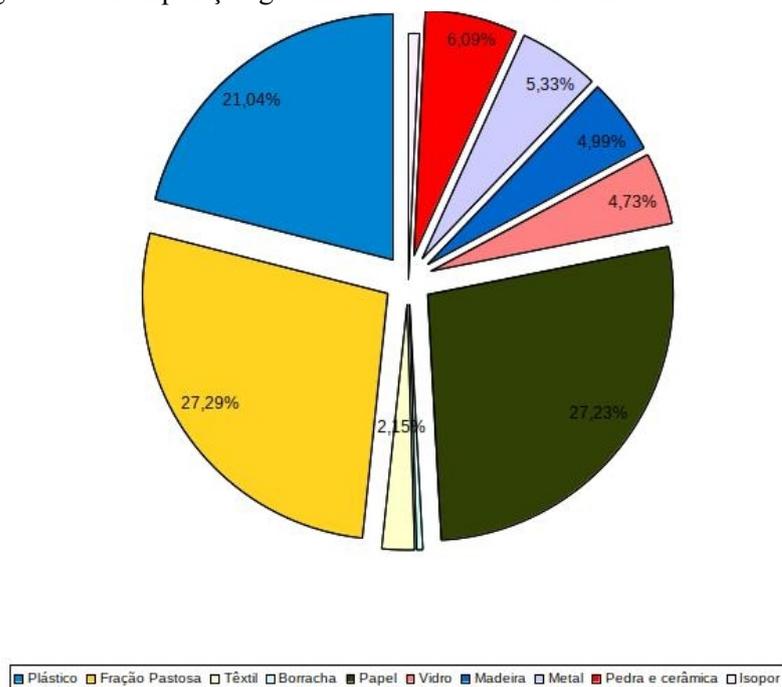
Porcentagem de Ocorrência (%)									
Amostra	Madeira	Pedra	Têxtil	Borracha	Plástico	Vidro	Metal	Papel	Fração pastosa
RN 10/17									
BS	4,99	6,60	2,15	0,40	21,40	4,73	5,66	27,23	27,29
BW	4,21	3,60	1,93	0,38	21,50	2,54	4,21	25,92	35,70

Tabela 6 - Composição gravimétrica dos RA na base seca (BS) e base úmida (BW)

Amostra	Porcentagem de Ocorrência (%)			
	Madeira	Inertes	Papel / Papelão	Fração pastosa
RA D2P2				
BS	-	41,91	27,36	30,73
BW	-	37,74	31,51	30,75
RA D2P4				
BS	-	51,64	21,57	26,78
BW	-	47,13	25,07	27,80
RA D20P2				
BS	-	53,80	16,26	29,94
BW	-	50,93	18,62	30,45
RA D20P4				
BS	6,32	35,72	33,69	24,26
BW	5,99	31,79	37,54	24,68
Média				
BS	6,32	45,76	24,72	27,92
BW	5,99	41,89	28,18	28,42

Na Tabela 5 (RN), a fração pastosa, componente que tem maior participação na formação do biogás no aterro, apresentou resultado superior à dos outros componentes. No trabalho de Monteiro (2006), concernente ao aterro sanitário de Muribeca, localizado na Região Metropolitana do Recife-PE (RMR), verificou-se um maior percentual de fração pastosa para RN (45%) seguido de plásticos, vidros e outros constituintes em menores quantidades. O valor obtido para o ASMC, cerca de 27% em base seca, é comparável ao valor de 28% apresentado por Oenning et. al. (2012), para resíduos sólidos urbanos gerados no município de Criciúma. Os valores médios da série histórica do ASMC, obtidos pelo GEOAMB para o período de 2004 a 2016 para fração pastosa e plástico de RN (BS), foram de 32% e 19% respectivamente, conforme apresenta Caldas (2017). A Figura 33 apresenta a composição física, em BS, do RN coletado em 10/17.

Figura 33 - Composição gravimétrica dos RN 10/17 em base seca



Para a amostra RA D2P2 obteve-se percentagem de inertes da ordem de 42%, com fração pastosa da ordem de 31%. Mattei (2007) reporta, para o caso de RSU já aterrado em um aterro sanitário no município de Passo Fundo-RS, nas profundidades de 0,6 a 1,2 m e de 1,8 a 2,4 m valores de fração pastosa da ordem de 41% e de inertes da ordem de 51%.

A comparação entre RA para as profundidades de 2 e 4 metros, a uma mesma distância do dreno, mostrou que a composição gravimétrica dos RSU apresentou diferenças perceptíveis. Conforme a Tabela 6, para fração pastosa, quanto maior a profundidade menor o percentual desse componente, o que pode estar relacionado com a maior abundância de micro-organismos anaeróbicos nas camadas mais profundas, aumentando a eficiência do processo de decomposição. É importante ressaltar, que em função da possível entrada de oxigênio atmosférico nessa região do dreno pela camada de cobertura pode também está ocorrendo o processo aeróbico, em que envolve a degradação da matéria orgânica através dos micro-organismos que requerem oxigênio, em que os subprodutos gerados são, água e dióxido de carbono e liberação calor.

4.1.3 STV e Teor de Lignina dos RN e RA

Os resultados de STV e de lignina, ambos em BS, obtidos para os RN são mostrados na Tabela 7, bem como o percentual de Matéria Orgânica (MO) da fração pastosa do resíduo, obtido multiplicando-se o valor do STV pelo valor do percentual da fração pastosa.

Ao comparar os resultados de STV apresentados na Tabela 7 com os obtidos por Alves (2008) para 3 amostras de RN (49,2, 56,9 e 46,9%) do Aterro da Muribeca-PE, percebe-se que os resultados do autor se encontram na faixa de valores do STV dos RN do ASMC, onde um valor médio de 56,7% foi obtido.

Tabela 7 -Teor de STV, MO e Lignina para a fração pastosa dos RN

Amostras	Fração Pastosa (%)	STV (%)	Lignina (%)	MO da Fração Pastosa (BS) (%)
RN 10/17	27,29	56,7	21,10	15,48

O valor de STV apresentado na Tabela 7 é também próximo ao valor obtido por Caldas (2017), que estudou a série histórica do período de 2004 a 2016 para RSU novos no ASMC e obteve um valor de 54,4% e ao valor obtido com o estudo de Follmann et. al. (2017), que trabalhou com RSU novo do aterro sanitário do município de Guarapuava-PR, que foi de 55,9%.

Verifica-se na Tabela 8 que a média foi de 20,7% para o teor de STV para os RA no ASMC. Estes valores são inferiores aos de Caldas (2017), que obteve 28,7% para RA com 1 ano de aterramento no mesmo aterro sanitário.

Tabela 8 -Teor de Fração Pastosa, STV, Lignina e MO para a fração pastosa dos RA

Amostras	Fração Pastosa (%)	STV (%)	Lignina (%)	MO da Fração Pastosa (BS) (%)
RA D2P2	30,73	22,85	9,97	7,02
RA D2P4	26,78	19,98	14,56	5,35
RA D20P2	29,94	26,18	14,10	7,83
RA D20P4	24,26	13,91	8,31	3,37
Média	27,92	20,73	11,73	5,89

De acordo com as Tabelas 7 e 8, como esperado, verifica-se que o RN apresentou maiores valores de STV quando comparados com os RA, muito provavelmente devido o processo de decomposição. Pelas mesmas razões, são menores os valores de STV e de MO da fração pastosa para as amostras mais profundas. Percebe-se que o STV corrige os resultados de composição obtidos para os RA, os quais possuem valores de fração pastosa comparáveis aos dos RN, muito provavelmente por conta da dificuldade de separação dos componentes para estes resíduos.

Os RSU que apresentaram o menor valor de STV de acordo a Tabela 8, foi os RA D20P4 (13,9%). Apesar deste valor reduzido, este ainda pode ser passivo de degradação pelos micro-

organismos anaeróbicos presentes na profundidade de 4 metros. Segundo Kelly (2002), valores de STV inferiores a 10% podem indicar a bioestabilização do RSU.

O valor para lignina foi de 21,1% para RSU novo (Tabela 7), o qual foi superior ao valor encontrado por São Mateus (2008) para a fração pastosa do RSU novo disposto no ASMC: 13,0%. Já nas pesquisas de Caldas (2011) obteve-se resultados mais próximos para o mesmo aterro, da ordem de 17,8%.

De acordo a Tabela 8, o teor médio de matéria orgânica para os RA foi de 5,8% (base seca), valor inferior ao obtido por Abreu (2014) em RSU já aterrados do Aterro Metropolitano de Jardim Gramacho (AMJG) no Rio de Janeiro-RJ (8,6%). Já no estudo de Andrade (2014) no ASMC, os RSU com mesmo período de aterramento apresentaram valores da ordem de 13,3%.

Analisando os dados das Tabelas 7 e 8, pode-se dizer que o STV teve uma depleção média de 36,5% na comparação entre amostras de RN e com os RA. Em geral, comparando os dados de fração pastosa e STV contidos na Tabela 8, verifica-se que os RA apresentam valores próximos e com pouca oscilação, embora a amostra RA D20P4 tenha apresentado baixos teores de STV e lignina (13,9% e 8,3% respectivamente), o que confere a essa amostra um baixo conteúdo de matéria orgânica remanescente disponível para geração de biogás.

4.2 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH), POTENCIAL REDOX (Eh) e TEMPERATURA DOS RA

O potencial redox de um ambiente é medido em milivolts, podendo ser afetado por uma série de compostos. O oxigênio é o fator que mais contribui para o aumento do potencial redox do meio. As medidas de potencial redox (Eh) e potencial hidrogeniônico (pH), representam uma alternativa para avaliação de estados de oxidação/redução e acidez/alcalinidade dos RSU dispostos e aterrados no ambiente do aterro sanitário, pois influenciam diretamente nas atividades biogeoquímicas do meio. Os resultados de pH e potencial redox obtidos para as diversas amostras de RA são mostrados na Tabela 9.

Conforme a Tabela 9, o parâmetro potencial redox (Eh) apresentou variação com a profundidade dos RA, sendo obtidos valores mais altos para a profundidade de 2 m (+82 e +108 mV) em comparação com os valores obtidos para 4 m de profundidade (-0,11 e -0,98 mV). Nota-se uma relação inversa entre o Eh com o pH e a temperatura dos RA, sendo que à medida que o potencial redox aumenta, o pH e a temperatura diminuem.

O maciço de RSU se apresentou levemente ácido para a profundidade de 2 m (pH entre 5,4 e 5,9). Entretanto, para a profundidade de 4 m, o pH apresentou-se levemente alcalino variando de 7,2 a 7,8, o que pode indicar uma maior atividade anaeróbica. Wang et. al. (2017) apresentam valores de pH do solo de cobertura e do resíduo armazenado entre (7,8 e 7,9) e (7,8 a 8,6), respectivamente, indicando a ocorrência da fase metanogênica. Os valores de pH obtidos para esta profundidade se aproximam dos resultados relatados por Abreu (2014), que avaliou os RSU já aterrados do Aterro Metropolitano de Jardim Gramacho (AMJG) no Rio de Janeiro-RJ, com pH variando entre 7 e 10 em RSU para 5 metros de profundidade. Follmann (2017) analisou resíduos sólidos no aterro do município de Guarapuava (PR) com 2 anos e obteve valores de pH próximos à neutralidade (6,5 a 6,6), permitindo o desenvolvimento de bactérias metanogênicas e, conseqüentemente, boas condições ambientais para a geração de biogás.

Tabela 9 - Resultados de pH e Eh, dos RSU já aterrados (RA)

Amostras	pH	Eh (mV)	Temperatura (°C)
RA D2P2	5,80	+88	32,2
	5,84	+82	32,3
	5,88	+83	32,0
RA D2P4	7,20	-0,13	38,1
	7,22	-0,11	38,2
	7,25	-0,15	38,3
RA D20P2	5,35	+102	33,1
	5,36	+101	33,1
	5,42	+108	33,4
RA D20P4	7,77	-0,98	37,8
	7,80	-0,96	37,4
	7,82	-0,98	37,6

Para o caso das amostras D2P2 e D20P2 (2 metros de profundidade) o ambiente mais ácido indica que a fase de decomposição dos RA está no início, com características acidogênicas, o que concorda com Catapreta (2008), que relata que o pH pode variar com o tempo de degradação dos resíduos, sendo que na fase inicial do processo de degradação, o pH é normalmente mais baixo devido à produção de ácidos pelas bactérias hidrolíticas e fermentativas. Nakasaki (1993) relata que a microbiota aeróbica possuem uma maior capacidade de degradação dos resíduos orgânicos na

faixa de pH 7 a 8. De acordo Sundberg et al. (2013) a taxa de decomposição de resíduos orgânicos é lenta em condições de pH baixo, sendo que a faixa ideal para o processo de decomposição aeróbica inicial é de 6,5 a 7,5. No trabalho de Paes (2003) o autor afirma que o pH no processo na digestão anaeróbica deve estar situado na faixa de 6,3 a 7,8, faixa na qual observa-se uma maior eficiência da fase metanogênica.

4.3 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS QUANTITATIVOS PARA AERÓBICOS E ANAERÓBICOS DOS RA

Na Tabela 10 são apresentados os resultados quantitativos dos micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos através da técnica dependente de cultivo (Microbiologia tradicional). Apenas a faixa de diluição de 10^{-2} apresentou crescimento das colônias, permitindo a contagem.

De acordo com a Tabela 10, tanto para 2 m quanto para 4 m de profundidade ocorreu crescimento de micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos. Segundo Melo (2003), os micro-organismos presentes numa célula de lixo podem indicar a evolução do comportamento biodegradativo, isto é, o número/tipo de micro-organismos pode ser um indicador da fase em que um aterro se encontra.

Os resultados da Tabela 10 indicam um crescimento significativo de micro-organismos aeróbicos nos quatro pontos analisados (3×10^4 a 9×10^4 UFC/mL). Estes organismos são importantes no processo inicial de degradação biológica dos RSU já aterrados e também podem ajudar a revelar a fase decomposição. Além disso, estes se beneficiariam de uma eventual entrada de ar atmosférico pela camada de cobertura do maciço. No trabalho de Araújo (2010) também foi verificado o crescimento dos micro-organismos aeróbicos totais da ordem de 1×10^6 a 1×10^7 UFC/mL, podendo ser verificado um estágio inicial de degradação biológica dos RSU.

Na Tabela 10, pode-se observar que os pontos situados próximos ao dreno (D2P2 e D2P4) apresentaram maiores médias nos valores de UFC/mL de bactérias aeróbicas ($5,6 \times 10^4$ e 8×10^4 UFC/mL), que os pontos D20P2 e D20P4 ($4,3 \times 10^4$ e $3,6 \times 10^4$ UFC/mL), indicando que a alta sucção aplicada ao dreno provavelmente auxilia na entrada de ar atmosférico no maciço.

A profundidade não apresentou uma clara influência nos valores de UFC/mL das bactérias aeróbicas. Para o caso das bactérias anaeróbicas, não se consegue estabelecer uma correlação clara entre os valores obtidos e a posição de amostragem, indicando que o processo de amostragem ou possivelmente as condições ambientais no dia da coleta, pode ter afetado negativamente estes micro-organismos. De acordo com Clontz (2009), os micro-organismos têm necessidades básicas para realização do processo metabólico, estas incluem fonte de energia, nutrientes e fatores

ambientais para produção das estruturas celulares. Essas condições essenciais devem estar balanceadas em um meio enriquecido para que a incubação possibilite o metabolismo, crescimento e reprodução dos micro-organismos para que os mesmos possam ser detectados por métodos microbiológicos tradicionais.

Valores semelhantes aos obtidos neste trabalho foram apresentados por Monteiro et. al. (2006), onde os micro-organismos aeróbicos também foram preponderantes para as menores profundidades, ou seja, próximo da camada superficial.

Tabela 10 - Resultados de bactérias aeróbicas e anaeróbicas dos RA

Amostras	bactérias aeróbicas (UFC/mL)	bactérias anaeróbicas (UFC/mL)
RA D2P2	6×10^4	3×10^4
	5×10^4	3×10^4
	6×10^4	2×10^4
Média	$5,6 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$
RA D2P4	8×10^4	3×10^4
	9×10^4	3×10^4
	7×10^4	2×10^4
Média	8×10^4	$2,6 \times 10^4$
RA D20P2	4×10^4	2×10^4
	4×10^4	2×10^4
	5×10^4	2×10^4
Média	$4,3 \times 10^4$	2×10^4
RA D20P4	3×10^4	3×10^4
	4×10^4	3×10^4
	4×10^4	3×10^4
Média	$3,6 \times 10^4$	3×10^4

4.4 RESULTADOS DA METAGENÔMICA DOS RSU JÁ ATERRADOS (RA)

4.4.1 Análise Taxonômica Microbiana a Nível de Filo

Os resultados das análises metagenômicas revelaram 10 filos nas amostras dos RSU já aterrados do ASM, conforme a Tabela 11. Os principais filos de micro-organismos e as abundâncias relativas médias dos filos (Figura 34) nas quatro áreas analisadas (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4) foram: Firmicutes (41,3%), Chloroflexi (10,9%), Actinobacteria (9,6%), Proteobacteria (7,1%), Bacteroidetes (6,7%), Spirochaetes (1,6%), Synergistetes (1,5%), Cyanobacteria (1,0%), Planctomycetes (0,8%) e Euryarchaeota (16,8%). Segundo Guo et. al. (2015), tratam-se de micro-organismos relacionados com a decomposição biológica de materiais passíveis de degradação

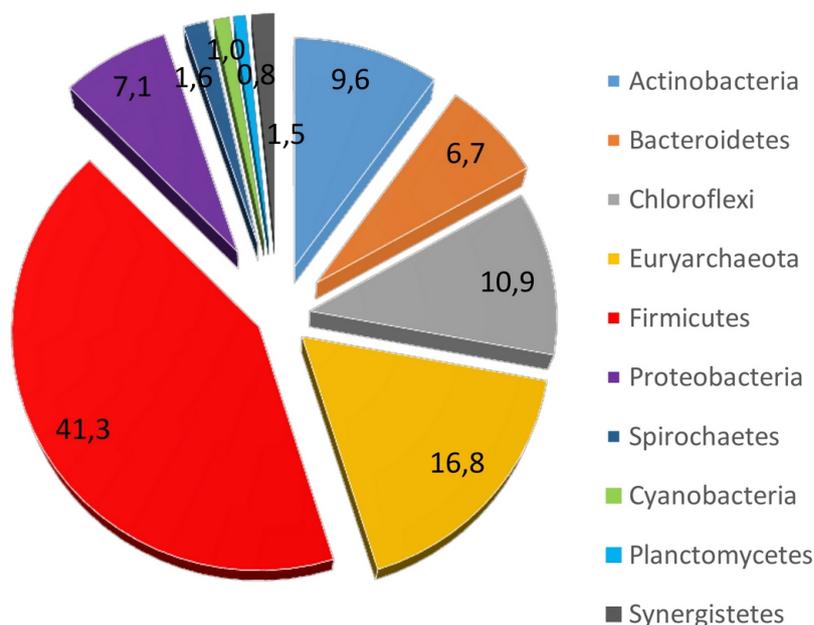
contidos nos resíduos, onde participam de forma sintrófica do processo de digestão anaeróbica, o qual ocorre em quatro estágios, a hidrólise, a acidogênese, a acetogênese e a metanogênese.

Tabela 11 - Características biológicas dos micro-organismos por filos

Classificação Biológica (domínio)	Classificação Biológica (filo)	Características biológicas
Bactéria	Firmicutes	Sintróficas que degradam os ácidos graxos voláteis, como o butirato, gram-positivas, formadoras de endósporos.
Bactéria	Chloroflexi	Bactérias verdes fotossintetizadoras, são fototróficas anoxigênicas e não sulfurosas
Bactéria	Actinobacteria	Bactérias filamentosas e gram-positivas
Bactéria	Proteobacteria	Bactérias gram-negativas envolvidas nas etapas iniciais de degradação. Degrada polissacarídeos
Bactéria	Bacteroidetes	Bactérias gram-negativas, proteolíticas, responsáveis pela degradação de proteínas e posterior fermentação de aminoácidos e acetato para metanogênicos acetoclásticos
Bactéria	Spirochaetes	Gram-negativas, móveis, em espiral, filamentos axiais que correm no sentido longitudinal, maioria anaeróbica, vivem em ambientes aquáticos e no solo
Bactéria	Synergistetes	São bastonetes não esporulados gram-negativos encontrados em ambientes anóxicos em sistemas terrestre e marinho. São anaeróbicas que degradam proteínas e fermentam aminoácidos
Bactéria	Cyanobacteria	São aquáticas, unicelulares, coloniais ou filamentosas fotossintéticas. Apresenta coloração azul e verde
Bactéria	Planctomycetes	Com divisão por gemulação, paredes celulares sem peptidoglicano e estrutura celular compartimentalizada, são abundantes em habitats terrestres e aquáticos, desempenhando um papel preponderante nos equilíbrios dos mesmos
Archaea	Euryarchaeota	Compreende uma grande diversidade. São os mais rígidos dos anaeróbicos, são halofílicas extremas e algumas espécies hipertermofílicas

Fonte: Madigan et. al. (2014)

Figura 34 - Abundância relativa (%) de OTUs por filos nos RSU do ASMC



O filo Firmicutes, conforme a Tabela 11, é composto por bactérias sintróficas que degradam os ácidos graxos voláteis, como o butirato. Estas são gram-positivas, formadoras de endósporos, sendo que esse grupo foi o que mais predominou, com abundâncias relativas variando de 23,1 a 49,6%, o que se aproxima dos resultados do trabalho de Li et al (2013), que estudou a estrutura microbiana responsável pela degradação de RSU e geração de biogás na China. Segundo os resultados do autor, os micro-organismos mais prevalentes no nível do filo são Firmicutes (39,0%), seguidos por Proteobacteria (17,3%) e Bacteroidetes (7,0%) que são responsáveis pela degradação da biomassa e fermentação. O táxon mais abundante envolvido na síntese de metano foi o Euryarchaeota (4,3%), porém, se comparado com as áreas analisadas do ASMC o valor de Euryarchaeota foi bem superior, variando de 9,7% a 26,0%. A presença desse grupo no ASMC favorece a síntese de metano através da via metanogênica no processo da digestão anaeróbica.

Nos estudos de Guo et. al. (2015), as populações bacterianas mais abundantes foram Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria, representando 41,2%, 12,5%, 9,6% e 5,2% de todas as leituras de bactérias analisadas em um reator anaeróbico na China, respectivamente. Os resultados desse autor difere dos encontrados nas amostras de RA do ASMC (Tabela 11), sendo que os filos, Proteobacteria foi abaixo com 7,1%, Firmicutes foi superior com 41,3%, Bacteroidetes foi inferior com 6,7% e Actinobacteria foi superior com 9,6% de ocorrência.

Os resultados biológicos, conforme a Tabela 11, apresentaram uma abundância relativa de 4,8 a 15,9% para o filo Actinobacteria. Esse grupo compreende micro-organismos com um papel importante na decomposição da matéria orgânica e no ciclo do carbono. Nas pesquisas de Zainun

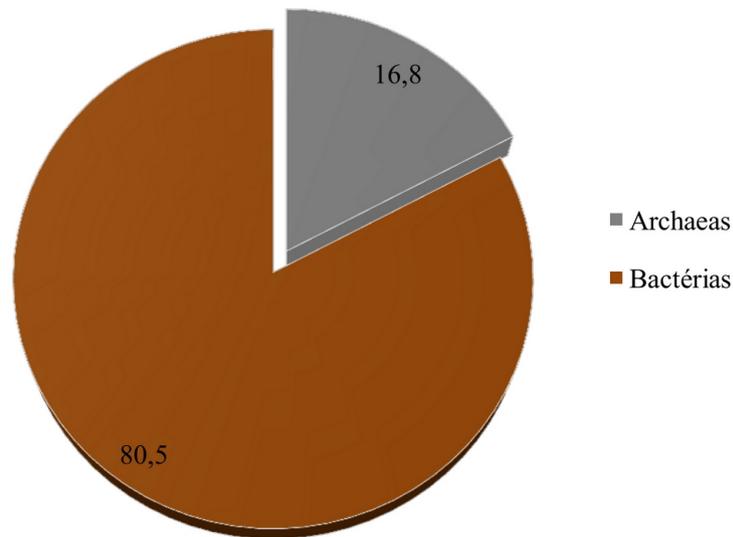
(2018), o táxon Actinobacteria se tornou dominante em aterros já encerrados, mas apenas uma pequena fração da população bacteriana foi descoberta em aterros ativos. Além disso, em aterros já encerrados, o filo Actinobacteria ocupou entre 6,0 e 15,0% da composição bacteriana total. Quanto ao aterro ativo, os resultados mostraram valores inferiores à 2,0% para o referido filo.

De acordo Bareither et. al. (2013), bactérias associadas aos filios Bacteroidetes e Firmicutes constituíram mais de 70% das sequências obtidas de chorume em reatores anaeróbicos. Ainda conforme os autores, os filios Bacteroidetes e Firmicutes são comuns em ambientes anaeróbicos (por exemplo, digestor anaeróbico e rúmen animal), onde fermentam polissacarídeos complexos, como celulose e amido. O táxon Bacteroidetes também é comumente encontrado em lixiviados de biorreatores e RSU. Neste trabalho, os filios Firmicutes e Bacteroidetes (Figura 42) também foram encontrados, embora numa abundância relativa inferior à dos autores (em média 41,3 e 6,7% respectivamente para os dois táxons). Conforme se observa na Tabela 11, para a profundidade de 4 m (D2P4 e D20P4), o filo Bacteroidetes ocorreu numa maior abundância relativa, 8,1 e 7,7% respectivamente, relativamente às amostras retiradas a 2 m de profundidade (D2P2 e D20P2).

O filo Euryarchaeota é formado de organismos anaeróbicos, encontrados de forma abundante mesmo com o ambiente propício para aerobiose, como no caso das amostras de RSU aterradas próximas ao dreno DG266 e em baixas profundidades. Esse grupo compreende uma grande diversidade de organismos, incluídas as espécies metanogênicas responsáveis pela síntese de metano nas células de RSU do aterro. São os mais resistentes dos anaeróbicos, são halofílicas extremas e algumas espécies hipertermofílicas.

Em seu estudo sobre aterros sanitários, Guo et. al. (2015) reportou que a análise metagenômica taxonômica indicou que as bactérias em geral eram dominantes (~ 93%), com uma abundância relativa considerável de Archaea (~ 6%). Os resultados obtidos neste trabalho (Figura 35), indicaram um valor de abundância relativa bem superior para Archaea (16,8%) embora as bactérias sejam ainda as mais abundantes (80,5%).

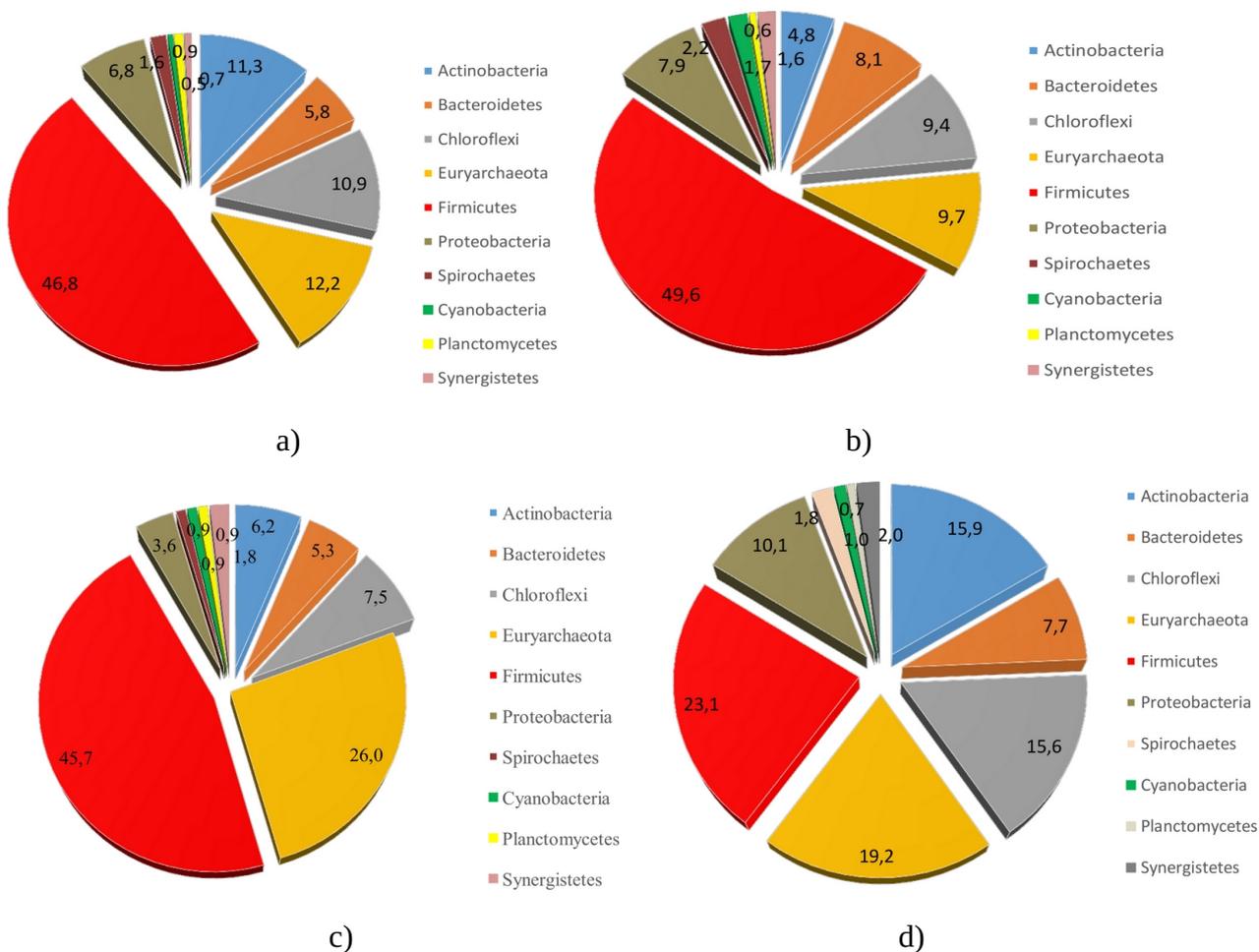
Figura 35 - Abundância relativa (%) de arqueas e bactérias



Conforme se observa na Figura 34, foram identificados 10 filos, sendo 1 de archaea e 9 de bactérias. Estes resultados se apresentam diferentes dos obtidos nas pesquisas de Wang et. al. (2017) que utilizaram em seus estudos o método de sequenciamento de alto rendimento MiSeq para examinar a diversidade microbiana do solo de cobertura e dos RSU aterrados e localizados em diferentes profundidades (0-150 cm) na cidade de Yangzhou, leste da China. Segundo os autores, os resultados encontrados no aterro apresentaram no total, 14 filos. Uma análise de diversidade microbiana mostrou que Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes foram os filos dominantes.

Na Figura 36 (Figuras 36a a 36d), os resultados demonstram que o filo Firmicutes foi sensível à localização de amostragem, apresentando maiores abundâncias para baixa profundidade (2 metros) e locais próximos ao dreno: As amostras D2P2 apresentaram a maior abundância relativa (46,8%), enquanto na área D20P4 o resultado foi o menor de todos (23,1%). Nos estudos de Wang et. al. (2017), o filo Firmicutes foi o mais dominante nos aterros sanitários avaliados. De acordo com os autores, este grupo é formado de bactérias degradadoras de celulose e acredita-se que estas desempenham um papel importante nas fases anaeróbica e metanogênica da decomposição de lixo em aterros sanitários, pois atuam na degradação da matéria orgânica e no ciclo do carbono.

Figura 36 - Abundâncias (%) dos filos nas áreas. a) D2P2; b) D2P4; c) D20P2 e d) D20P4



A abundância relativa obtida para o filo Firmicutes se aproxima dos resultados do trabalho de Kochiling (2015), que analisou as comunidades microbianas no lixiviado produzido por três células de RSU de diferentes idades do aterro sanitário de Candeias na região metropolitana de Recife-Pe. Usando a metagenômica de pirosequenciamento e alta produtividade do gene 16S rRNA, os autores descreveram a estrutura das comunidades. A distribuição das unidades operacionais taxonômicas (OTUs) foi altamente distorcida, sugerindo uma estrutura comunitária com poucos membros dominantes que são fundamentais para o processo de degradação. Os membros do filo Firmicutes foram dominantes em todas as amostras, representando até 62% das sequências bacterianas, e sua proporção aumentou com o aumento da idade do aterro.

Ainda de acordo com Kochiling (2015), outros filos abundantes incluíam Bacteroidetes, Proteobacteria e Spirochaetes, que junto com Firmicutes compreendiam 90% das sequências. Os dados ilustram uma comunidade microbiana que degrada a matéria orgânica no lixiviado bruto nos estágios iniciais, o que se aproxima dos resultados (Tabela 11) das amostras de RA encontrada nas

quatro áreas no entorno do DG 266 do ASMC, onde a abundância relativa média foi de 97,3% para os micro-organismos Firmicutes, Chloroflexi, Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Synergistetes, Spirochaetes, Cyanobacteria, Planctomycetes e Euryarchaeota. É de se observar que nas amostras do ASMC não foi encontrado o filo Tenericutes identificado pelos autores, no entanto, foram identificados outros filos distintos como: Chloroflexi, Actinobacteria, Synergistetes e Euryarchaeota, sendo este último responsável pela fase metanogênica. Os grupos microbianos encontrados no ASMC se encaixam bem nas vias clássicas dos processos de digestão anaeróbica.

4.4.2 Análise Taxonômica Microbiana a Nível de Gênero

De acordo as Figuras 37 a 40, a maioria dos gêneros encontrados são anaeróbicos e as abundâncias relativas variaram de 0,1 a 11,7% nas quatro áreas estudadas (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4). Já os micro-organismos aeróbicos apresentaram abundâncias relativas menores nas áreas (0,1 a 4,0%). Comparando-se os resultados obtidos com o uso da metagenômica e das técnicas de cultivo tradicionais, pode-se observar no primeiro caso um predomínio dos micro-organismos anaeróbicos, ao contrário dos resultados apresentados na Tabela 10, o que leva a supor que o processo de amostragem, apesar de todos os cuidados relatados para o caso das amostras que seriam testadas para organismos anaeróbicos, buscando-se evitar o contato com o oxigênio, impactou no desenvolvimento destes micro-organismos. A diferença observada entre as duas técnicas se deve também a limitação das técnicas tradicionais de cultivo, pois Segundo Lacerda Junior (2017), aproximadamente 99% dos micro-organismos não podem ser isolados de seus habitats naturais como, o solo, a água ou ar, bem como em meios de cultivos em laboratório. Esta restrição não ocorre com a metagenômica, pois trata-se de uma ferramenta independente de cultivo que extrai o DNA direto do ambiente e assim acessa uma maior composição e diversidade microbiana.

Os resultados da análise metagenômica dos RSU já aterrados do ASMC apresentados nas Figuras 37 a 40 representam os táxons de maior abundâncias relativas, identificados em 28 gêneros, sendo 10 de archaeas e 18 de bactérias. A abundância das archaeas foram superiores aos resultados das pesquisas de Wang et. al. (2017), que na sua análise de diversidade microbiana identificou apenas 18 gêneros, sendo que *Halanaerobium*, *Methylohalobius*, *Syntrophomonas*, *Fastidiosipila* e *Spirochaeta* foram os mais dominantes. Os gêneros *Methylohalobius* foi mais abundante nas camadas de cobertura do solo do que nos resíduos armazenados, enquanto *Syntrophomonas* e *Fastidiosipila*, que afetam a produção de metano, foram mais abundantes nas camadas intermediárias e inferiores (90-150 cm) nos resíduos armazenados.

Segundo as pesquisas de Li et. al. (2013), os gêneros de bactérias mais prevalentes encontradas nos estudos foram *Clostridium* e *Aminobacterium* com abundâncias relativas de 7,4% e 5,2% respectivamente. O táxon *Clostridium* produz uma ampla variedade de enzimas extracelulares para degradar grandes moléculas como celulose, xilanas, proteínas e lipídios, participando da fase acetogênica, precursora da via metanogênica, responsável pela produção de metano. Nas áreas analisadas do ASMC também ocorreram o gênero *Clostridium* (Figuras 37 a 40) no entanto, nas áreas D2P4 e D20P4, de maior profundidade (Figuras 38 e 40), a bactéria anaeróbica *Clostridium* ocorreu numa menor abundância relativa (1,8 a 3,7%).

Figura 37 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D2P2

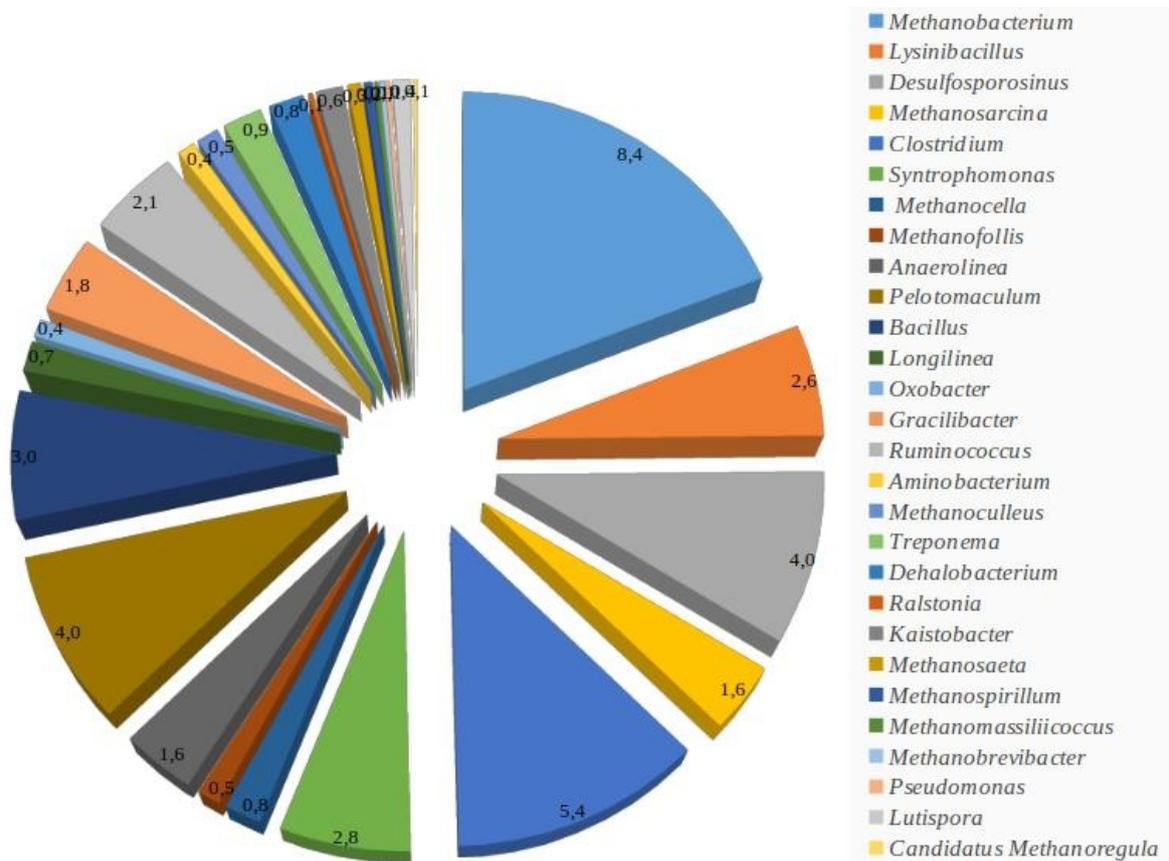


Figura 38 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D2P4

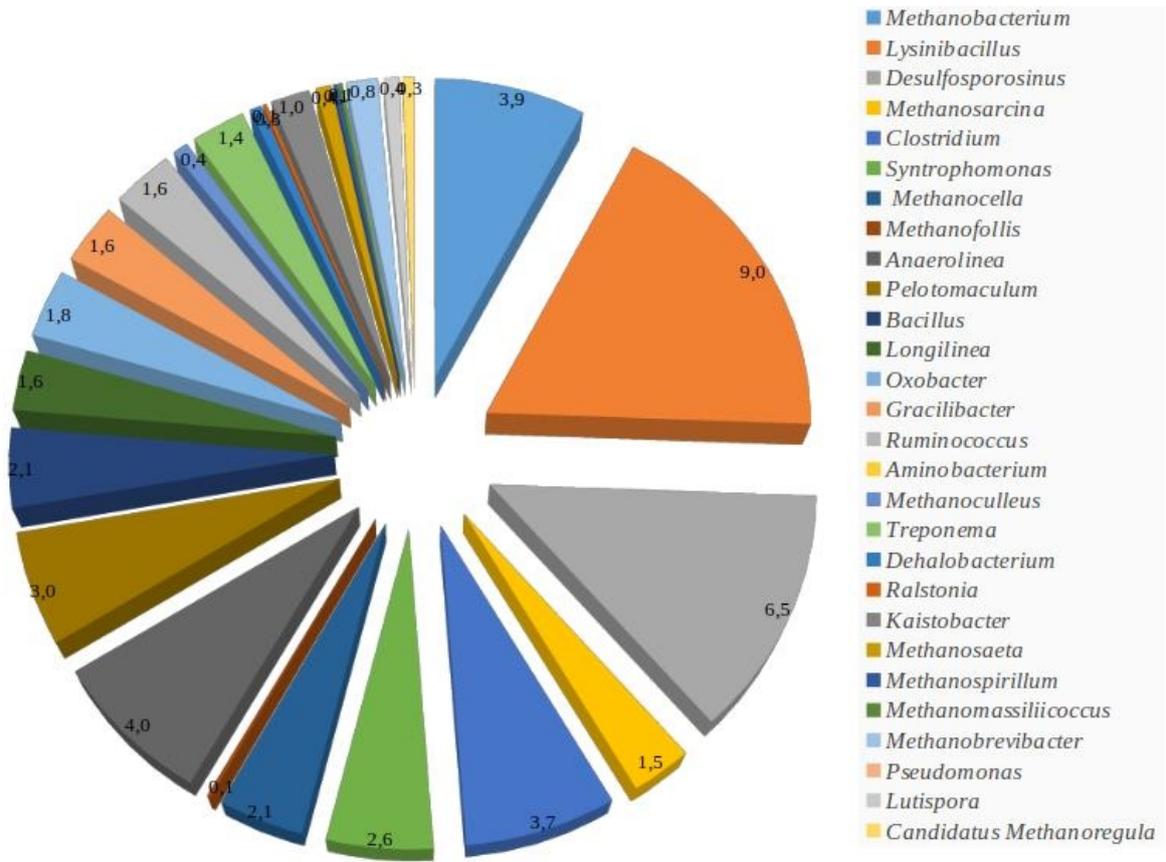


Figura 39 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D20P2

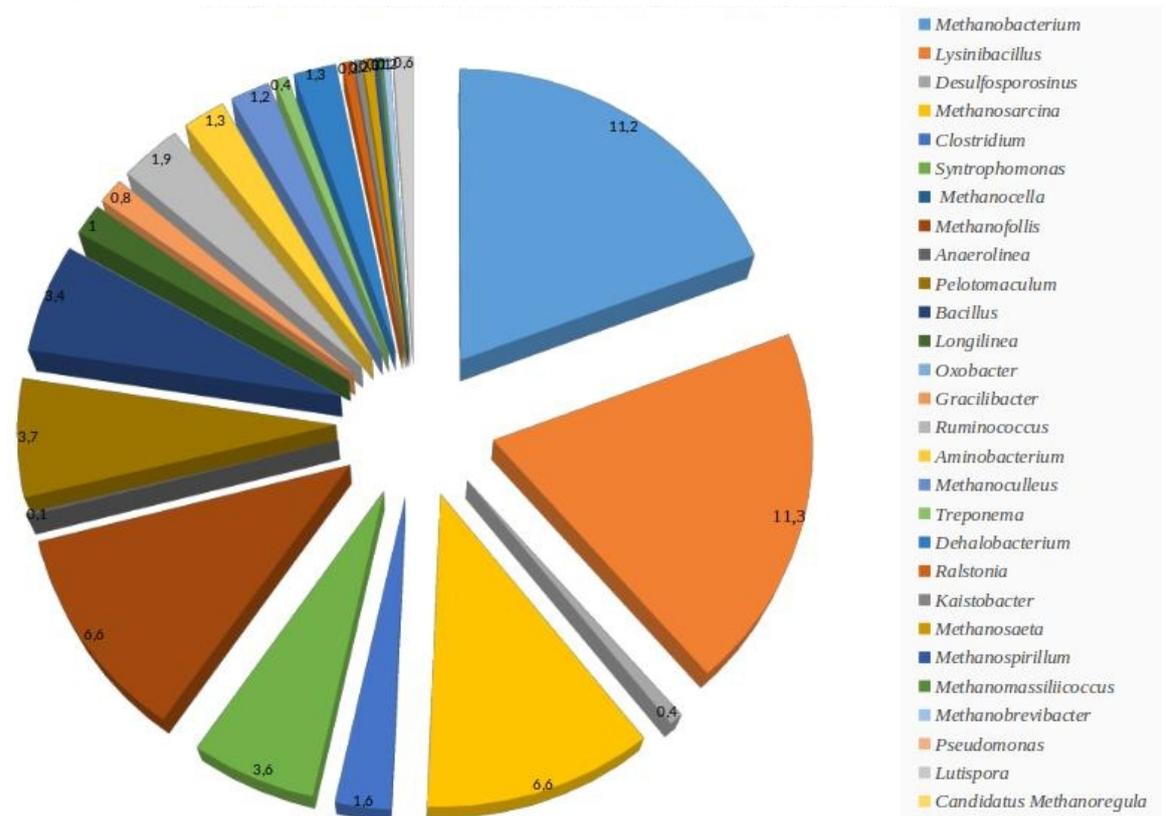
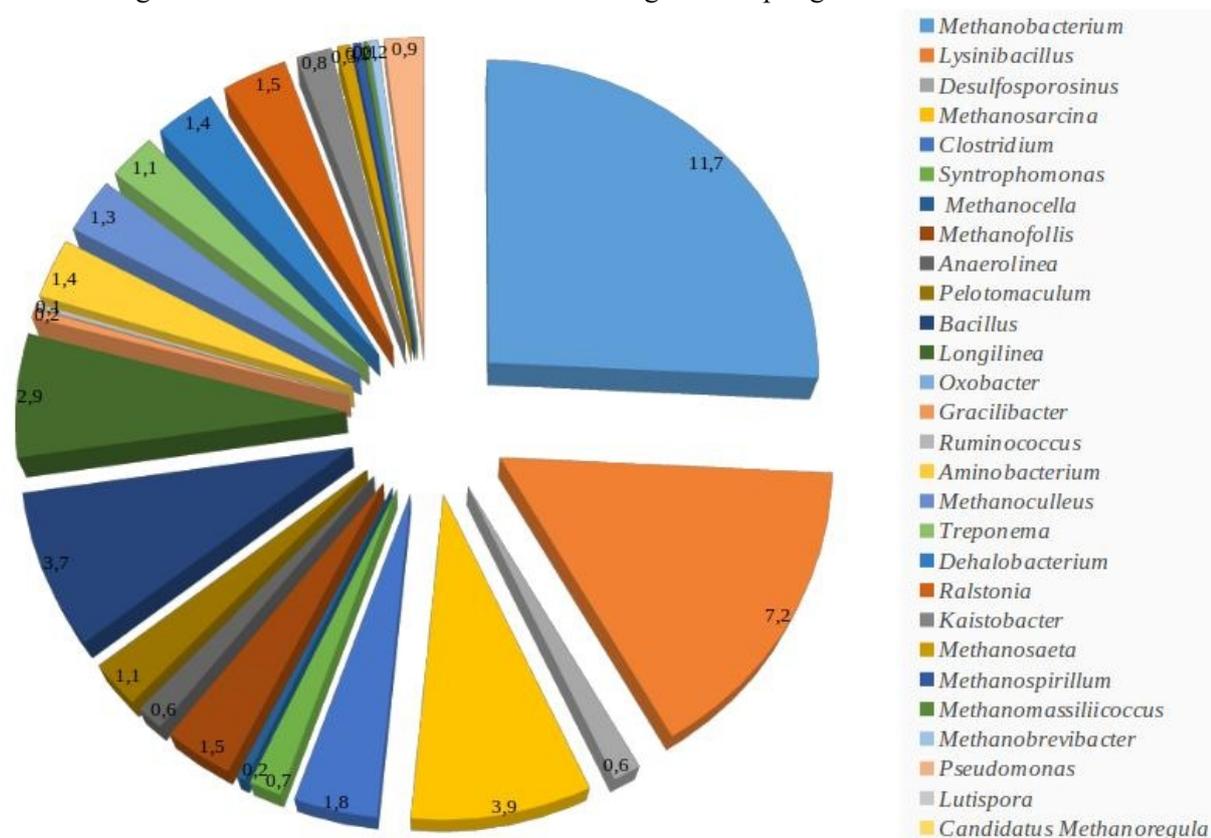


Figura 40 - Abundância relativa dos micro-organismos por gênero nos RSU da área D20P4



É interessante notar que na área D2P2, de menor profundidade e localizada mais próxima ao dreno, o gênero anaeróbico *Clostridium* ocorreu numa maior abundância relativa (5,4%) mesmo sendo esta área a mais propícia para a ocorrência de condições aeróbicas. De acordo com Madigan et. al. (2014), alguns anaeróbicos obrigatórios, a exemplo de *Clostridium*, embora exijam condições anóxicas, podem tolerar traços de O_2 , o contrário do que ocorre com outros metanogênicos, que são mortos pela exposição ao O_2 .

Capson-Tojo et. al. (2017) relatam que *Clostridium* é um grupo de bactérias muito abundante e importante na digestão anaeróbica em resíduos de alimentos e papelão, estes materiais também continha na composição gravimétrica dos RN e RA dispostos no ASMC (Tabelas 5 e 6) e o referido gênero foi abundante nos pontos próximos do dreno de biogás DG 266 participando na fase inicial da digestão anaeróbica. Segundo Koo et al., (2019), o gênero *Clostridium* contém mais de 100 espécies, que possuem uma variedade de habilidades metabólicas e utiliza diversos carboidratos e aminoácidos para produzir vários ácidos orgânicos usados na digestão anaeróbica.

Segundo os estudos de Wang et. al. (2017), os gêneros microbianos dominantes no aterro municipal são *Halanaerobium*, *Lactococcus*, *Halocella*, *Methylohalobius*, *Truepera*, *Ignatzschineria*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Syntrophomonas*, *Fastidiosipila*, *Spirochaeta* e *Halanaerobium*. Estes são na maioria bactérias anaeróbicas que produzem hidrogênio. Nos resultados das amostras do ASMC

também foi encontrado a bactéria aeróbica *Bacillus*, sendo que este ocorreu numa abundância relativa de 3,0% na área D2P2, de maior tendência para a ocorrência de ambiente aeróbico (Figura 37). O gênero aeróbico *Pseudomonas* ocorreu numa menor abundância relativa (0,9%) na maior profundidade (D20P4), conforme a Figura 40, o que provavelmente é explicado devido o ambiente ser mais propício para a condição anaeróbica, o que pode ter sido uma condição inibidora.

Ainda de acordo Wang et. al. (2017), o gênero aeróbico *Pseudomonas* tem sido amplamente detectado em aterros e outros ambientes contaminados. O táxon *Pseudomonas* é constituído de bactérias bem conhecidas de degradação de poluentes que utilizam uma ampla gama de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos como sua única fonte de carbono e têm papéis na degradação de matéria orgânica e desnitrificação. O grupo *Bacillus* é frequentemente encontrado em aterros onde degradam a celulose e oxidam hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Li et. al. (2018) também encontraram o gênero *Pseudomonas* com abundância relativa de 2,01 a 2,47% e o táxon *Clostridium* com 0,49 a 2,11%. De acordo com estes autores estes micro-organismos provavelmente degradam compostos orgânicos macromoleculares, como proteínas e lipídios.

Nas Figuras 37 a 40, o táxon *Aminobacterium* apresentou-se com a abundância relativa de 0,4 a 1,4% nas quatro áreas estudadas (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4). Este gênero é constituído por bactérias anaeróbicas sintróficas, capazes de degradação de aminoácidos, o que concorda com Li et. al. (2013), que afirma que o táxon *Aminobacterium* são bactérias capazes de degradação anaeróbica de aminoácidos, particularmente sem sacarídeos, consistentemente identificadas em ambiente anaeróbico, como lodo e composto orgânico.

Conforme, os resultados das Figuras 37 a 40, os 10 gêneros de archaeas identificados através da metagenômica foram *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanocella*, *Methanofollis*, *Methanoculleus*, *Methanosaeta*, *Methanospirillum*, *Methanomassiliicoccus*, *Methanobrevibacter* e *Candidatus Methanoregula*, sendo que o gênero mais abundante nas quatro áreas analisadas foram *Methanobacterium* e *Methanosarcina*, com abundância relativa média de 8,8% e 3,4% respectivamente. O gênero *Methanosarcina* também ocorreu nas pesquisas de Guo et. al. (2015). Neste trabalho, os gêneros *Methanosaeta* e *Methanosarcina* foram os mais dominantes, sugerindo a prevalência da metanogênese acetoclástica. Ainda de acordo estes autores, os consórcios de micro-organismos (hidrolisadores, fermentadores, acetogênicos e metanogênicos) possivelmente trabalham em uma reação por etapas.

4.4.3 Diversidade Microbiana relacionada a Variáveis Independentes

A Tabela 12 apresenta os resultados do tratamento estatístico inicial. São apresentadas as

abundâncias relativas e os tipos microbianos presentes na área de estudo e os resultados das correlações com as variáveis independentes. São apresentados os resultados obtidos em termos da diversidade de gêneros de micro-organismos encontrados nas amostras de RA. Os resultados apresentados correspondem a mais de 70% de todos os micro-organismos detectados nas análises (outros micro-organismos estavam presentes, mas apresentavam baixos valores de abundância). Como pode ser observado, os anaeróbicos foram os táxons mais abundantes (bactérias e archaeas), onde sua abundância relativa total variou de 37,1 a 50,6% nos quatro pontos (D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4) demonstrando uma diversidade de micro-organismos presentes atuando no processo de decomposição dos RSU do ASMC. De acordo Staley et. al. (2007), a população microbiana inicial presente nos RSU disposto em aterro sanitário apresenta notável papel na seleção de espécies dominantes, tanto durante o processo inicial de decomposição, quanto no resíduo decomposto.

Segundo os resultados, os micro-organismos aeróbicos (A) estão fortemente correlacionados (correlações superiores a 0,7.) com a temperatura, Eh e profundidade e os anaeróbicos facultativos (ANF) com o Eh e a distância. No entanto, os micro-organismos anaeróbicos (AN) não apresentaram fortes coeficientes de correlação com nenhuma das variáveis independentes. Uma análise mais detalhada deste grupo permitiu observar a presença de subgrupos (AN1 a AN4) com comportamento diferenciado, dificultando a realização de uma análise considerando os organismos anaeróbicos de forma integral.

Tabela 12 - Correlação dos micro-organismos relacionados com as variáveis independentes

Tipos presentes nas áreas	Abundâncias (%)	Corr. pH	Corr. T (°C)	Corr. Eh	Corr. Dist.	Corr. Prof.
A em D2P2	7,7					
A em D2P4	6,2	-0,69	-0,88	0,94	0,34	-0,84
A em D20P2	7,6					
A em D20P4	7,1					
ANF em D2P2	3,0					
ANF em D2P4	2,1	-0,07	-0,29	0,89	0,83	-0,25
ANF em D20P2	3,4					
ANF em D20P4	3,7					
AN em D2P2	37,1					
AN em D2P4	46,2	-0,35	0,03	-0,12	0,27	-0,13
AN em D20P2	50,6					
AN em D20P4	38,7					

Nas Tabelas 13 e 14 os micro-organismos anaeróbicos foram subagrupados de acordo com seu comportamento em relação ao pH, T, Eh, distância do dreno e profundidade. O subgrupo anaeróbico foi mais abundante (AN1), apresentou seus maiores valores em amostras localizadas a

20 m de distância do DG-266 (amostras de D20P2 e D20P4); portanto, menos sujeitos à entrada de O₂ na célula de RSU através da camada de cobertura. Os subgrupos AN2 a AN4 apresentaram resposta oposta. Os aeróbicos e anaeróbicos facultativos apresentaram abundâncias relativas totais variando de 6,2 a 7,7% e 2,1 a 3,7% (Tabela 12), respectivamente. Os anaeróbicos facultativos apresentaram abundâncias relativas semelhantes, independentemente do ponto de amostragem.

O gênero *Methanobacterium* ocorreu com 11,7% de abundância relativa, conforme a Tabela 13. Klocke et. al. (2008), encontraram o mesmo gênero em um reator anaeróbico, onde apresentou valor semelhante, ou seja, 12% dos micro-organismos da comunidade metanogênica do estudo.

Tabela 13 - Grupos microbianos anaeróbicos relacionados com as variáveis independentes

Táxon	Características biológicas	Amostra	Abundância			Eh (mV)	Dist. (m)	Prof. (m)	Grupo
			a (%)	pH	T (°C)				
<i>Methanobacterium</i>	Archaea anaeróbica, crescimento de 37-45 °C para espécies mesofílicas ¹	D2P2	8.4	5.8	32.2	+84	2	2	AN1
		D2P4	3.9	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	11.2	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	11.7	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Methanosarcina</i>	Archaea anaeróbica, estritamente acetotrófico e metanogênicos ¹	D2P2	1.6	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	1.5	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	6.6	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	3.9	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Methanofollis</i>	São anaeróbicas, mesofílicas e crescem entre as temperaturas de 20 a 45 °C ²	D2P2	0.5	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	0.1	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	6.6	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	2.9	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Methanoculleus</i>	São anaeróbicas e termofílicas ³	D2P2	0.5	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	0.4	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	1.2	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	1.3	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Desulfosporosinus</i>	São anaeróbicas e redutoras de sulfato ¹	D2P2	4.0	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	6.5	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.4	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.6	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Methanocella</i>	São anaeróbicas e mesófilas ¹	D2P2	0.8	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	2.1	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.0	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.2	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Anaerolinea</i>	São anaeróbicas e termofílicas ¹	D2P2	1.6	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	4.0	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.1	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.6	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Oxobacter</i>	Bactéria anaeróbica Gram-positivas ⁴	D2P2	0.4	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	1.8	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.0	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.0	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Syntrophomonas</i>	São anaeróbicas degradadoras de lipídios saturados e insaturados ¹	D2P2	2.8	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	2.6	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	3.6	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.7	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Ruminococcus</i>	Anaeróbicas e gram-positivas ¹	D2P2	2.1	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	1.6	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	1.9	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.1	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Lutispora</i>	São anaeróbicas e moderadamente termofílicas ⁴	D2P2	0.4	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	0.4	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.6	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.0	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Clostridium</i>	São gram-positivas e anaeróbicas ¹	D2P2	5.4	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	3.7	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	1.6	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	1.8	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Gracilibacter</i>	Bactéria anaeróbica termotolerante ⁴	D2P2	1.8	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	1.6	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.8	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.2	7.8	37.6	-0,97	20	4	

Fonte: 1. Madigan et. al. (2014); 2. Wang et. al. (2019); 3. Klocke et. al. (2008); 4. Shiratori et. al. (2008)

Tabela 14 - Grupos microbianos A e ANF relacionados com as variáveis independentes

Táxon	Características biológicas	Amostra	Abundancia		T	Eh	Dist.	Prof.	Grupo
			(%)	pH	(°C)	(mV)	(m)	(m)	
<i>Pelotomaculum</i>	Bactéria aeróbica gram-negativa que degrada vários álcoois; alguns compostos aromáticos ¹	D2P2	4.0	5.8	32.2	+84	2	2	A
		D2P4	3.0	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	3.7	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	1.1	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Ralstonia</i>	Bactéria aeróbica gram-negativa ¹	D2P2	0.1	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	0.1	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.3	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	1.5	7.8	37.6	-0,97	20	4	
<i>Kaistobacter</i>	São bactérias aeróbicas gram-negativas ²	D2P2	0.6	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	1.0	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	0.2	5.4	33.2	+103	20	2	
		D20P4	0.8	7.8	37.6	-0,97	20	4	
		D2P2	3.0	5.8	32.2	+84	2	2	
		D2P4	2.1	7.2	38.2	-0,12	2	4	
		D20P2	3.4	5.4	33.2	+103	20	2	
<i>Bacillus</i>	Participa da hidrólise e acidogênese ²	D20P4	3.7	7.8	37.6	-0,97	20	4	

Fonte: 1. Madigan et. al. (2014); 2. Tortora et. al. (2012)

A Tabela 15 traz os resultados obtidos quando os organismos anaeróbicos são divididos em grupos com comportamento similar (AN1 a AN4). Para o caso dos grupos aeróbicos (A) e anaeróbicos facultativos (ANF) não foi necessária a separação em subgrupos.

Tabela 15 - Correlação dos grupos microbianos com as variáveis ambientais

Grupo	pH	T (°C)	Eh (mV)	Dist. (m)	Prof. (m)
AN1	-0.30	-0.31	0.82	0.93	-0.36
AN2	0.25	0.39	-0.93	-0.87	0.38
AN3	-0.87	-0.66	0.03	-0.37	-0.74
AN4	-0.22	-0.28	-0.41	-0.96	-0.22
A	-0.69	-0.88	0.94	0.34	-0.84
ANF	-0.07	-0.29	0.89	0.83	-0.25

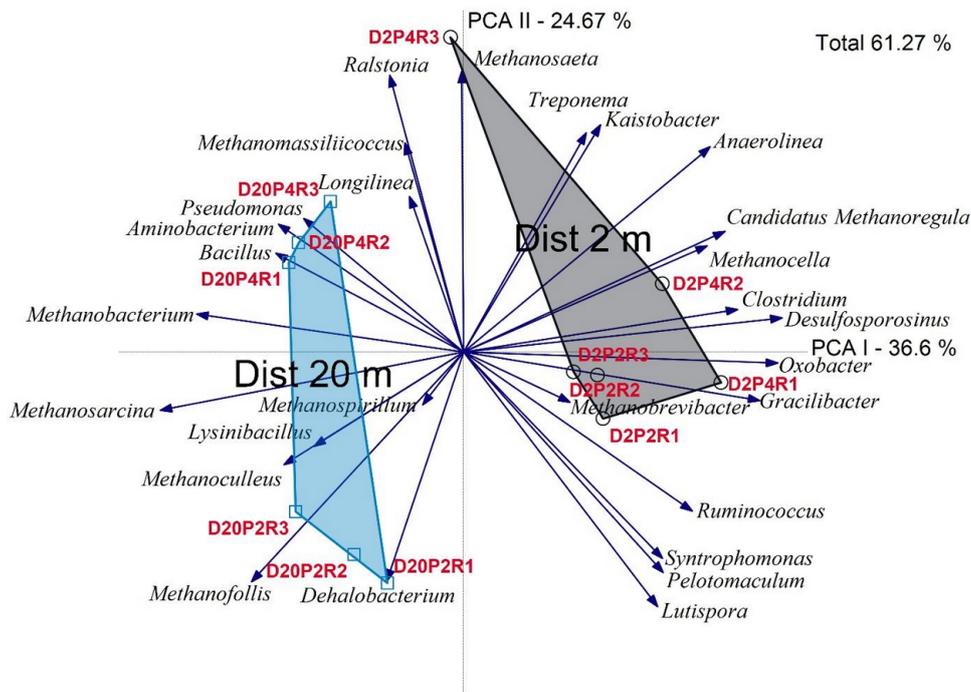
Na Tabela 15 são destacados os maiores coeficientes de correlação obtidos para cada grupo/subgrupo em relação as variáveis independentes. Pode-se observar agora a ocorrência de elevados valores de correlação, indicando a diversidade dos grupos anaeróbicos detectados. Considerando-se o conjunto dos dados apresentados, a variável de maior influência nos valores obtidos é a distância ao dreno de gás, seguida da variável Eh.

Na área D20P2, de menor profundidade e mais distante ao dreno, o gênero, *Methanosarcina* ocorreu com maior abundância relativa (6,6%). Tratam-se de arqueas estritamente acetotróficas, onde o pH e o Eh foram 5,4 e +103 mV, respectivamente (Tabela 13). Fetzner e Conrad (1993),

estudaram em escala laboratorial a relação do potencial redox e a geração de CH_4 com a espécie *Methanosarcina barkeri* e obteve um Eh (+ 100 mV) próximo ao obtido na amostra D20P2. Ainda de acordo os autores, o Eh apresentado não teve efeito inibidor nas taxas de produção de CH_4 .

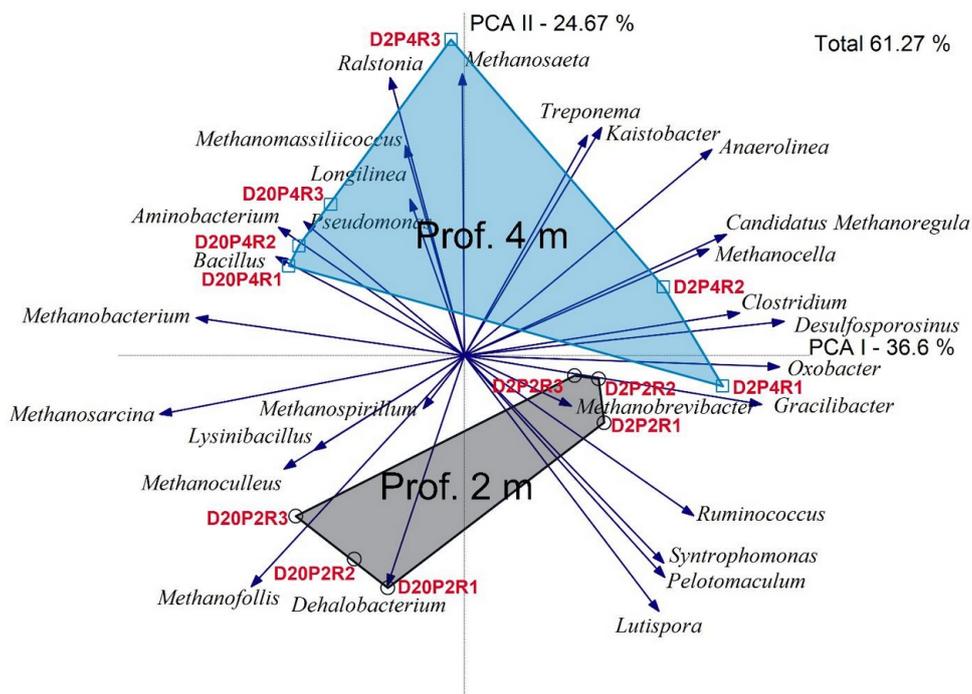
A Figura 41 apresenta os resultados obtidos das análises de PCA realizadas com os gêneros microbianos identificados e com as variáveis das áreas de estudo, separando-se as amostras conforme a sua distância. Conforme se observa na Figura 41, o PCA com distância Hellinger evidencia a diferença entre as amostras com diferentes distâncias do dreno de gás DG 266 (R1, R2 e R3 foram as repetições dos testes realizados). Esse foi o maior padrão nos dados. A diferença na composição relativa da assembleia microbiana entre as distâncias foi significativa ($p = 0,0001$).

Figura 41 - PCA da distância Hellinger relacionando com diferentes distâncias



Já na Figura 42, o PCA com distância Hellinger evidencia a diferença entre amostras com profundidades diferentes, esse foi o segundo maior padrão nos dados. A diferença na composição relativa da assembleia microbiana entre as profundidades foi significativa ($p = 0.0025$). No entanto, verifica-se que a interação entre o efeito da distância e profundidade não foi significativa ($p = 0.0537$). Em Wang et. al. (2017) a diversidade e estrutura microbiana também foram influenciadas pela profundidade do RSU no aterro e outras propriedades físico-químicas (condutividade elétrica, umidade e matéria orgânica).

Figura 42 - PCA da distância Hellinger relacionando com diferentes profundidades



As Figuras 43 e 44, apresentam os mesmos resultados já apresentados nas Figuras 41 e 42 com a superposição das variáveis ambientais de pH e temperatura. Percebe-se que as variáveis pH e temperatura não são relacionadas às distâncias. No entanto, estas variáveis são relacionadas à profundidade com valores maiores de ambos para locais mais profundos.

De acordo a análise de PCA das Figuras 43 e 44, os gêneros microbianos *Clostridium*, *Oxobacter*, *Desulfosporosinus*, *Gracilibacter*, *Methanobacterium* e *Methanosarcina* não tinham associações claras com os fatores ambientais temperatura e pH, sendo que esses dois últimos gêneros estavam associadas aos pontos mais distantes do dreno. Observa-se contudo, que as archaeas *Methanocella*, *Methanosaeta* e *Candidatus Methanoregula*, apresentam associação com estas variáveis, o mesmo acontecendo para as bactérias anaeróbicas dos gêneros *Treponema* e *Anaerolinea* e para aeróbica o genero *Kaistobacter*.

Valores menores de temperatura e pH foram encontrados para a profundidade de 2 metros e se mostraram associados às archaeas *Methanospirillum*, *Methanosarcina*, *Methanoculleus*, *Methanobrevibacter* e *Methanofollis* e aos gêneros de bactérias *Ruminococcus*, *Lutisporae*, *Syntrophomonas* e a bactéria aeróbica, *Pelotomaculum*. Os gêneros *Clostridium*, *Oxobacter* e *Desulfosporosinus* não apresentaram associações claras com os fatores temperatura e pH.

Figura 43 - PCA e a superposição das variáveis ambientais em diferentes distâncias

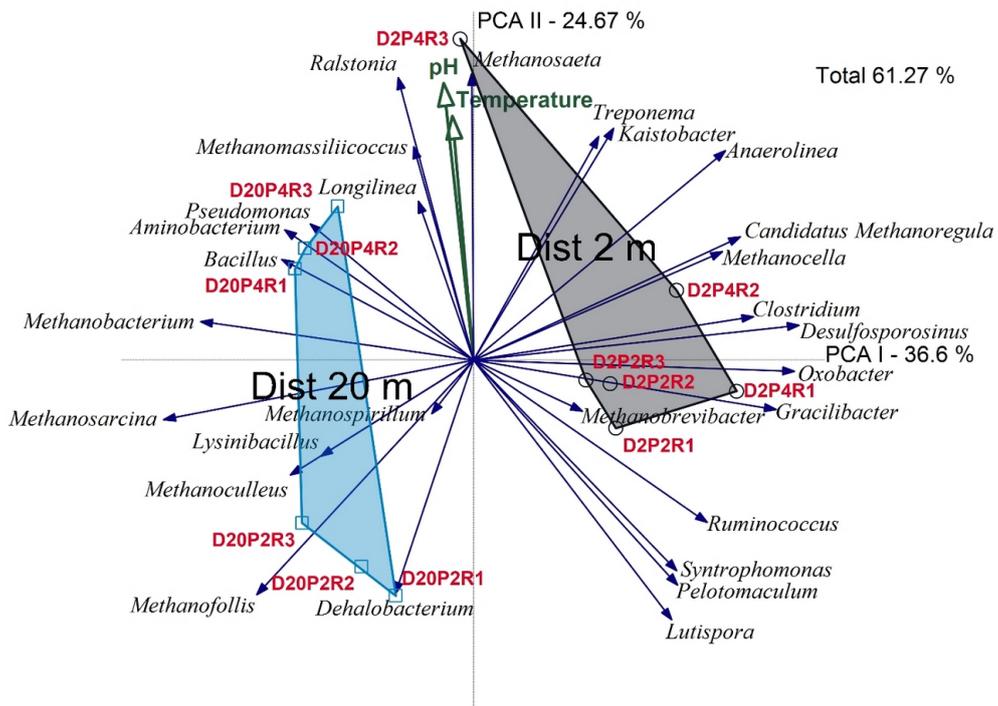
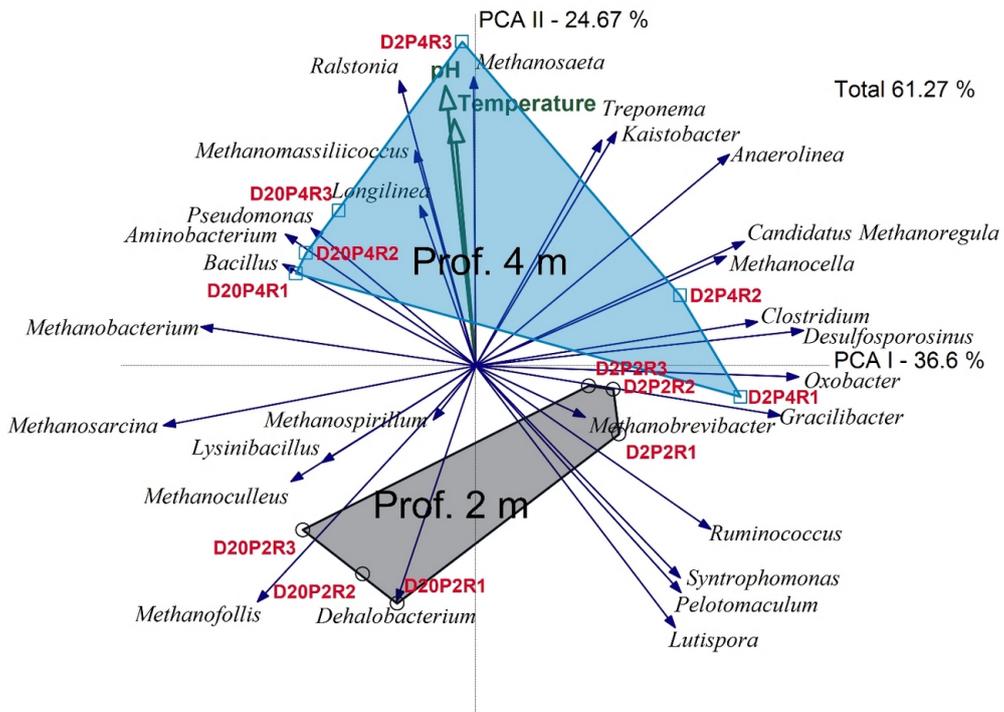


Figura 44 - PCA e a superposição das variáveis ambientais em diferentes profundidades



4.4.4 Composição Microbiana relacionada com as Fases/tipo de Decomposição Anaeróbica

Os gêneros de archaeas mais abundantes identificados através da metagenômica foram: *Methanobacterium* (3,9 a 11,7%), *Methanosarcina* (1,5 a 6,6%), *Methanofollis* (0,1 a 6,6%) e *Methanoculleus* (0,5 a 1,3%). Estes gêneros atuam na fase de metanogênese do RSU (Tabela 13). O gênero *Methanosarcina* também foi identificado nas pesquisas de Guo et. al. (2015) com abundância relativa de 12,8%, sugerindo que a metanogênese acetoclástica é a metanogênese dominante. Ainda de acordo estes autores, os consórcios de micro-organismos (hidrolisadores, fermentadores, acetogênicos e metanogênicos) possivelmente trabalham em uma reação por etapas.

O gênero *Methanobacterium*, com abundâncias relativas de 3,9 a 11,7% foi o táxon mais dominante nas amostras dos RSU do ASMC (Tabela 13). Segundo Madigan et. al. (2014) em se tratando de arqueas anaeróbicas metanogênicas hidrogenotróficas, as temperaturas ótimas de crescimento são de 37 a 45 °C para espécies mesofílicas e 55 °C ou mais para os termofílicos. Klocke et. al. (2008), encontraram o mesmo gênero microbiano em um reator anaeróbico, onde apresentou abundância relativa de 12% associada a metanogênese hidrogenotrófica.

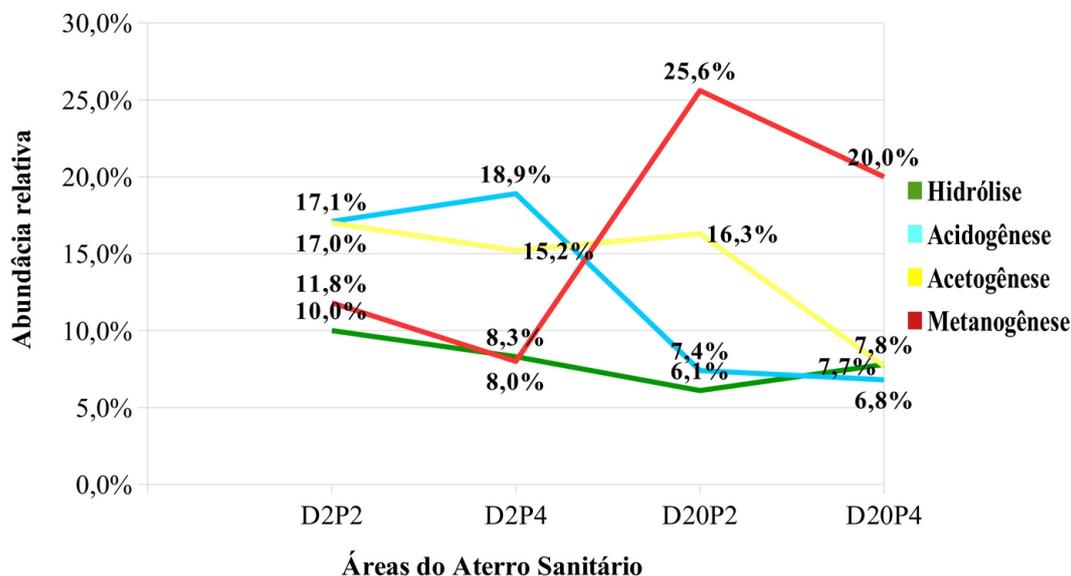
A relação da abundância relativa total dos gêneros microbianos com as fases metabólicas do processo de digestão anaeróbica das amostras nas quatro áreas do ASMC (Figura 45) permitiu inferir acerca do perfil funcional dos micro-organismos, isso foi possível relacionando os táxons com suas características metabólicas e suas abundâncias relativas, conforme as Tabelas 13 e 14.

Conforme apresentado na figura 45, no caso das amostras D2P2, com menor distância do dreno e menor profundidade, as abundâncias relativas indicam uma predominância dos organismos acetogênicos e acidogênicos, evidenciando a predominância da fase ácida, que antecede à fase metanogênica na decomposição do RSU no aterro. Resultados semelhantes são obtidos para as amostras coletadas à profundidade de 4 metros, também a uma distância de 2 metros do dreno (D2P4). Esse comportamento é esperado, pois tratam-se de amostras localizadas em áreas que estavam a sofrer mais fortemente a ação da sucção imposta ao dreno de biogás, com maior possibilidade de ocorrência de concentrações de oxigênio não nulas advindas da superfície. Este padrão está também de acordo com as análises de PCA realizadas anteriormente e com os resultados apresentados na Tabela 10, relativos às técnicas de cultivo, onde se observou que os pontos situados próximos ao dreno (D2P2 e D2P4) apresentaram maiores valores de UFC/mL de bactérias aeróbicas ($5,6 \times 10^4$ e 8×10^4 UFC/mL), que os pontos D20P2 e D20P4 ($4,3 \times 10^4$ e $3,6 \times 10^4$ UFC/mL).

Pode-se dizer também que as condições ambientais nestes pontos favorecem a ação das bactérias hidrolíticas como *Clostridium* e *Bacillus*, que realizam a decomposição dos compostos com estrutura mais complexas como carboidratos e proteínas. Li et. al. (2018) relata que o gênero

Clostridium é abundante na digestão anaeróbica dos resíduos da biomassa e desempenha um papel importante para a hidrólise celulósica.

Figura 45 - Abundâncias dos gêneros relacionados às diferentes etapas de biodecomposição por área do ASMC



Para o caso dos pontos D20P2 e D20P4, situados a 20 metros do dreno, os organismos predominantes são característicos da fase Metanogênica. Pode-se inferir que, com condições de anaerobiose mais favoráveis, o processo de decomposição dos RSU por via anaeróbica foi mais acelerado em regiões mais distantes do dreno.

A fase da metanogênese é caracterizada pela produção de metano pelas arqueas, com abundância relativa de 11,8%, 8,0%, 25,6% e 20,0% respectivamente nas áreas D2P2, D2P4, D20P2 e D20P4. As menores abundâncias relativas ocorreram nas áreas de menor distância do dreno de biogás pelas razões já apresentadas no texto. Klocke et. al. (2008) caracterizaram a comunidade microbiana metanogênica em um reator anaeróbico e verificou a presença dos gêneros *Methanoculleus* e *Methanosarcina* que também ocorreram nas amostras do ASMC.

Wang et. al. (2019) estudou a influência da temperatura na eficiência de produção de biogás e a estrutura da comunidade microbiana em um reator de digestão anaeróbica com resíduos orgânicos. As bactérias dominantes em nível de gênero foram semelhantes nas temperaturas de 32,5, 30 e 35 °C, onde *Acinetobacter*, *Acetivomaculum* e *Bacillus* foram os gêneros dominantes, sendo os principais micro-organismos funcionais para a decomposição e metabolismo de compostos orgânicos na fase acidogênica. Nas amostras analisadas do ASMC também ocorreu o gênero bacteriano anaeróbico facultativo *Bacillus* nas faixas de temperaturas próximas as dos autores (32,3 a 37,6 °C) atuando na acidogênese e degradando os RSU já aterrados.

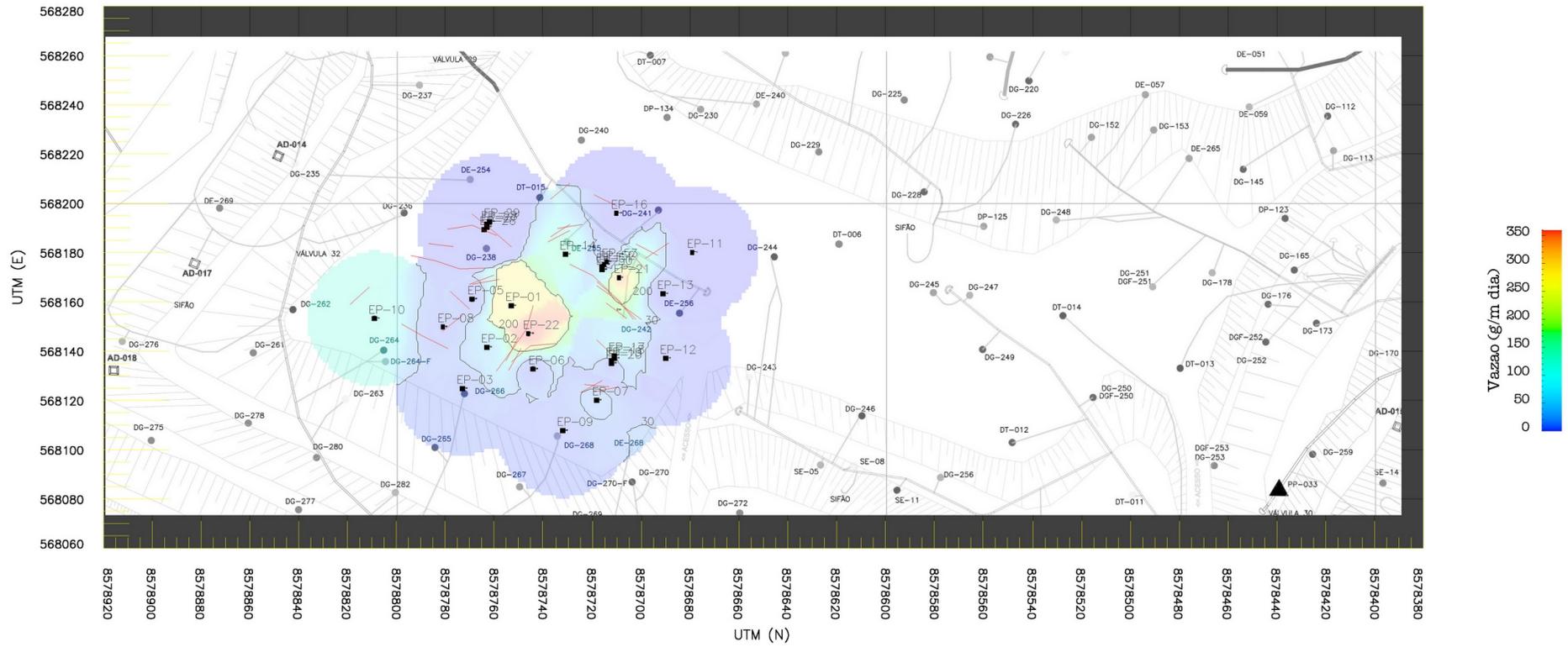
De acordo, a Figura 45, os resultados da diversidade microbiana relacionada com as fases de digestão anaeróbica nos pontos analisados, quando comparados, mostraram-se bem diferentes, sendo que a única fase com resultados próximos em todos os locais foi a hidrólise. As amostras coletadas em D20P4 apresentaram uma maior abundância relativa para os micro-organismos da fase de produção de metano, comportamento esperado em função de sua maior distância do dreno de biogás e maior profundidade. Guo et. al. (2015), nos seus estudos com lodo de digestão anaeróbica, indicaram que os 5 gêneros metanogênicos mais dominantes foram *Methaenosaeta* (26,2% de todos os metanógenos), *Metanospirillum* (13,1%), *Metanossarcina* (12,8%), *Metanoculleus* (11,1%) e *Metanorregula* (7,6%). Nas áreas D2P2 e D20P4 do RSU da ASMC também ocorreu o gênero *Metanossarcina*, porém com valores inferiores de abundância relativa (1,6 e 3,9%).

Langer et. al. (2019), trabalhando com digestores anaeróbios, indicaram que a comunidade era dominada por membros do filo Euryarchaeota, sendo que o gênero *Methanosarcina* (acetoclástico) foi predominante, com 42 a 90% da abundância relativa, embora proporções significativas de membros dos gêneros hidrogenotróficos tenham também sido encontrados: *Methanoculleus* com 11% e *Methanobacterium* com 7%. A abundância relativa desse último gênero foi menor do que na área D20P4 do ASMC onde apresentou 11,7%, o que é de se esperar visto que se trata de uma área de disposição de RSU mais profunda (4 metros) com ambiente predominantemente anóxico, favorecendo, assim, a fase metanogênica da digestão anaeróbica (Figura 45).

4.5 MEDIÇÕES DO ENSAIO DE PLACA ESTÁTICA NO MACIÇO DE RSU

Os ensaios de placa realizados a 2 metros (EP-03) e a 20 metros (EP-02) do dreno DG 266 apresentaram resultados semelhantes, com valores de emissões fugitivas de metano similares (quase nulos) no período seco. No período chuvoso, contudo, obteve-se para o ensaio EP-02 (próximo aos pontos de amostragem D20P2 e D20P4), uma emissão fugitiva de metano, J_{CH_4} , de $J_{CH_4} = 54,3 \text{ g/m}^2 \cdot \text{dia}$, enquanto que para o ponto EP-03 (próximo aos pontos de amostragem D2P2 e D2P4) foi obtido um valor de $J_{CH_4} = 15,4 \text{ g/m}^2 \cdot \text{dia}$. A Figura 46, obtida por Damasceno (2018), ilustra a distribuição de emissões fugitivas de CH_4 para o período chuvoso na área de estudo. Conforme se pode observar, nas proximidades do dreno DG 266, os valores de emissões fugitiva obtidos são sempre pequenos, o que implica que nestas regiões há uma tendência à entrada de gases atmosféricos para o interior do maciço e não à saída do biogás gerado pelos processos de biodecomposição do RSU. O comportamento das emissões fugitivas obtido por Damasceno (2018) corrobora com as discussões apresentadas neste trabalho anteriormente no tocante a diversidade microbiana e sua variação espacial (influência da variável de distância ao dreno).

Figura 46 - Emissões fugitivas na área de estudo



Fonte: Damasceno (2018)

4.6 POTENCIAL DE GERAÇÃO DE METANO (BMP) EM RN e RA

A Tabela 16 apresenta os valores de L_0 obtidos dos ensaios realizados em 3 unidades diferentes, $m^3 CH_4/Mg-RSU$, $m^3 CH_4/Mg-RSU$ seco e $m^3 CH_4/Mg-STV$. O uso de unidades diferentes é justificado pelo fato de que não existe ainda um padrão na apresentação dos resultados obtidos dos ensaios de BMP. É também apresentado a taxa de decaimento biológico, k , obtida no ensaio. Contudo, valores bem diferentes de k são obtidos em função do tamanho da amostra, de forma que estes valores não são indicativos da cinética do processo de decomposição em campo.

Tabela 16 - Resultados da geração e da composição do biogás, L_0 e dos valores ajustados de k para as amostras de RN e RA ensaiadas nos testes de BMP

RSU	Biogás ($m^3/Mg-RSU$)	Comp. Biogás (%)		L_0 ($m^3 CH_4/Mg - RSU$)	L_0 ($m^3 CH_4/Mg - RSU$ seco)	L_0 ($m^3 CH_4/Mg - ano^{-1}$ STV)	k
		CO ₂	CH ₄				
RN 10/17	113,04	41	59	67,09	155,79	269,71	29,20
	130,08	41	59	77,39	179,71	311,13	32,85
	121,91	39	61	74,35	172,64	298,89	31,02
RA D2P2	20,69	35	65	13,41	16,06	70,29	14,60
	43,03	36	64	36,20	20,18	88,32	20,08
	34,11	36	64	21,95	16,37	71,65	18,25
RA D2P4	74,82	45	55	41,10	18,88	96,44	14,60
	71,29	44	56	39,65	30,59	156,22	18,25
	78,08	45	55	53,68	33,05	168,59	21,90
RA D20P2	64,93	45	55	36,03	37,74	144,23	14,60
	64,70	44	56	36,33	37,45	143,10	14,60
	67,37	43	57	38,37	39,55	151,12	18,25
RA D20P4	26,82	44	56	14,96	16,11	115,80	14,60
	44,26	43	57	25,25	19,43	139,65	18,25
	35,54	42	58	20,11	17,77	127,72	16,42

Pode-se observar um rápido decréscimo nos valores de L_0 obtidos (valores muito maiores são obtidos para as amostras de resíduo novo, RN, que para as amostras RA). Os RN apresentaram um valor médio de L_0 , para massa seca ($169,4 m^3 CH_4/Mg-RSU$ seco), o qual é superior ao encontrado por Vigneron et al. (2005), que foi de L_0 $126 m^3 CH_4/Mg-RSU$ seco na Itália. Caldas (2011), em ensaios realizados com RN do ASMC, encontrou um resultado médio de $154,9 m^3 CH_4/Mg-RSU$ seco, também próximo ao valor obtido neste trabalho. Alves (2008), avaliou amostras de materiais orgânicos e obteve valor médio de $170,8 m^3 CH_4/Mg-RSU$ seco, esses superiores a média encontrada nesta pesquisa. Vale ressaltar que, no trabalho de Alves (2008), no valor apresentado está incluso o potencial do biogás gerado pelo seu lixiviado (lodo de ETE).

De acordo a Tabela 16, os resultados de L_0 das amostras RA D2P2 e RA D20P4 (17,5 e 17,8 m^3 CH_4 /Mg-RSU seco, respectivamente) se aproxima dos obtidos por Caldas (2011), analisando resíduos de 2 anos de aterramento, também no ASMC (valores entre 17,7 e 20,2 m^3 CH_4 /Mg-RSU seco). Alves (2008) encontrou valores de 13,6 m^3 CH_4 /Mg-RSU seco para RSU com 7 anos de aterramento. Maciel (2009), encontrou para resíduos orgânicos com 7 anos de aterramento o valor de L_0 6,3 m^3 CH_4 /Mg-RSU seco. Os valores de L_0 das amostras obtidas não apresentaram uma tendência de variação clara com a profundidade ou com a distância ao dreno, mas, quando comparado com as Tabelas 7 e 8, verifica-se um alinhamento com os valores de MO, STV e Lignina dos RN e RA, pois após 1 ano de aterramento ocorreu uma alta decomposição com queda acelerada nos valores e com pouca geração de biogás, indicando processos oxidativos que não gera metano.

Para melhor análise, os valores de L_0 foram relacionados em função do tempo estimado desde a deposição e foi obtido o k de campo de $0,43 \text{ ano}^{-1}$, as indicações do IPCC (2006) sinaliza para regiões de clima tropical úmido, os valores entre $0,15$ a $0,20 \text{ ano}^{-1}$. O resultado de k foi bem elevado e pode está relacionado com a alta velocidade de decomposição nos RA através da ocorrência de processos aeróbicos. Caldas (2017) na sua pesquisa com RSU no ASMC também encontrou valor elevado de K ($0,48 \text{ ano}^{-1}$), onde de acordo o autor trata-se de um resultado fora da faixa esperada para aterros sanitários em regiões tropicais úmidas e são incoerentes para processos anaeróbicos.

Nas Figuras 47 e 48 (Figuras 48a a 48d), são apresentadas as curvas de geração acumulada de biogás para os ensaios de BMP realizados nas amostras de RN e RA, respectivamente. Considerando os resultados apresentados nas Figuras 47 e 48, é notório o decréscimo nos valores remanescentes de L_0 em um tempo de no máximo 2 anos desde a deposição do RSU, onde o processo de biodegradação dos RSU se mostra intenso no início com os RN e depois vai diminuindo nos RA com o passar do tempo. Estes resultados, contudo, contrastam com o fato de que, para as amostras coletadas mais próxima ao dreno de gás (D2P2 e D2P4), houve uma predominância dos organismos acetogênicos e acidogênicos, evidenciando a predominância da fase ácida, que antecede à fase metanogênica, onde é importante destacar que a velocidade de biodecomposição da fração orgânica dos RSU é vagarosa em condições de pH baixo. Em outras palavras, considerando-se apenas a via anaeróbica, é difícil explicar como ocorreu tão grande depleção nos valores de L_0 , já que o ambiente metanogênico ainda não estava consolidado nestas posições. Tampouco a depleção obtida nos valores de L_0 é compatível com a produção de metano captada em campo, mesmo levando-se em conta os valores de emissão de CH_4 obtidos neste trabalho e, de forma mais detalhada e para toda a área de estudo, por Damasceno (2018). Desta forma, este trabalho traz fortes evidências de que as características da camada de cobertura provisória empregada, tanto propicia a ocorrência de valores não desprezíveis de emissão fugitiva,

como, nas regiões próximas aos drenos, propicia a ocorrência, ainda que de forma associada com a metanogênese, de processos de decomposição aeróbica do RSU, os quais são mais rápidos na biodecomposição e não são capazes de gerar CH_4 e sim H_2O e CO_2 .

Figura 47 - Comportamento da geração de CH_4 durante os ensaios de BMP para RN

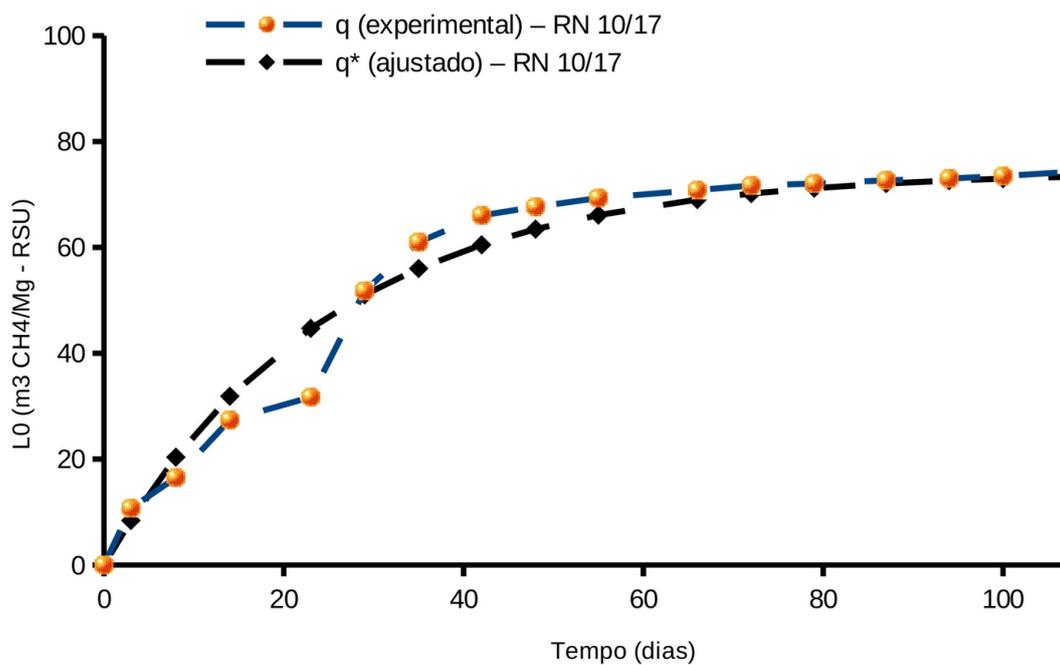
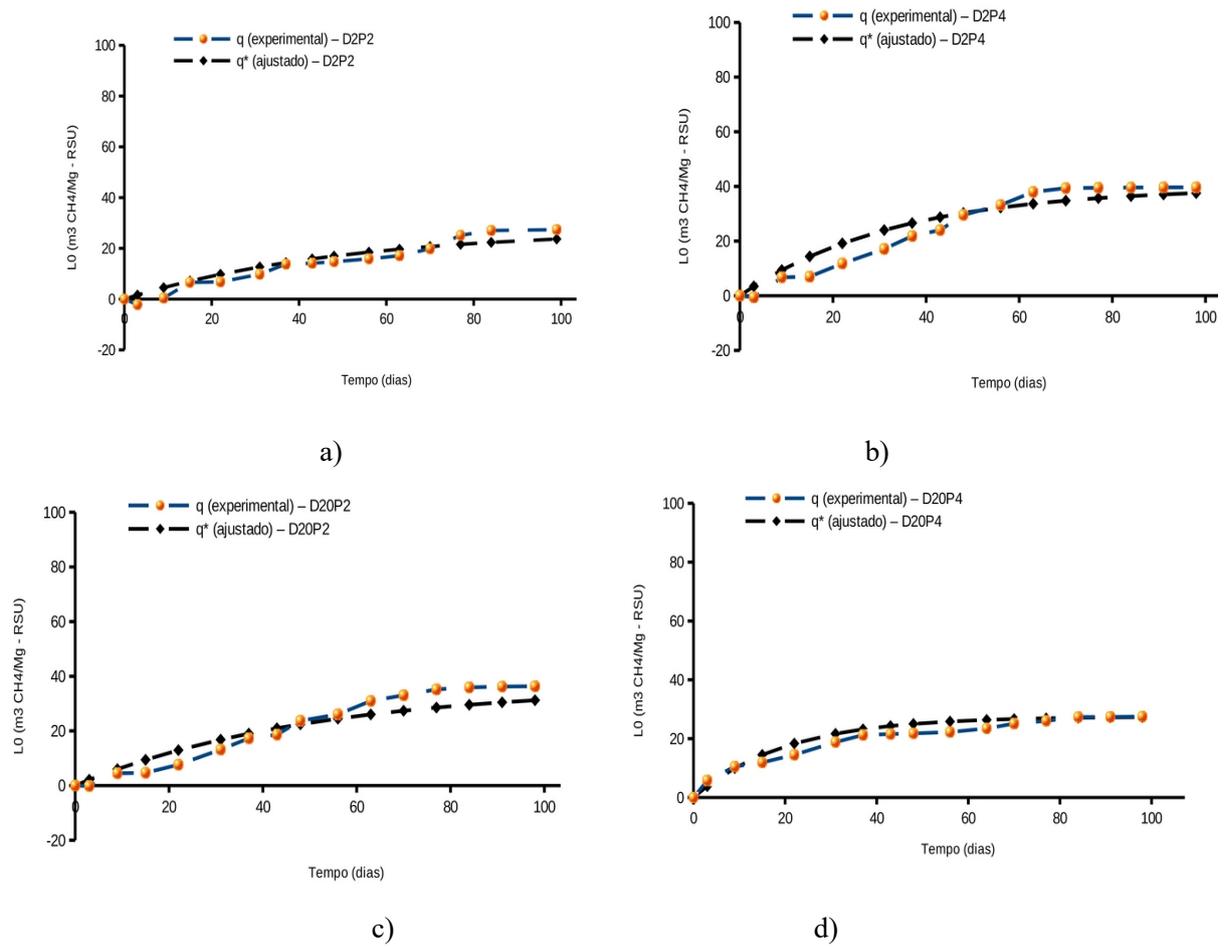


Figura 48 - Comportamento da geração de CH_4 durante os ensaios de BMP para RA nas áreas. a) D2P2; b) D2P4; c) D20P2 e d) D20P4



5 CONCLUSÃO

Na construção desse trabalho buscou avaliar os parâmetros físicos, químicos e biológicos que interferem no processo de digestão anaeróbica dos RSU e na geração de biogás no ASMC.

Os resultados de MO, STV e Lignina dos RN são compatíveis com a literatura. Porém, após 1 ano de aterramento ocorreu uma alta decomposição com queda acentuada nos valores dos RA e com pouca geração de biogás, indicando permanência da fase aeróbica que não gera metano.

De acordo os resultados do ensaio de placa de fluxo, o fluxo de CH₄ emitido para a atmosfera diminui a medida que se aproxima do dreno e aumenta a medida que se distancia. O comportamento das emissões corrobora com os resultados deste trabalho no tocante a diversidade microbiana e sua variação espacial (influência da distância).

Nos ensaios de BMP, verificou-se resultados representativos e condizentes com outros valores encontrados na literatura. Os valores de L₀ das amostras obtidas não apresentaram uma tendência de variação clara com a profundidade ou com a distância ao dreno. O resultado de k foi bem elevado (0,43 ano⁻¹) e pode está relacionado com a alta velocidade de decomposição nos RA através da ocorrência de processos aeróbicos no ASMC.

Os resultados obtidos neste trabalho traz fortes evidências de que as características da camada de cobertura provisória empregada, tanto propicia a ocorrência de valores não desprezíveis de emissão fugitiva, como, nas regiões próximas aos drenos, propicia a ocorrência, ainda que de forma associada com a metanogênese, de processos de decomposição aeróbica do RSU, os quais não são capazes de gerar CH₄ e conseqüentemente interfere no processo de digestão anaeróbica.

Os resultados microbiológicos quantitativos apresentaram um crescimento aeróbico significativo indicando que a alta sucção aplicada ao dreno provavelmente auxilia na entrada de ar atmosférico no maciço. Em relação aos anaeróbicos a faixa foi menor e não se consegue estabelecer uma correlação clara entre os valores obtidos e a posição de amostragem, demonstrando que a técnica tradicional dependente de cultivo não respondeu ao objetivo do trabalho devido interferência no processo de amostragem dos anaeróbicos, o que não ocorreu com a metagenômica.

Logo, os resultados da metagenômica demonstrou que o sequenciamento de alto rendimento do rDNA 16S pode fornecer uma visão abrangente da estrutura e diversidade das comunidades procarióticas e do padrão de distribuição de grupos no ambiente de decomposição de RSU no ASMC, onde Firmicutes e Euryarchaeota são os filos mais abundantes.

A maioria dos gêneros que foram encontrados são anaeróbicos com abundância relativa total variou de 37,1 a 50,6% nos quatro pontos analisados próximo ao dreno de gás DG 266, porém, em contrapartida, se compararmos com a composição de aeróbicos e anaeróbicos facultativos, os

mesmos foram menores variando de 6,2 a 7,7% e 2,1 a 3,7%. Os gêneros de micro-organismos mais abundantes encontrados foram, *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanofollis*, *Desulfosporosinus*, *Anaerolinea* e *Clostridium*, todos anaeróbicos.

Apesar de uma predominância dos gêneros anaeróbicos, o uso de PCA com distância Hellinger evidenciou a diferença entre amostras com distâncias/profundidades diferentes, sendo a distância a variável de maior importância no estudo. No entanto, a interação entre o efeito da distância e profundidade não foi significativa.

As variáveis pH e temperatura não são relacionadas às distâncias. No entanto, estas variáveis são relacionadas à profundidade com valores maiores de ambos para locais mais profundos.

A variável que mais apresentou coeficiente de correlação elevado foi a distância, seguida de eH e profundidade. As análises de correlação e de PCA mostrou que a diversidade microbiana no aterro foram afetadas pela distância e profundidade ocorreu uma significativa relação com as variáveis independentes.

Os resultados das abundâncias relativas indicam uma prevalência dos organismos acetogênicos e acidogênicos, evidenciando a predominância da fase ácida. Este comportamento é esperado, pois tratam-se de amostras próximas ao dreno de biogás de alta sucção com favorável entrada de oxigênio atmosférico para o interior das células. Este padrão está também de acordo com as análises de PCA e análises microbiológicas quantitativas para os micro-organismos aeróbicos.

Portanto, os resultados obtidos corroboram a hipótese de entrada de oxigênio para o interior do maciço de RA do ASMC pela camada de cobertura e conseqüentemente pode alterar o ambiente de decomposição e assim haver queda na produção do biogás.

Os resultados obtidos na pesquisa são valiosos e nos permitiu conhecer a ecologia microbiana dos RSU assim como podem auxiliar na tomada de medidas de gestão do aterro sanitário a fim de manter condições propícias de anaerobiose para a produção de CH₄, evitando interferências na composição e estrutura das comunidades microbianas responsáveis pela digestão anaeróbica e os abatimentos na produção do CH₄. Dentre as ações passíveis de serem tomadas em campo se pode citar a melhoria nas características da camada de cobertura dos RSU, com o uso de mantas impermeáveis se necessário, a fim de evitar a entrada de ar atmosférico no interior do maciço de RSU através das trincas e fissuras que são formadas pelos recalques diferenciais e pelos ciclos de secagem/umedecimento. Além disso, a adoção de melhoria nas camadas de cobertura propiciaria uma diminuição das emissões fugitivas de metano para atmosfera; Sugere-se ainda como medida aplicável em campo o controle e diminuição das pressões de sucção dos drenos de biogás de forma a minorar a possibilidade de entrada do oxigênio para o interior das células que altera o ambiente de decomposição, favorecendo a via aeróbica de degradação, que não é de interesse do aterro.

6 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Para estudos futuros e complementares seria interessante a realização de pesquisas de fungos através da análise da metagenômica nos RSU já aterrados, pois em geral os trabalhos de análise biológica em RSU nos aterros sanitários só contemplam as comunidades de bactérias e archaeas, onde os fungos não são incluídos, pois estes representam um grupo importante na degradação da lignina um polímero complexo de difícil degradação e de presença considerável nos RSU do aterro. Os fungos têm papel importante no processo de degradação inicial da matéria orgânica, pois logo após a disposição dos resíduos, predomina uma condição aeróbica pela presença do oxigênio nos espaços vazios dos resíduos, o que permite a decomposição e ação dos micro-organismos aeróbicos como os fungos, onde são produzidos dióxido de carbono, água, calor e outros subprodutos como biomassa e moléculas complexas e disponibilizando para uma série de etapas metabólicas sequenciais da digestão anaeróbica (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese) realizadas por bactérias que por sua vez disponibilizam outros produtos gerados para as archaeas metanogênicas e por fim completam o ciclo da digestão anaeróbica, onde obterá como produtos finais desse processo, o dióxido de carbono, a amônia e o metano, sendo este último utilizado como fonte alternativa de geração de energia.

Como continuidade das pesquisas sugerimos caracterizar através da metagenômica, a diversidade biológica, a composição e a estrutura das comunidades microbianas dos RSU do ASMC em diferentes idades de aterramento (1, 2 e 3 anos), pois representam diferentes períodos de adaptação ambiental e maior atividade dos micro-organismos na decomposição dos RSU e assim permitiria correlacionar com as fases de digestão anaeróbica (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese).

Seria interessante realizar uma simulação das quatro fases da digestão anaeróbica em escala laboratorial (usando biorreatores) e a análise dos micro-organismos via metagenômica e relacionando com o que ocorre com o aterro sanitário. Em segundo momento seria oportuno aprimorar a forma de coleta dos RSU já aterrados em campo, visto a dificuldade atual em acessar as camadas do maciço que envolve profundidade para assim realizar a análise metagenômica do material e usar como uma ferramenta de biomonitoramento e apoio para a operação do aterro.

REFERÊNCIAS

- ABREU, E. F. G. Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB tratando esgoto sanitário. 93f., Dissertação (Mestrado), Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Departamento de Engenharia Hidráulica e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- ABREU, T. C. C. Avaliação do potencial de geração de biogás de resíduos sólidos urbanos de diferentes idades. 307 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Civil, 2014. Rio de Janeiro, 2014.
- ALVES, I. F. S. Análise experimental do potencial de geração de biogás em resíduos sólidos urbanos. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências – CTG, UFPE, Recife, 2008.
- AMANN, R. I.; LUDWING, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification an in situ detection of individual cells without cultivation. *Microbial Reviews*, v. 59, n.1, p.143-169, 1995.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 th ed. Washington, DC: APHA, 1998. 1203 p.
- ANDERSON, K. SALLIS, P., UYANIK, S. Anaerobic treatment processes. In: MARA, D.; HORAN, N. (Ed.) *The handbook of water and wastewater microbiology*. Academic Press. p. 391-396, 2003.
- ANDRADE, S. F. Samara Ferreira Andrade. Aplicação da técnica de recirculação de chorume em aterros tropicais – Estudo de caso do Aterro Sanitário Metropolitano Centro (ASMC). 170 p., Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.
- AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*. 10:152-161, 2005.
- ARAÚJO, E. P.; JUNIOR, S. S. S. PEREIRA, F. T. G.; COSTA, E. P.; MONTEIRO, V. E. D. ARAÚJO, J. M. Estudos de Geração de Biogás com base em parâmetros microbiológicos em uma célula experimental de resíduos sólidos urbanos. *Revista Tecnologia (UNIFOR)*, v. 31, p. 230-238, 2010.
- ARCHER, D.B.; KIRSOP, B.H. The microbiology and control of anaerobic digestion. In: WHEATLEY, A. (Ed.). *Anaerobic digestion: a waste treatment technology*, pp. 43-91, 1990.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT, NBR 10004. Resíduos Sólidos – Classificação, Rio de Janeiro, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR 10005: Procedimentos para obtenção de extrato de lixiviado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR 10006: Procedimentos para obtenção de extrato de solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004.

ATALIA, K. R., BUHA., D. M. JOSHI J.J., SHAH. N. K., Microbial Biodiversity of Municipal Solid Waste Media Hamedabad, J. Mater. Environ. Sci. 6 (7), 1914-1923, 2015.

BALCH, W.E., FOX, G.E., MAGRUM, J.L., WOESE, C.R. & WOLFE, R.S. 1979. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. Microbiological Reviews, 43:260-296.

BAREITHER, C. A., WOLFE, G. L., MCMAHON, K. D., BENSON, C. H., XU, R. Microbial diversity and dynamics during methane production from municipal solid waste. USA: 2013.

BERNAT, K. M. Zielińska, A. Cydzik-Kwiatkowska., I. Wojnowska-Baryła. 2015. Biogas production from different size fractions separated from solid waste and the accompanying changes in the community structure of methanogenic Archaea. Biochemical Engineering Journal. V 100, 30-40.

BRASIL. Lei n. 11.445, de 05 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento. Diário Oficial da União, Brasília, 08 jan. 2007.

BRASIL. Lei 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, 03 de outubro de 2010, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 005 de 30 de setembro de 2009. Dispõe, sobre o gerenciamento de resíduos sólidos gerados nos portos, aeroportos, terminais ferroviários e rodoviários. Diário Oficial da União, Brasília, 05 ago. 1993.

BRASIL. Ministério das Cidades. SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos Urbanos – 2015. Brasília: MCidades. SNSA, 2017. Disponível em: <http://www.snis.gov.br>. Acesso em: 22 fev. 2018.

BRITTO, M. L. C. P. S.. Taxa de emissão de biogás e parâmetros de biodegradação de resíduos sólidos urbanos no Aterro Metropolitano Centro. 2006. 185 p. Dissertação (Mestrado profissional em gerenciamento e tecnologias ambientais no processo produtivo) - Departamento de Engenharia Ambiental-DEA, UFBA, Salvador, 2006.

Borcard, D., Gillet, F., Legendre, P., 2018. Numerical Ecology with R. 2nd ed., Springer, New York.

BOSCOV, M. E. G. Geomecânica dos resíduos sólidos urbanos. In: Geotecnia Ambiental. 1. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. cap. 2, p.31-62.

BOUMECHHOUR, F., RABAH, K., LAMINE, C., SAID, B. M. Treatment of landfill leachate using Fenton process and coagulation/flocculation. Water and Environment Journal., v. 27, 114– 119, 2013.

CALDAS, A. S. Geração de Metano devido à digestão anaeróbia de Resíduos Sólidos Urbanos – Estudo de caso do Aterro Sanitário Metropolitano Centro, Salvador-BA. 154f., Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

CALDAS, A. S. Produção de metano em aterro sanitário: Influência das técnicas operacionais no Aterro Metropolitano em Salvador-Ba. 263f. Tese (Doutorado em Ciências, Energia e Ambiente), Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

CAPSON-TOJO, G., E. TRABLY, M. ROUEZ, M. CREST, J.-P. STEYER, J.-P. DELGENÈS, R. ESCUDIÉ. Dry anaerobic digestion of food waste and cardboard at different substrate loads, solid contents and co-digestion proportions. *Bioresour. Technol.*, 233 (2017), p. 166-175.

CARVALHO, Miriam de Fátima (1999). Comportamento mecânico de resíduos sólidos urbanos. Tese (Doutorado)- Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos-SP.

CARVALHO, R. D. O; VAZ, A. PEREIRA, F. L. DORELLA, F. AGUIAR, E. CHATEL, J. BERMUDEZ-HUMARAN, L. LANGELLA, P. FERNANDES, G. FIGUEIREDO, H. C. P. GOESNETO, A. AZEVEDO, V. Gut microbiome modulation during treatment of mucositis with the dairy bacterium *Lactococcus lactis* and recombinant strain secreting human antimicrobial PAP. *Scientific Reports*, v. 8, p. 1-10, 2018.

CATAPRETA, C. A. A.. Comportamento de um aterro sanitário experimental: avaliação da influência do projeto, construção e operação. 2008. 316 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2008.

CHERNICHARO, C. A. L. *Princípio do tratamento biológico de águas residuárias – Reatores anaeróbios*, v. 5, 2ª edição, Belo Horizonte: Ed. UFMG, 380 p., 2007.

CLONTZ, L. Microbial limit and bioburden tests: validation approach and global requirements. 2 ed. U.S., Taylor & Francis group, LLC, U.S., 2009.

COPOLA, G.. A Política Nacional de Resíduos Sólidos. *JAM Jurídica* (Salvador), v. 8, p. 12, 2011.

CRISPIM, César Augusto. et al. Biofilms on church walls in Porto Alegre, RS, Brazil, with special attention to cyanobacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*. v. 54, p. 121-124. 2004.

DAMASCENO, L. A. G. Emissão fugitiva de metano através do sistema de cobertura de um aterro sanitário considerando a ocorrência de zonas com fissuramento. 181f., Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.

DAVIS, M.L, CORNWELL, D.A., 1998. Introduction to environmental engineering: third edition. McFraw-Hill International, New York, 0-07-115237-4.

FELLNER, J., BRUNNER, P.H., 2010. Modeling of leachate generation from MSW landfills by a 2-dimensional 2-domain approach. *Waste Manage.* 30, 2084 e 2095.

FETZER, S., CONRAD, R. Effect of redox potential on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri*. *Archives of Microbiology*. Germany- Alemanha: 1993.

FIRMO, A.L.B. Estudo numérico e experimental da geração de biogás a partir da biodegradação de resíduos sólidos urbanos. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013. 268f.

FOLLMANN, H. V. D. M. SCHIRMER, W. N. CABRAL, A. R. CROVADOR, M. I. C. DOURADO, D. C. STROPARO, E. C. Avaliação de parâmetros físicoquímicos na degradação de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) de diferentes idades e sua relação com a geração de biogás. *ESPACIOS (CARACAS)*, v. 38, p. 9, 2017.

GAYLARDE, P.M. et al. Cyanobacteria from Brazilian Building Walls Are Distant Relatives of Aquatic Genera. *A Journal of Integrative Biology*, v. 9, n.1, p.30-42, 2005.

GHANEM, I. I. I.; GUOWEI, G. and JINFU, Z. Leachate production and disposal of kitchen food solid waste by dry fermentation for biogas generation. *Renewable Energy*. v.23, p.673-684. 2001.

GONZALEZ, Juan M.; SAIZ-JIMENEZ, Cesáreo. Application of molecular nucleic acid-based techniques for the study of microbial communities in monuments and artworks. *International Microbiology*, v.8, n.3, p.189-194, 2005.

GRIFFIN, M.E., MCMAHON, K.D., MACKIE, R.I., RASKIN, I. 1998. Methanogenic population dynamics during start-up anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnology and Bioengineering* 57, 342-355.

GRISEY, E., BELLE, E. DAT, J. MUDRY, J., ALEYA, L. Survival of pathogenic and indicator organisms in groundwater and landfill leachate through coupling bacterial enumeration with tracer tests. *Desalination*, v.261, p. 162–168, 2010.

GUEDES, V. P. Estudo do fluxo de gases através do solo de cobertura de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos. 2007. 117 f. Tese (Mestrado em Engenharia Civil) - Coordenação dos Programas de Pós-Graduação de Engenharia-COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, 2007.

GUPTA, J., RATHOUR, R., KUMAR, M., SHEKHAR T. Metagenomic Analysis of Microbial Diversity in Landfill Lysimeter Soil of Ghazipur Landfill Site. New Delli-Índia: 2017.

GUO, J., PENG, Y., NI, B. J., HAN, X., FAN, L. YUAN, Z. Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing *Microbiology of Solid Waste*. Bijing-China: 2015.

HANDELSMAN, J. (2004) Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev* 68:669– 685.

HANSEN T.L., SCHMIDT J.E., ANGELIDAKI I., MARCA E., JANSEN J.C., MOSBAEK H., CHRISTENSEN, T. H. Method for determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Management*, v. 24, p.393-400, 2004.

HATFIELD, R. D., JUNG, H. J. G., RALPH, J., BUXTON, D. R., WEIMER, P. J.. A comparison of the insoluble residues produced by the Klason lignin and acid detergent lignin procedures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.65, p.51-58, 1994.

INSAM, H., FRANKE-WHITTLE, I., GOBERNA, M. 2010. Microbes in aerobic and anaerobic waste treatment. In: Insam, H., Franke-Whittle, I., Goberna, M. (Eds.), *Microbes at Work – From Wastes to Resources*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 1-34.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Intergovernmental Panel on Climate Change. Japan: IGES, 2006.

IPT-Instituto de Pesquisas Tecnológicas. Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado. São Paulo, 1995.

JARDIM, Nilza Silva *et al.* Lixo Municipal: manual de gerenciamento integrado. São Paulo, IPT-CEMPRE, 2ª edição. 2000.

JETTEN, M. S. M.; STAMS, A. J. M.; ZEHNDER, A. J. B. Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanothrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. *FEMS Microbiology Reviews*, 88, p. 181-198, 1992.

KASSEGN, G., HILUF, K., GEBREGZIABHER, G., DEGEFE, G., KUMERA, B. Physicochemical characterization and microbial identification of compost produced from municipal solid waste in shewa robit town, ethiopia. Debre Berhan-Ethiopia: 2015.

KAUSHAL, M., AHLAWAT, S., MUKHERJEE, M., MUTHURAJ, M., GOSWAMI, G., DAS, D. Substrate dependent modulation of butanol to ethanol ratio in non-acetone forming *Clostridium sporogenes* NCIM 2918. *Bioresour. Technol.* 225 (2017), 349–358.

KELLY, R. J. (2002) Solid waste biodegradation enhancements and the evaluation of analytical methods used to predict waste stability. Master Thesis (Master of Science in Environmental Science and Engineering) - Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg-Virginia.

KLAMMER, S.; KNAPP, B.; INSAM, H. Bacterial community patterns and thermal analyses of composts of various origins. *Waste Management Research*, v.26, p.173, 2008.

KLOCKE, M., NETTMANN, M., BERGMANN, I., MUNDV, K., SOUIDI, K., MUMME, J., LINKE, B. Characterization of the methanogenic Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Systematic and applied microbiology*.. Potsdam-Bornim, Alemanha: 2008.

KOTHARI, R. et al. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy : An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 39, p. 174–195, 2014.

KOO, T., LEE, J., HWANG, S. Development of an interspecies interaction model: An experiment on *Clostridium cadaveris* and *Clostridium sporogenes* under anaerobic condition. *J. Environ. Manage.* 237, 247–254. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.084>.

KOCHLING, T., SANZ, J L., GAVAZZA, S., FLORÊNCIO, L. Analysis of microbial community structure and composition in leachates from a young landfill by 454 pyrosequencing. *Appl Microbiol Biotechnol.* Springer-Verlag Berlin HeidelbergI: 2015.

LACERDA JÚNIOR, Gileno Vieira. Caracterização do microbioma de solos semiáridos da Caatinga e seu potencial para a degradação de lignocelulose. 2017. 1 recurso online (122 p.). Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/331987>>. Acesso em: 12 mar 2018.

LANGER, S. G., Gabris, C., Einfalt, D., Wemheuer, B., Kazda, M., Bengelsdorf., F. R. 2019. Different response of bacteria, archaea and fungi to process parameters in nine full-scale anaerobic digesters. *Microbial Biotechnology*, 1-16. <https://doi: 10.1111/1751-7915.13409>.

Legendre, P., Gallagher, E.D., 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129, 271-280. doi:10.1007/ s004420100716, arXiv:arXiv:1011.1669v3.

- LI A, CHU Y, WANG X, REN L, YU J, et al. A pyrosequencing-based metagenomic study of methane-producing microbial community in solid-state biogas reactor. *Biotechnology for Biofuels* 6, 2013.
- LI, Z., CAO, A., CHEN, Z., YE, H. J., WANG, Y., LUO, W., CHANG, J.S., LI, Q., HE, N. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste for hydrogen and VFA production with microbial community analysis. *Waste Management*. Xiamen- China: 2018.
- LIU, J., OLSSON, G., MATTIASSON, B. 2004. On-line monitoring of a two-stage anaerobic digestion process using a BOD analyzer. *Journal of Biotechnology* 109, 263-275.
- LOBO, A. G. de C. Desenvolvimento de MODUELO 2: ferramenta para a avaliação de La contaminação produzida em vertederos de resíduos sólidos urbanos. 2003. 335 f. Tese (Doctoral) - Departamento de Ciências e Técnicas do Água y del Medio Ambiente, Universidad de Cantabria, Santander, 2003.
- MACHADO, S. L., CARVALHO, M. de F., NASCIMENTO, J. C. F., CALDAS, A. S.. Aterro Sanitário Metropolitano Centro. Caracterização de Resíduos Aterrados visando à Estimativa do Potencial de Geração de Gás. Relatório Interno, 48 p. 2008.
- MACHADO, S. L., CARVALHO, M. de F., GOURC, J. P., VILAR, O. M., NASCIMENTO, J. C. F.. Methane generation in tropical landfills: Simplified methods and field results. *Waste Management*, v.29, p.153-161, 2009.
- MACHADO, S. L., CARVALHO, M. de F., NASCIMENTO, J. C. F., CALDAS, A. S.. Estudo da Geração de Metano produzido no Aterro Sanitário Metropolitano Centro. Relatório Interno, 28 f, 2010.
- MACIEL, F. J. Estudo da geração, percolação e emissões de gases no Aterro de Resíduos Sólidos da Muribeca/Pe. 2003. 173 f. Tese (Mestrado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências-CTG, UFPE, Recife, 2003.
- MACIEL, F. J.. Geração de biogás e energia em aterro experimental de resíduos sólidos urbanos. 2009. 333 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências - CTG, UFPE, Recife, 2009.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M. *Brock Biology of Microorganisms*. 14. ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2014. p. 198.
- MANDAL, T., MANDAL, N. K. Comparative Study of Biogás production from different waste materials. *Energy Conversion and Management*, v.38, n.7, p.679-683, 1997.
- MARQUES, A. C. M. (2001). Compactação e Compressibilidade de Resíduos Sólidos Urbanos. São Paulo, 2001. 408p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- MATEUS, M. S. C. Proposta de Modelo para avaliação do Balanço Hídrico de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos: Estudo de caso do Aterro Sanitário Metropolitano Centro de Salvador-Ba. 2008. 312 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Coordenação dos Programas de Pós-Graduação de Engenharia - COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, 2008.

MATTEI, G.; ESCOSTEGUY, P. A.V. Composição gravimétrica de resíduos sólidos aterrados. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, p. 247-251, 2007.

MC CARTY, P. L. One hundred years of anaerobic treatment. In: *SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION* (6-11 september 1981, Travemünde, Germany), Edited by Hughes et al. Elsevier Biomedical Press B. V., Amsterdam, The Netherlands, 1982.

MEIRA, R. C.. INFLUÊNCIA DE FUNGOS E BACTÉRIAS AERÓBIAS TOTAIS NA BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS DA CIDADE DE CAMPINA GRANDE PB EM ESCALA EXPERIMENTAL. *Boletim de Medicina Veterinária (UNIPINHAL. Online)*, v. 6, p. 333-349, 2009.

MELO, M. C. Uma análise de recalques associada à biodegradação no aterro de resíduos sólidos da Muribeca. 2003. 160 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências - CTG, UFPE, Recife, 2003.

MONTEIRO, V. E. D.; MELO, M. C.; ALCÂNTARA, P. B.; ARAÚJO, J. M.; ALVES, I. R. F. S.; JUCÁ, J. F. T. Behavior study of msw in a experimental cell and its correlations with microbiological, physical and chemical aspects. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 2, n.3, p. 223.2006.

MUYZER, G.; WALL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction- amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 59, n. 3, p. 695-700, 1993.

NAKASAKI, K., YAGUCHI, H., SASAKI, Y., and KUBOTA, H. Effects of pH control on composting of garbage. *Waste management and research*, v 11, 117-125. 1993.

OENNING, A. S.; CARDOSO, M. A.; PONT, C. B. D.; LIMA, B. B.; VALVASSORI, M. L. Estudo de composição gravimétrica dos resíduos sólidos urbanos do município de Criciúma, SC. *Revista de Iniciação Científica (Criciúma)*, v. 10, p. 5-18, 2012.

Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2019. *vegan: Community Ecology Package - Ordination methods, diversity analysis and other functions for community and vegetation ecologists.* URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>.

PAES, R. F. C. (2003) Caracterização do chorume produzido no Aterro da Muribeca – PE. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

PIVATO, A. (2004). Environmental sustainability of landfills: performance-based methodology for assessing the aftercare end-point. *Universitàdegli Studi di Padova. Dipartimento di Ingegneria Idraulica, Marittima, Ambientale e Geotecnica.* December 2004.

PYLRO, VICTOR SATLER; ROESCH, LUIZ FERNANDO WURDIG; ORTEGA, JOSÉ MIGUEL; AMARAL, ALEXANDRE MORAIS; TÓTOLA, MARCOS ROGÉRIO; HIRSCH, PENNY RUTH; ROSADO, ALEXANDRE SOARES; GÓES-NETO, ARISTÓTELES; DA COSTA DA SILVA, ARTUR LUIZ; ROSA, CARLOS AUGUSTO; MORAIS, DANIEL KUMAZAWA; ANDREOTE, FERNANDO DINI; DUARTE, GABRIELA FROIS; MELO, ITAMAR SOARES;

SELDIN, LUCY; LAMBAIS, MÁRCIO RODRIGUES; HUNGRIA, MARIANGELA; PEIXOTO, RAQUEL SILVA; KRUGER, RICARDO HENRIQUE; TSAI, SIU MUI; AZEVEDO, VASCO. Brazilian Microbiome Project: Revealing the Unexplored Microbial Diversity Challenges and Prospects. *Microbial Ecology*, v.67, n.3, p. 237-241, 2014.

REINHART D. R. AND TOWNSEND T. G. 1998 Landfill Bioreactor Design and Operation. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.

RESENDE, M. A. Biodeterioração de monumentos históricos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. *Microbiologia Ambiental*. 2.ed. Jaguariúna: Embrapa-CPMA, 2008, p. 501-520.

RIESENFELD, C.S.; SCHLOSS, P.D. & HANDELSMAN, J. 2004. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics*, 38: 525-552.

RONALD M. Atlas, Handbook of Microbiological Media, 2nd ed, CRC Press, New York. (2010).

SAHA A., SANTRA., S. C. Isolation and Characterization of Bacteria Isolated from Municipal Solid Waste for Production of Industrial Enzymes and Waste Degradation. *J Microbiol. Bengal-Índia*: 2014.

SÃO MATEUS, M. S. C. Proposta de Modelo para Avaliação do Balanço Hídrico de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos: Estudo de Caso do Aterro Metropolitano Centro de Salvador-Ba. 312f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, 2008.

SCHLOSS P.D., HANDELSMAN J. Biotechnological prospects from metagenomics. *Current Opinion on Microbiology* 14: 303-310, 2003.

SCHMEISSER, C.; STEELE, H.; STREIT, R. Metagenomics, biotechnology with non-culturable microbes. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 32, p. 955-962, mar. 2007.

SCHIRMER, W. N.; JUCÁ, José Fernando Thomé; SCHULER, A. R. P.; HOLANDA, S.; JESUS, L. L. Methane production in anaerobic digestion of organic waste from Recife (Brazil) landfill: evaluation in refuse of different ages. *Brazilian Journal of Chemical Engineering (Impresso)*, v. 31, p. 373-384, 2014.

SILVA, T. N., CAMPOS, L. M. S. Avaliação da produção e qualidade do gás de aterro para energia no aterro sanitário dos bandeirantes – SP. In: *Revista Eng. Sanitária e Ambiental*. v. 13, n° 1, p. 88-96, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/esa/v13n1/a12v13n1.pdf>>. Acesso em: 06 jun. 2016.

SHIRATORI, H.. OHIWA, H., IKENO, H., AYAME, S., KATAOKA, N., MIYA, A., BEPPU, T., UEDA, K. 2008. *Lutispora thermophila* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, spore-forming bacterium isolated from a thermophilic methanogenic bioreactor digesting municipal solid wastes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58(2): 964-969.

SOLVÍ. Bahia Transferência e Tratamento de Resíduos S.A-BATTRE. Resíduos. São Paulo, 2010. Disponível em < <http://www.solvi.com/BATTRE/>>. Acesso em: 10 outubro de 2014.

SOWERS, K.R. 1995. Methanogenic Archaea: an overview. In: Archaea – a laboratory manual. Methanogens. Sowers, K. R. & Schreier, H. J. (eds). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. p. 3-13.

STALEY, B. F., BARLAZ, M. A., DE LOS REYES, F. L., ELLIS, J. C. Microbial community of profiling of municipal solid waste at different stages of degradation. Proceedings Sardinia 2007. In: Eleventh International Waste Management and Landfill Symposium. S. Margherita di Paula, Cagliari, Italy; 1-5 October 2007.

STEINMETZ R.L.R., Kunz A., Amaral A.C., Soares H.M., Schmidt T., Wedwitschka H. (2014). Suggested method for mesophilic inoculum acclimation to PME assay. IN: XI Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia (DAAL), Cuba. (in press).

SUNDBERG, C., YU, D., FRANKE-WHITTLE, I., KAUPPI, S., SMARS, S., INSAM, H., JONSSON, H. Effects of pH and microbial composition on odour in food waste composting. Waste Management, v 33, 204-211. 2013.

TCHOBANOGLOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. Integrated Solid Waste Management Engineering Principles and Management Issues. Irwin MacGraw-Hill. 978p., 1993.

Ter Braak, C.J.F., Smilauer, P., 2018. R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Microcomputer Power, Ithaca.

TORTORA, G. J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, CHRITINE L. Microbiologia. Tradução da 10.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2012.

TYAGI, V.K., Lo, S.L. 2013. Sludge: A waste or renewable source for energy and resources recovery. Renewable and Sustainable Energy Reviews 25, 708-728.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Landfill Air Emissions Estimation Model (Version 2.01). U. S., 1998.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. A Guide for Methane Mitigation Projects. U. S., 1996.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Landfill Air Emissions Estimation Model (Version 2.01). U. S., 1998.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. First-Order Kinetic Gas Generation Model Parameters for Wet Landfills. U. S., 2005.

VAZOLLER, R. F. et. al. Biodegradação anaeróbia. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia Ambiental. 2.ed. Jaguariúna: Embrapa-CPMA, 2008, p. 217-259.

VIGNERON, V.; MAZEAS, L.; BARINA, G.; AUDIC, J.M. VASEL, J.L.; BERNET, N.; BOUCHEZ, T. (2005). Anaerobic digestion of municipal solid waste: a mass balance analysis. In.: Proceedings Sardinia, Tenth International Waste Management and Landfill Symposium. Caligari, Italy. Caligari: CISA.

WANG, X., CAO, A., ZHAO, G., ZHOU, C. J., XU, R. Microbial community structure and diversity in a municipal solid waste landfill. *Waste Management*. Beijing- China: 2017.

WANG, S., MA, F., MA, W., WANG, P., ZHAO, G, LU, X. Influence of Temperature on Biogas Production Efficiency and Microbial Community in a Two-Phase Anaerobic Digestion. *Water*. doi: 10.3390/w11010133. 2019.11.133

WOESE, C. R., KANDLER, O., WEELIS, M. L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. USA: 1990.

WILLIAMS. P.T. *Waste Treatment and Disposal*. John Wiley & Sons. England. 2nd ed. P. 388. 2005.

ZAINUN, M. Y., SIMARANI, K. Metagenomics profiling for assessing microbial diversity in both active and closed landfill. Kuala Lumpur-Malaysia: 2018.

ZEHNDER, A. J. B.; INGVORSEN, K.; MARTI, T. Microbiology of methane bacteria. In *SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION* (6-11 september 1981, Travemünde, Germany), Edited by Hughes et al. Elsevier Biomedical, Press B. V., Amsterdam, The Netherlands, 1982.

ZHANG, C. et al. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 38, p. 383–392, 2014.