

Influência de diferentes tipos de nanopartículas de prata na biodegradação da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos

Influence of different types of silver nanoparticles on the biodegradation of the organic fraction of municipal solid waste

Isabela da Cruz Bonatto¹ , Ailton João Gonçalves Moreira¹ , José Julio Barrios Restrepo¹ ,
Davide Franco¹ , Armando Borges de Castilhos Junior¹ 

RESUMO

Os resíduos sólidos urbanos (RSU) contêm aproximadamente 50% de fração orgânica (FO), que, por meio de processos de biodegradação em aterros sanitários, resultam em lixiviados e biogás. A degradação anaeróbia ocorre impulsionada por processos microbianos realizados por um consórcio complexo de micro-organismos, responsáveis pelas diferentes fases. Por outro lado, observa-se que as nanopartículas (NP), especialmente as de prata (NPsAg), vêm sendo cada vez mais utilizadas em novos produtos. Assim, os RSU podem apresentar materiais nanoparticulados, que, depositados em aterros sanitários, se comportam de maneira ainda pouco conhecida, podendo influenciar os processos de biodegradação. Os objetivos do presente trabalho são analisar e verificar o potencial metanogênico de resíduos sólidos orgânicos com e sem a interferência de diferentes concentrações e tipos de NPsAg. Para isso, foram realizados ensaios do potencial biometanogênico com as concentrações de 5, 15, 45, 50, 150 e 450 mg NPsAg.kg⁻¹ RSU e comparados com a amostra padrão (branco). Diferentes tipos de nanopartículas foram utilizados: sólido (em pó), solução em base aquosa e em base alcoólica com álcool polivinílico (PVA). Os resultados mostram que, em concentrações altas (150 e 450 mg NPsAg.kg⁻¹), as NPsAg tendem a diminuir a atividade dos micro-organismos metanogênicos. Finalmente, a modelagem dos resultados mostrou que o modelo logístico se ajusta bem aos dados experimentais. A regressão linear entre os parâmetros desse modelo e a concentração de NPsAg demonstram o decréscimo dos parâmetros com o aumento na concentração desses compostos.

Palavras-chave: resíduos sólidos orgânicos; potencial biometanogênico; nanopartículas de prata.

ABSTRACT

Municipal solid waste (MSW) contains approximately 50% of organic fraction (OF), which through landfill biodegradation processes results in leachate and biogas. Anaerobic degradation occurs driven by microbial processes, with a complex consortium of microorganisms, responsible for different phases. On the other hand, it is observed that nanoparticles (NPs), specially silver nanoparticles (AgNPs), have been appearing in a large range of new products. The MSW, for example, can present nanoparticulate materials, which, deposited in landfills, behave in a way still little known in science, and that can influence the biodegradation processes. The objective of this work is to analyze and verify the biochemical methanogenic potential of organic solid waste with and without the interference of different concentrations and types of AgNPs. For that purpose, tests of biochemical methane potential (BMP) with the concentrations of 5, 15 and 45, 50, 150 and 450 AgNPs mg.kg⁻¹ were carried out and verified through a standard sample (white). Different types of nanoparticles were used: solid (powder), and two solutions, aqueous and alcoholic (polyvinyl alcohol – PVA). The results showed the interference of AgNPs in the highest concentrations used, considerably decreasing the biological process measured through the activity of microorganisms in the production of methane gas, which occurred in the range between 150 and 450 mg.kg⁻¹ of AgNPs. Finally, the statistical studies and the mathematical modeling of the results showed that the logistic model adjusted well to the experimental data. The linear regression of the model parameters with the concentration of AgNPs demonstrates the decrease in the values of the parameters with the increase in the concentration of these compounds.

Keywords: organic solid waste; biochemical methane potential; silver nanoparticles.

¹Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis (SC), Brasil.

***Autora correspondente:** isabelacbonatto@gmail.com

Conflitos de interesse: os autores declaram não haver conflito de interesses.

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Recebido: 15/07/2020 – **Aceito:** 02/12/2020 – **Reg. ABES:** 20200255

INTRODUÇÃO

Os resíduos sólidos urbanos (RSU) são acumulados continuamente nos aterros, onde são objeto de complexos mecanismos físicos, químicos e biológicos de degradação do material orgânico, inorgânico e recalcitrante depositado. A matéria orgânica é biodegradada por micro-organismos pelo processo preponderante de fermentação anaeróbia, o que resulta nos dois principais mecanismos de poluição de um aterro sanitário: lixiviados e biogás (GARCILASSO, VELÁZQUEZ; COELHO, 2010). As etapas envolvidas têm sido estudadas por diversos autores (BAREITHER et al., 2013; REDDY et al., 2011; SONG et al., 2015), apesar das diferenças existentes, por exemplo, em função das características dos resíduos (FEI; ZEKOS; RASKIN, 2015). Observa-se a existência de um consórcio igualmente complexo de micro-organismos relacionando-se diretamente com os parâmetros físico-químicos, entre os quais as arqueas, que utilizam poucas fontes energéticas (NOVAES, 1986; STAMS, 1994; VAZOLLER, 1995). Essa comunidade bacteriana, por sua sensibilidade a perturbações ambientais, pode colaborar no entendimento da degradação anaeróbia, considerando-se a interferência de diferentes tóxicos (YANG et al., 2012b; YANG et al., 2013; YANG; GUO; HU, 2013).

Por sua vez, a nanotecnologia é uma área em grande expansão, que traz consigo uma série de inovações e benefícios, entre eles a vasta exploração de nanopartículas (NP), com suas propriedades capazes de melhorar bens de consumo manufaturados (BARTON et al., 2015). Aliados a esses fatores, há também o desconhecimento e a preocupação com os potenciais riscos e impactos em diferentes sistemas no meio ambiente, tanto na ecotoxicologia como na saúde humana, aspectos estes discutidos criticamente por diversos autores (JU-NAM; LEAD, 2008; BYSTRZEJSKA-PIOTROWSKA; GOLIMOWSKI; URBAN, 2009; STANLEY, 2014; ROY et al., 2014; BOUR et al., 2015; DWIVEDI et al., 2015; CANESI; CIACCI; BALBI, 2015). Esses novos nanomateriais, por meio das etapas de produção, consumo e descarte, terminam por gerar nanorresíduos, um termo da atualidade que ainda tem sua definição em discussão (BOLDRIN et al., 2011; BSI, 2007; MARCOUX et al., 2013) e é pouco estudado. Sob condições ambientais, esses materiais podem apresentar diversos efeitos de aglomeração, agregação e revestimento de biomoléculas ainda desconhecidos, afetando inclusive sua toxicidade (LYNCH; WEISS; VALSAMI-JONES, 2014). As NP de prata (NPsAg), por exemplo, são amplamente utilizadas em diversos produtos (tecidos, cosméticos, embalagens, superfícies e usos na medicina), por conta de suas propriedades químicas, físicas e/ou biológicas (KIM et al., 2010; RAI; YADAV; GADE, 2009).

Estudos com NPsAg apresentaram relatos da sua potencial interferência na atividade microbiana, incluindo a inibição da metanogênese (YANG et al., 2012a; 2012b), e levando ao questionamento sobre os efeitos da potencial liberação de íons de prata em aterros sanitários (YANG et al., 2013), por exemplo. Nesse contexto, verifica-se o desconhecimento da influência de NPsAg nos mecanismos de degradação anaeróbia e na atividade metanogênica dos resíduos urbanos e dos compostos resultantes da degradação anaeróbia. Verificando o cenário atual de crescente uso de NP e o desconhecimento de seus possíveis impactos, este trabalho visa contribuir para elucidar o comportamento das NPsAg na presença de resíduos urbanos, bem como discutir a dinâmica e a influência dessas NP no potencial biometanogênico (BMP).

METODOLOGIA

Os ensaios de BMP foram conduzidos no Laboratório de Pesquisas em Resíduos Sólidos (LARESO) da Universidade Federal de Santa Catarina, com a utilização

do sistema *Automatic Methane Potential Test System* (AMPTS II). O procedimento envolve a inoculação de uma série de 15 frascos contendo uma pequena quantidade do substrato alvo do estudo com inóculo anaeróbio (relação 5:1), incubando-os a uma temperatura controlada (35°C) e verificando periodicamente a produção de metano por amostragem automatizada do volume de gás liberado. O ensaio BMP tem seu término quando a produção acumulada de metano sai da fase exponencial e entra na fase estacionária. O ensaio foi realizado em triplicata e acompanhado por um branco sem adição de NPsAg, como testemunha. O potencial de metano (NmL.gSV⁻¹) foi calculado pela Equação 1, subtraindo a produção de gás do inóculo da produção de gás da amostra e dividindo o resultado pela quantidade de sólidos voláteis (SV) adicionada.

$$\text{BMP} = \frac{V_{\text{CH}_4} - V_{\text{B}} \frac{m_{\text{is}}}{m_{\text{ib}}}}{m_{\text{sv,ss}}} \quad (1)$$

Em que:

V_{CH_4} = volume de metano acumulado produzido por um reator de amostra (NmL);

V_{B} = volume médio acumulado de metano produzido pelo inóculo (NmL);

m_{is} = total de inóculo na amostra (gSV);

m_{ib} = quantidade total de inóculo em branco (gSV);

$m_{\text{sv,ss}}$ = quantidade de matéria orgânica (sólidos voláteis) do substrato contido nos reatores (gSV).

Neste trabalho, o lodo utilizado como inóculo foi coletado em duas ETE da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN), acondicionado sob refrigeração (5°C) e conduzido ao laboratório para armazenamento à temperatura de 5°C até os procedimentos de caracterização. As amostras foram caracterizadas por meio dos parâmetros de controle ambiental, segundo os *Standard methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 1998) para a determinação dos sólidos totais, sólidos suspensos voláteis, demanda química de oxigênio (DQO) e pH. A metodologia do ensaio com lodos de ETE foi descrita por Soares e Hirata (1997) *apud* Pinto (2000). O inóculo selecionado foi o que apresentou maior atividade metanogênica. O substrato utilizado no ensaio foi uma mistura padrão de composição de matéria orgânica (fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos domésticos padronizada — FORSUDp) representativa dos RSU e apresentada na Tabela 1, conforme Pinto (2000). Sua vantagem é possibilitar a constituição de amostras sempre homogêneas do material e, conseqüentemente, evitar erros amostrais. Os resíduos orgânicos foram coletados na área de triagem e descarte do comércio local e, após transporte até o laboratório, foram pesados, triturados em liquidificador convencional e misturados. Esse processo tem o objetivo de aumentar a área superficial específica e potencializar a ação microbiana.

Três tipos de NPsAg foram utilizadas, conforme Tabela 2. As NPsAg foram inseridas nos frascos do ensaio BMP, diluídas em solução de 40 mL e misturadas com o auxílio de um bastão de vidro. As concentrações selecionadas foram baseadas nos resultados preliminares de Yang et al. (2012a; 2012b) e Yang et al. (2013), a saber, as concentrações de 5, 15 e 45 mg.kg⁻¹ de NPsAg para os três tipos de NPsAg. A segunda etapa foi realizada com concentrações de 50, 150 e 450 mg.kg⁻¹ de NPsAg, apenas para as NPsAg em suspensão de PVA, considerando-se a extrapolação numa ordem de 10 a fim de verificar o impacto nos resultados. Assim, levando-se em conta as triplicatas, foram coletadas 15 amostras para o branco, três para cada concentração testada de NPsAg, totalizando 60 amostras em quatro condições experimentais.

Tabela 1 - Valores percentuais dos elementos utilizados na elaboração da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos domésticos padronizada.

Categoria/Elemento	% em massa da categoria na FORSUDp	% em massa do componente na FORSUDp
Frutas		
Casca/bagaço de laranja	30	17,8
Casca de banana		3,8
Pedaços de tomate		4,6
Casca de melancia		3,8
Legumes crus		
Casca de batata	11	5,5
Casca/pedaços de cebola		2,3
Casca de abobrinha		1,6
Casca/pedaços de mandioca		1,6
Legumes cozidos		
Casca/pedaços de batata	4	1,3
Pedaços de mandioca		2,7
Hortaliças		
Alface	7,2	3,8
Repolho		1,9
Couve-flor		1,5
Pão/bolo	3	3
Carne		
Pedaços/pele de frango cru	2	1,3
Pedaços de carne de boi cru		0,7
Café	3,5	3,5
Folhas		
secas	10,8	9,2
Verdes		1,6
Queijo	0,4	0,4
Arroz	11,2	11,2
Feijão	4,7	4,7
Macarrão	2,2	2,2
Ossos	1,8	1,8
Outros		
Papel úmido	8,2	5
Casca de ovo		3,2

FORSUDp: fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos domésticos padronizada.
Fonte: adaptado de Pinto (2000).

Para comparar os experimentos, foi realizada uma análise estatística para determinar se as diferenças entre experimentos foram ou não significativas para os diferentes arranjos testados. A significância das diferenças entre os valores obtidos sob diferentes condições de pressão foi avaliada usando o teste *t* de Student, no *software* Statistic 7.0, considerando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

A caracterização das NPsAg foi realizada por microscopia eletrônica de transmissão (MET — JEOL, JEM-1011 TEM, 100 kV) no Laboratório Central

Tabela 2 - Ensaio com os diferentes tipos, tamanhos e concentrações de nanopartículas de prata.

Experimento	Nanopartícula de prata/ Concentração comercial	Estado do material	Tamanho médio da partícula	Concentrações NPsAg mg.kg ⁻¹ RSU utilizada nos testes
Experimento 1 (1A, 1B, 1C)	NPsAg_SiO 5.000 ppm	Sólido (em pó)	50 nm	0 (Branco), 5, 15, 45
Experimento 2 (2A, 2B, 2C)	NPsAg_água 1.000 ppm	Suspensão líquida em base aquosa	45 nm	0 (Branco), 5, 15, 45
Experimento 3 (3A, 3B, 3C)	NPsAg_PVA 10.000 ppm	Suspensão líquida em base alcoólica em PVA	30 nm	0 (Branco), 5, 15, 45
Experimento 4 (4A, 4B, 4C)	NPsAg_PVA 10.000 ppm		30 nm	0 (Branco), 50, 150, 450

NPsAg: nanopartículas de prata; RSU: resíduos sólidos urbanos; PVA: álcool polivinílico.

Fonte: elaborada pelos autores (2020).

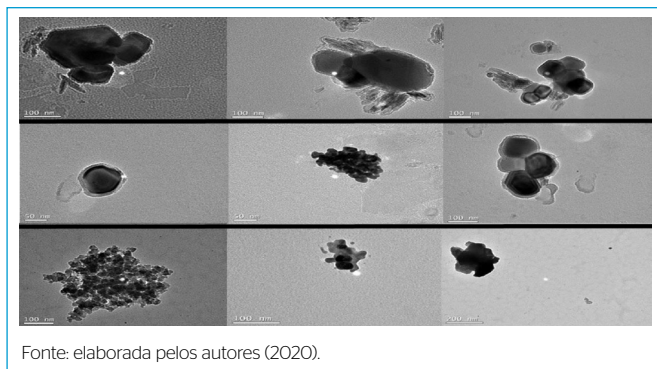
de Microscopia Eletrônica (LCME). As amostras foram preparadas com soluções de Cu-C e grid (300 mesh) e secas em dessecador sob vácuo, por 24 horas. Além disso, o potencial zeta (Pζ) foi determinado por abordagem da mobilidade eletroforética, usando o sistema ZetaPlus. A estabilidade das partículas nos diferentes meios foi determinada pelo diâmetro hidrodinâmico, utilizando o sistema de dispersão dinâmica da luz. Para a modelagem matemática, com base nos dados obtidos, aplicou-se o modelo sigmoidal do tipo logístico nos ensaios com NPsAg do tipo PVA (Experimentos 3 e 4), conforme a Equação 2 (GALLIPOLI *et al.*, 2020).

$$M = \frac{S}{1 + \exp\left(\frac{4R_{\max}(\lambda - t)}{S} + 2\right)} \quad (2)$$

Parâmetros como o potencial de produção de metano (S), taxa máxima de produção de metano (R_{\max}) em NmL.hora⁻¹ e duração da fase *lag* (λ) em horas foram determinados com o ajuste dos dados experimentais pelo modelo. O ajuste do modelo logístico aos dados experimentais, bem como a determinação dos parâmetros e seus erros associados, foram efetuados no Python por intermédio da função *curvefit* da biblioteca SciPy. Essa função usa o método dos mínimos quadrados para ajustar funções a um determinado conjunto de dados (SCIPY.ORG, 2020). De posse dos valores dos parâmetros e seus erros, buscou-se uma correlação entre os parâmetros do modelo e a concentração de NPsAg por meio da regressão linear, feita no Microsoft Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelas análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Figura 1), podem-se observar aglomerações, e os resultados da distribuição de NP foram geralmente consistentes com aqueles realizados por espalhamento dinâmico de luz (*dynamic light scattering* — DLS). As imagens MET confirmam a presença de nanoestruturas e a forma característica circular das NP. Na Figura 1A, podem-se analisar algumas partículas provavelmente unidas e também a presença de estruturas que se assemelham a cristais, o que pode estar relacionado com a presença de sílica na composição do NP em pó. Na Figura 1B, as NP apresentam aglomeração, mas não se notou a adesão de outros tipos de estruturas. Na Figura 1C, encontram-se as NP aparentemente menores, unidas em aglomerados.



Fonte: elaborada pelos autores (2020).

Figura 1 - Nanopartículas de prata utilizadas nos experimentos: (A) pó com sílica, (B) meio aquoso e (C) álcool polivinílico.

Os tamanhos calculados pelo leitor de imagens variaram de 20 a 90 nm. Imagens de microscopia demonstram essa variação de tamanhos de partícula para partícula, podendo estar relacionada com a dissolução metálica da prata (BOLYARD; REINHART; SANTRA, 2013).

O potencial zeta e o diâmetro hidrodinâmico mostram alterações de acordo com o tipo da NP. Soluções de NPsAg tendem a ser instáveis em função das mudanças que podem ocorrer, como oxidação, aglomeração, ionização e solidificação. Os valores encontrados para os diferentes tipos de nanopartículas utilizadas neste estudo estão na Tabela 3.

A mudança da carga de Pz para negativa foi observada em meio PVA, conforme Seo *et al.* (2017). Zhang *et al.* (2009) observam que a mudança de carga ocorre em virtude dos grupos aniônicos funcionais carregados negativamente que adsorvem na superfície da NP, fornecendo carga negativa para as partículas, independentemente de as mesmas terem, originalmente, carga positiva ou negativa. Baalousha *et al.* (2013) mostraram que cátions bivalentes, como Ca^{2+} e Mg^{2+} , em meio aquoso, causam maior aglomeração de NP do que os monovalentes. O diâmetro é menor quando está em meio aquoso e valores altos podem mostrar a aglomeração de NP (MATIAS *et al.*, 2015). Segundo Malvern (2004), as partículas são consideradas estáveis quando apresentam Pz próximo a +/- 30 mV.

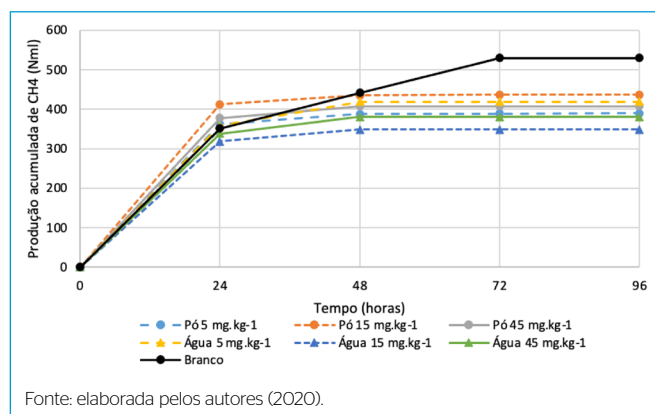
A determinação da produção acumulada de metano para diferentes concentrações de NPsAg foi baseada em ensaios BMP, conforme condições experimentais definidas na Tabela 2. As Figuras 2 e 3 apresentam os resultados da produção acumulada de metano para os Experimentos 1 e 2 e os Experimentos 3 e 4, respectivamente, com base nas médias dos valores de ensaios em triplicata para os dois diferentes tipos de NPsAg (pó, água e PVA).

Os resultados mostram que as diferenças ficam mais evidentes após 48 horas do ensaio, quando ocorrem picos de produção de metano, semelhantes para todas as concentrações e, após esse período, é possível observar influência das diferentes concentrações de NPsAg. Todos os experimentos foram conduzidos durante duas semanas, porém após a primeira delas foi alcançada a fase estável. Ao considerar as concentrações para todos os tipos de NPsAg (Figura 2 e 3), observa-se que não existem diferenças significativas entre as produções de metano para baixas concentrações de NPsAg (5, 15 e 45 mg.kg⁻¹). Resultados semelhantes foram observados com NP de titânio, zinco e prata, o que sugere que baixas concentrações não são suficientes para inibir a atividade biológica (BOLYARD; REINHART; SANTRA, 2013).

Tabela 3 - Tipos de nanopartículas e principais parâmetros de caracterização.

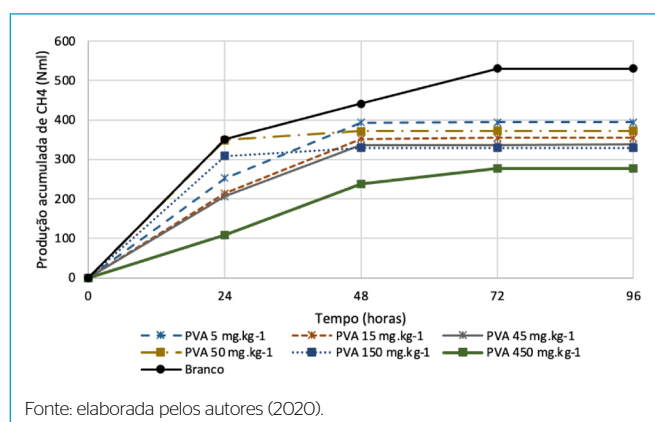
Tipo de NPsAg	Potencial Zeta (mV)	DP	Diâmetro Efetivo	DP
NPsAg_Pó	2,23	5,29	3916,12	277,9
NPsAg_Agua	0,63	4,92	76,7	1,14
NPsAg_PVA	-1,19	5,54	4157,73	157,15

NPsAg: nanopartículas de prata; DP: desvio padrão; PVA: álcool polivinílico.
Fonte: elaborada pelos autores (2020).



Fonte: elaborada pelos autores (2020).

Figura 2 - Produção acumulada média de metano para os Experimentos 1 e 2.



Fonte: elaborada pelos autores (2020).

Figura 3 - Produção acumulada média de metano para os Experimentos 3 e 4.

As concentrações de 15 e 45 mg.L⁻¹ de NPsAg mostraram, em geral, menor atividade, com menor acúmulo final de metano, principalmente nos Experimentos 3 e 4 apresentados na Figura 3. Finalmente, observa-se uma diferença ligeiramente maior para o grupo NPsAg_PVA, que é o tipo mais comercializado, conforme mostra a Figura 3. Nesse grupo, particularmente, observou-se que não há diferenças significativas, ao nível de significância de 5%, entre as concentrações de 5, 15, 45, 50 e 150 mg.kg⁻¹. Isso porque, com 50 mg.kg⁻¹, os resultados foram próximos a 5 e 15 mg.kg⁻¹ e, com 150 mg.kg⁻¹, a produção média foi comparável a 45, 50 e 15 mg.kg⁻¹. Contudo, observa-se que a produção média de metano para 450 mg.kg⁻¹ foi significativamente menor que nos demais grupos (276 NmL contra 530 NmL), observados igualmente, quando se compara o metano acumulado final total. Tal fato também

foi observado em estudos de Zhang *et al.* (2016) com lodos de esgoto, nos quais se afirma que as NPsAg não são estáveis em altas concentrações, uma vez que tendem a formar agregados de forma rápida e constante. Com exceção do Experimento 2, que não apresentou o menor valor, observa-se a diminuição na produção de metano considerando-se o aumento da concentração de NPsAg. A Figura 4 apresenta os principais valores para o total de metano acumulado produzido em todos os experimentos, para todas as condições. Entre todas as condições testadas, o branco foi o que apresentou maior volume acumulado de metano, com média de 530 NmL.

Labatut, Angenent e Scott (2011) observaram o valor de potencial de metano de $243 \pm 60 \text{ mLCH}_4\text{.SV}^{-1}$ para esterco leiteiro, próximo aos valores obtidos no presente trabalho. Finalmente, observa-se que a concentração de 450 mg.kg^{-1} apresentou redução na produção final de metano inferior a 44,8%, quase a metade do valor dos controles dos brancos. Nesse contexto, a Figura 5 apresenta a produção média específica de metano (mililitro de metano por grama de SV adicionado — NmL.gSV^{-1}) de cada um dos quatro experimentos com diferentes concentrações e tipos de nanop prata, das primeiras 200 horas dos testes.

Observa-se que, embora as diferenças no desenvolvimento sejam limitadas em alguns casos (como para tipos diferentes, mesmas concentrações), há variações claras quando comparadas à média do branco, bem como para a

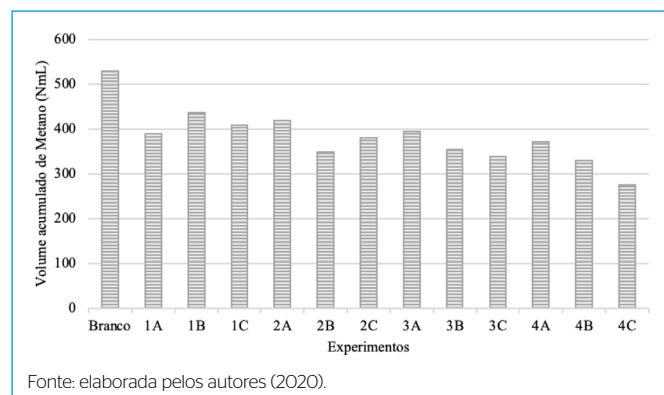


Figura 4 - Metano total acumulado para as diferentes concentrações de nanopartículas de prata.

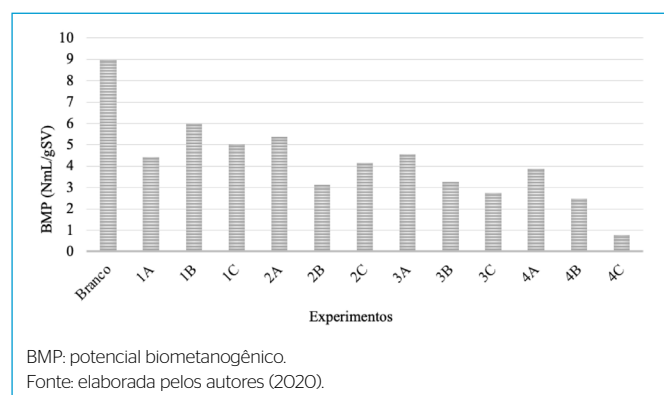


Figura 5 - Produção de metano por massa de sólidos voláteis do substrato.

concentração mais alta no Experimento 4 (4C, com a diferença principal para 450 mg.kg^{-1}). Segundo Sintubin *et al.* (2011) a liberação de íons de prata é uma das razões mais importantes para a inibição do crescimento bacteriano. A digestão anaeróbia em longo prazo pode resultar em diferentes dissoluções de nanop prata e outros arranjos de liberação de Ag^+ , que podem afetar as comunidades bacterianas produtoras de metano. No entanto, as informações da primeira semana de degradação biológica anaeróbia podem revelar informações sobre possíveis efeitos tóxicos e a taxa de degradação. Yang *et al.* (2012a) verificaram que, na presença de solução nutritiva, não houve diferenças significativas entre os grupos controle, com NPsAg ou com a prata iônica, com concentrações de 10 e 40 mg/kg . O que forneceu maior diferença foi a mistura de origem, pois, quando sem solução de glicose ou nutritiva, a produção de biogás caiu em aproximadamente 50%. É importante notar que as maiores concentrações testadas (150 ou 450 mg.kg^{-1}) de NPsAg provavelmente não são encontradas em resíduos urbanos ou em aterros sanitários, mesmo quando as NP passam por transformações, e a principal forma encontrada em aterros sanitários pode ser íons de prata. A influência da prata pode ser atribuída à liberação de íons de prata e, no lodo, por exemplo, as concentrações de prata previstas variam de 7 a 39 mg.kg^{-1} (BLASER *et al.*, 2008). Assim, esses altos valores foram uma condição de teste de uma ocasião extrema para comparar se há diferença significativa com concentrações menores e/ou maiores.

O tratamento estatístico e a modelagem consideraram apenas os experimentos com NPsAg do tipo PVA (Experimentos 3 e 4), levando em consideração as baixas concentrações de 5, 15 e 45 mg.kg^{-1} (Experimento 3) e a mais alta concentração testada de 450 mg.kg^{-1} , que causa significativa diferença na atividade microbiana. As concentrações de 50 e 150 mg.kg^{-1} (Experimento 4) não foram incluídas, uma vez que, conforme explanado anteriormente, não foram significativamente diferentes das baixas concentrações supracitadas. A análise das concentrações de 5, 15, 45 e 450 mg.kg^{-1} permite observar que o parâmetro S, que representa o potencial de produção de metano, pode ser facilmente determinado. Ele representa o valor máximo atingido ou o valor da estacionaridade das curvas de produção acumulada média de metano. Assim, foi possível correlacionar esse parâmetro com as diferentes concentrações de NPsAg testadas, com o uso de regressão linear. Constata-se, pela Figura 6, que existe uma relação linear entre o parâmetro S e o logaritmo da

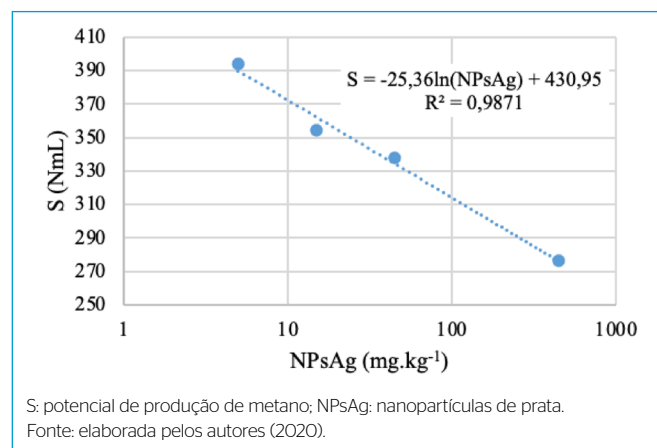


Figura 6 - Relação entre o potencial de produção de metano e a concentração de nanopartículas de prata.

concentração de NPsAg. Com a regressão linear, pode-se estimar empiricamente os valores de S para concentrações intermediárias de NPsAg que não foram testadas experimentalmente.

O coeficiente de determinação (R^2) desse ajuste foi de 0,9871, que demonstra um bom ajuste desses dados pela equação. Assim, pode-se concluir que o aumento na concentração de NPsAg ocasiona redução no potencial de produção de metano.

O modelo logístico ajustou-se aos dados experimentais pelo fato de ser um modelo sigmoidal e que, portanto, considera a fase estacionária observada nos dados. Os valores dos parâmetros desse modelo e os erros padrão associados estão apresentados na Tabela 4. Vale ressaltar que, no processo de ajuste do modelo, fixou-se o parâmetro S.

Os valores obtidos para os parâmetros R_{max} e λ são coerentes do ponto de vista estatístico, uma vez que os erros não são maiores que as próprias estimativas. Entretanto, apesar do bom ajuste do modelo logístico aos dados em razão da baixa quantidade de pontos amostrais, os parâmetros apresentam erros padrão da estimativa relativamente elevados. No caso de R_{max} , o erro é, em média, na ordem de 25% do valor do parâmetro, enquanto em λ esse erro é, em média, na ordem de 17%. Com os dados da Tabela 4, buscou-se correlacionar os parâmetros R_{max} e λ com as concentrações de NPsAg, conforme as Figuras 7A e 7B.

Observa-se que tanto R_{max} quanto λ apresentam uma relação linear com o logaritmo da concentração de NPsAg.

Sendo os coeficientes angulares das duas equações negativos, demonstra-se que existe redução na produção acumulada média de metano em função do aumento na concentração de NPsAg do tipo PVA. No caso particular do R_{max} , o R^2 do ajuste foi de 0,929, enquanto para λ o valor foi menor, de 0,811. Quando a concentração de NPsAg for abaixo do limite de detecção adotado ($< 0,01$), considerado um branco, R_{max} será de 60 NmL.hora⁻¹ e λ será de aproximadamente 24 horas, na medida em que sem NPsAg (branco) se viu que a produção acumulada média de metano foi superior. Por fim, observa-se que o modelo logístico se ajusta bem aos dados experimentais adotados na modelagem, conforme a Figura 8, sendo satisfatório na descrição desse ensaio BMP. Assim como neste, outros estudos têm mostrado que os modelos sigmoidais, entre os quais o logístico, apresentam bons ajustes dos dados de ensaios laboratoriais de digestão anaeróbia (SILVEIRA et al., 2018; FLORENTINO; BISCARO; PASSOS, 2010).

Tabela 4 - Parâmetros do modelo logístico com base no ajuste dos dados experimentais.

NPsAg (mg.kg ⁻¹)	S (NmL)*	R_{max} (NmL.hora ⁻¹)	λ (hora)
5	394,4	29,74 ± 12,45	15,47 ± 3,03
15	354,3	23,12 ± 4,93	14,73 ± 1,98
45	337,9	23,44 ± 5,66	15,17 ± 2,13
450	276,3	7,30 ± 0,81	10,02 ± 2,22

*Valor fixado com base nos dados experimentais; NPsAg: nanopartículas de prata; S: potencial de produção de metano; R_{max} : taxa máxima de produção de metano; λ : duração da fase lag.
Fonte: elaborada pelos autores (2020).

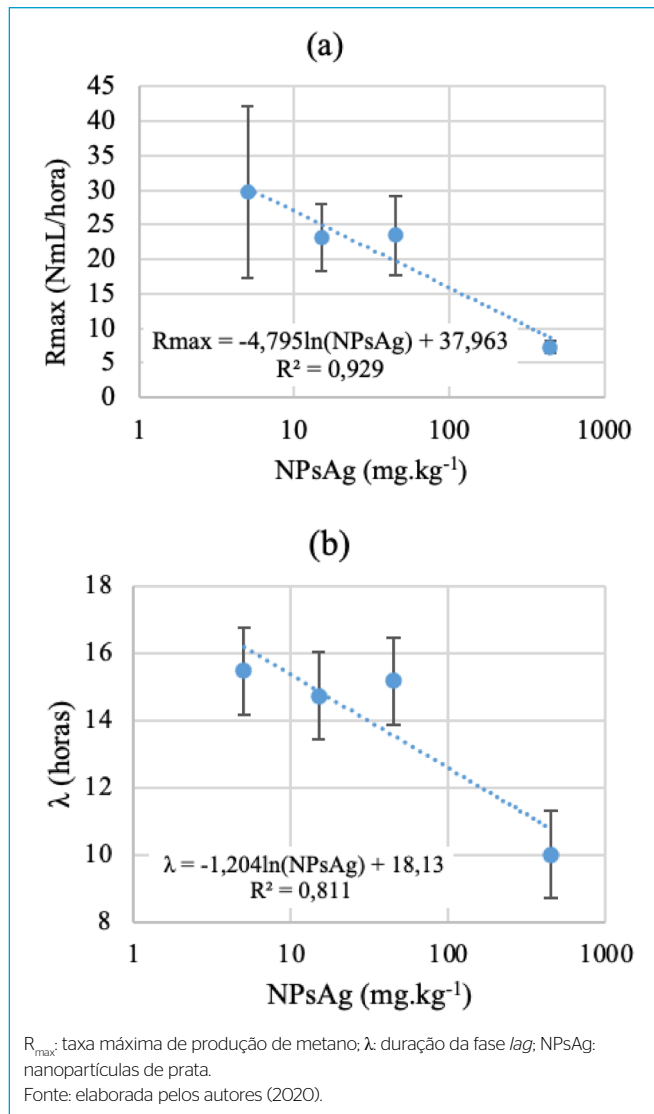


Figura 7 - (A) Relação dos parâmetros taxa máxima de produção de metano e (B) duração da fase lag com a concentração de nanopartículas de prata (5, 15, 45 e 450 mg.kg⁻¹), consoante ao ajuste do modelo logístico.

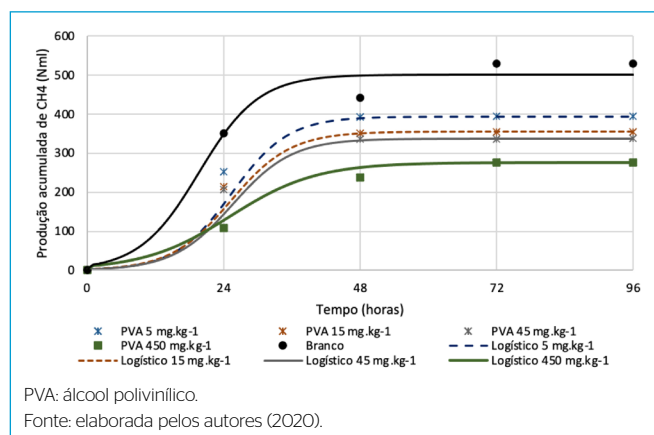


Figura 8 - Ajuste do modelo logístico aos dados dos Experimentos 3 (todas as concentrações de nanopartículas de prata), 4 (somente a concentração de 450 mg.kg⁻¹) e o branco.

CONCLUSÕES

Esta pesquisa analisou a influência de diferentes tipos e concentrações de NPsAg em uma mistura de substrato e um inóculo na relação 5:1, simulando RSU com o equipamento AMPTS II e estimando o potencial de biometanização. Todo o estudo mostrou que a produção média de metano das amostras no branco é maior do que todas as outras médias de reatores com NPsAg. No entanto, as concentrações (5, 15, 45 e 50 mg.kg⁻¹) de diferentes tipos de NPsAg não mostraram diferenças significativas na atividade metanogênica entre elas. A principal diferença, mostrando que as NPsAg podem afetar a atividade metanogênica inicial na degradação anaeróbica, ocorreu entre 150 e 450 mg.kg⁻¹. Neste estudo foi possível constatar que existe uma relação linear entre S e o logaritmo concentração de NPsAg do tipo PVA, conforme as equações empíricas obtidas na regressão linear. Assim, quanto mais resíduos contendo quantidades significativas de NPsAg, maiores são as probabilidades de eles ocasionarem inibição ou redução nas atividades dos micro-organismos responsáveis pela degradação dos RSU nos locais de disposição final. Informações sobre a presença, instabilidade e destino de NPsAg durante a estabilização de resíduos em aterros de RSU são escassas na literatura. Alguns estudos mostram que existem dificuldades na determinação e análise de NP em lixiviado de aterro e, até o momento, não existe um método especificamente definido que seja capaz de monitorar rotineiramente a existência de tais partículas no ambiente ou em uma matriz complexa como lixiviados (UYGUNER-DEMIREL *et al.*, 2017). Ademais, foram testadas concentrações mais elevadas do que aquelas encontradas normalmente em aterros sanitários e efluente urbano (UYGUNER-DEMIREL *et al.*, 2017; GOTTSCHALK *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2010; MUELLER; NOWACK, 2008). Trabalhos que testem diferentes faixas de concentração são importantes para

elucidar o comportamento de NP em diferentes cenários e as possíveis faixas de segurança em diversos ambientes.

Por outro lado, a aplicação de modelos estatísticos ao ensaio da BMP auxiliou na obtenção de parâmetros dos modelos e na caracterização do processo de digestão anaeróbica de resíduos com presença de NPsAg. O modelo logístico ajustou-se bem aos dados experimentais, fornecendo valores coerentes, tanto para os parâmetros desse modelo quanto para seus erros padrão associados. Com base na regressão linear dos parâmetros com a concentração de NPsAg, foram obtidas equações empíricas que demonstram o decréscimo nos valores dos parâmetros desse modelo com o aumento na concentração de NPsAg. As médias de produção de metano nas amostras consideradas sem NPsAg (o branco) foram maiores do que as médias de todos os reatores com NP, o que demonstra que as NPsAg afetam negativamente o processo de digestão anaeróbica de RSU.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Bonato, I. C.: Conceituação, Curadoria de Dados, Análise Formal, Investigação, Metodologia, Administração do Projeto, Recursos, *Software*, Visualização, Escrita — Primeira Redação, Escrita — Revisão e Edição. Moreira, A. J. G.: Curadoria de Dados, Análise Formal, Investigação, *Software*, Validação, Visualização, Escrita — Primeira Redação, Escrita — Revisão e Edição. Restrepo, J. J. B.: Curadoria de Dados, Análise Formal, Investigação, Metodologia, *Software*, Escrita — Primeira Redação. Franco, D.: Curadoria de Dados, Análise Formal, *Software*, Supervisão, Validação. Castilhos Junior, A. B.: Análise Formal, Obtenção de Financiamento, Metodologia, Administração do Projeto, Recursos, Supervisão, Escrita — Primeira Redação, Escrita — Revisão e Edição.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20^a ed. Washington, DC: APHA, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998. 1325 p.
- BAALOUSHA, M.; NUR, Y.; RÖMER, I.; TEJAMAYA, M.; LEAD, J.R. Effect of monovalent and divalent cations, anions and fulvic acid on aggregation of citrate-coated silver nanoparticles. *Science of The Total Environment*, v. 454-455, p. 119-131, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.093>
- BAREITHER, C.A.; WOLFE, G.L.; MCMAHON, K.D.; BENSON, C.H. Microbial diversity and dynamics during methane production from municipal solid waste. *Waste Management*, v. 33, n. 10, p. 1982-1992, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.12.013>
- BARTON, L.E.; AUFFAN, M.; DURENKAMP, M.; MCGRATH, S.; BOTTERO, J.; WIESNER, M.R. Monte Carlo simulations of the transformation and removal of Ag, TiO₂, and ZnO nanoparticles in wastewater treatment and land application of biosolids. *Science of the Total Environment*, v. 511, p. 535-543, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.056>
- BLASER, S.A.; SCHERINGER, M.; MACLEOD, M.; HUNGERBÜHLER, K. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of The Total Environment*, v. 390, n. 2-3, p. 396-409, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.010>
- BOLDRIN, A.; HANSEN, S.F.; BAUN, A.; HARTMANN, N.I.B.; ASTRUP, T. Nanowaste: business-as-usual or a new challenge for the waste industry? In: INTERNATIONAL WASTE AND LANDFILL SYMPOSIUM, 13, 2011. *Anal. L.* Cagliari, 2011.
- BOLYARD, S.C.; REINHART, D.R.; SANTRA, S. Behavior of Engineered Nanoparticles in Landfill Leachate. *Environmental Science & Technology*, v. 47, n. 15, p. 8114-8122, 2013. <https://doi.org/10.1021/es305175e>
- BOUR, A.; MOUCHET, F.; SILVESTRE, J.; GAUTHIER, L.; PINELLI, E. Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: a review. *Journal of Hazardous Materials*, v. 283, p. 764-777, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.021>
- BRITISH STANDARDS INSTITUTE (BSI). *PD 6699-2 Guide to safe handling and disposal of manufactured nanomaterials*. Reino Unido: British Standards Institute, 2007.
- BYSTRZEJEWSKA-PIOTROWSKA, G.; GOLIMOWSKI, J.; URBAN, P. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Management*, v. 29, n. 9, p. 2587-2595, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.04.001>
- CANESI, L.; CIACCI, C.; BALBI, T. Interactive effects of nanoparticles with other contaminants in aquatic organisms: Friend or foe? *Marine Environmental Research*, v. 111, p. 128-134, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.03.010>

- DWIVEDI, A.D.; DUBEY, S.P.; SILLANPÄÄ, M.; KWON, Y.; LEE, C.; VARMA, R.S. Fate of engineered nanoparticles: Implications in the environment. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 287, p. 64-78, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.12.014>
- FEI, X.; ZEKOS, D.; RASKIN, L. Archaeal community structure in leachate and solid waste is correlated to methane generation and volume reduction during biodegradation of municipal solid waste. *Waste Management*, v. 36, p. 184-190, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.10.027>
- FLORENTINO, H.O.; BISCARO, A.F.V.; PASSOS, J.R.S. Funções Sigmoidais Aplicadas na Determinação da Atividade Metanogênica Específica - AME. *Revista Brasileira de Biometria*, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 141-150, 2010.
- GALLIPOLI, A.; BRAGUGLIA, C.M.; GIANICO, A.; MONTECCHIO, D.; PAGLIACCIA, P. Kitchen waste valorization through a mild-temperature pretreatment to enhance biogas production and fermentability: kinetics study in mesophilic and thermophilic regimen. *Journal of Environmental Sciences*, v. 89, p. 167-179, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.10.016>
- GARCILASSO, V.P.; VELÁZQUEZ, S.M.; COELHO, S.T. Geração de energia elétrica a partir do biogás proveniente de aterro sanitário: estudo de caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENERGIA, 13., 2010, Rio de Janeiro. *Anais* [...]. Rio de Janeiro, 2010. p. 1249-1261.
- GOTTSCHALK, F.; LASSEN, C.; KJOELHOLT, J.; CHRISTENSEN, F.; NOWACK, B. Modeling Flows and Concentrations of Nine Engineered Nanomaterials in the Danish Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 12, n. 5, p. 5581-5602, 2015. <https://doi.org/10.3390%2Fijerph120505581>
- JU-NAM, Y.; LEAD, J.R. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of the Total Environment*, v. 400, n. 1-3, p. 396-414, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.042>
- KIM, B.; PARK, C.; MURAYAMA, M.; HOHELLA JUNIOR, M.F. Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products. *Environmental Science and Technology*, Blacksburg, v. 44, n. 19, p. 7509-7514, 2010. <https://doi.org/10.1021/es101565j>
- LABATUT, R.A.; ANGENENT, L.T.; SCOTT, N.R. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 3, p. 2255-2264, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.035>
- LYNCH, C.; WEISS, E.; VALSAMI-JONES, E. A strategy for grouping of nanomaterials based on key physico-chemical descriptors as a basis for safer-by-design NMs. *Nano Today*, v. 9, n. 3, p. 266-270, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.05.001>
- MALVERN. *Zeta size nanoseries*: User manual MANO317. Malvern: Malvern Instruments Ltd., 2004.
- MARCOUX, M.A.; MATIAS, M.; OLIVIER, F.; KECK, G. Review and prospect of emerging contaminants in waste - Key issues and challenges linked to their presence in waste treatment schemes: General aspects and focus on nanoparticles. *Waste Management*, v. 33, n. 11, p. 2147-2156, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.06.022>
- MATIAS, M.S.; MELEGARI, S.P.; VICENTINI, D.S.; MATIAS, W.G.; RICORDEL, C.; HAUCHARD, D. Synthetic wastewaters treatment by electrocoagulation to remove silver nanoparticles produced by different routes. *Journal of Environmental Management*, v. 159, p. 147-157, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.05.006>
- MUELLER, N.C.; NOWACK, B. Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment. *Environmental Science & Technology*, v. 42, n. 12, p. 4447-4453, jun. 2008. <https://doi.org/10.1021/es7029637>
- NOVAES, R.F.V. Microbiology of anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, v. 18, n. 12, p. 1-14, 1986. <https://doi.org/10.2166/wst.1986.0159>
- PINTO, D.M.C.L. *Avaliação da partida da digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos domésticos inoculados com percolado*. 176f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.
- RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, v. 27, n. 1, p. 76-83, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
- REDDY, K.R.; HETTIARACHCHI, H.; GANGATHULASI, J.; BOGNER, J.E. Geotechnical properties of municipal solid waste at different phases of biodegradation. *Waste Management*, v. 31, n. 11, p. 2275-2286, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.06.002>
- ROY, R.; KUMAR, S.; TRIPATHI, A.; DAS, M.; DWIVEDI, P.D. Interactive threats of nanoparticles to the biological system. *Immunology Letters*, v. 158, n. 1-2, p. 79-87, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2013.11.019>
- SCIPY.ORG. *Scipy.optimize.curve_fit*. The SciPy community, 2020. Disponível em: https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.optimize.curve_fit.html. Acesso em: 11 fev. 2020.
- SEO, J.Y.; KIM, M.G.; LEE, K.; LEE, Y.; NA, J.; JEON, S.G.; PARK, S.B.; OH, Y. Multifunctional Nanoparticle Applications to Microalgal Biorefinery. In: RAI, M.; SILVA, S.S. (org.). *Nanotechnology for Bioenergy and Biofuel Production*. Cham: Springer, 2017. p. 59-87.
- SILVEIRA, S.C.; MUNIZ, J.A.; SOUSA, F.A.; CAMPOS, A.T. Modelos não lineares ajustados à produção acumulada de biogás provenientes de camas sobrepostas de suínos. *Revista Agrogeoambiental*, Pouso Alegre, v. 10, n. 3, p. 91-103, 2018. <https://doi.org/10.18406/2316-1817v10n320181168>
- SINTUBIN, L.; GUSSEME, B.D.; MEEREN, P.V.D.; PYCKE, B.F.G.; VERSTRAETE, W.; BOON, N. The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 91, n. 1, p. 153-162, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3225-3>
- SONG, L.; WANG, Y.; ZHAO, H.; LONG, D.T. Composition of bacterial and archaeal communities during landfill refuse decomposition processes. *Microbiological Research*, v. 181, p. 105-111, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.04.009>
- STAMS, A.J.M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 66, p. 271-294, 1994. <https://doi.org/10.1007/bf00871644>
- STANLEY, S. Biological nanoparticles and their influence on organisms. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 28, p. 69-74, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.11.014>
- UYGUNER-DEMIREL, C.S.; DEMIREL, B.; COPTY, N.K.; ONAY, T.T. Presence, Behavior and Fate of Engineered Nanomaterials in Municipal Solid Waste Landfills. In: LOFRANO, G.; LIBRALATO, G.; BROWN, J. (org.). *Nanotechnologies for Environmental Remediation: applications and implications*. Cham: Springer, 2017. p. 1-325.

VAZOLLER, R.F. *Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas*. 259f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.

YANG, Y.; CHEN, Q.; WALL, J.D.; HU, Z. Potential nanosilver impact on anaerobic digestion at moderate silver concentrations. *Water Research*, v. 46, n. 4, p. 1176-1184, 2012a. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.024>

YANG, Y.; GAJARAJ, S.; WALL, J.D.; HU, Z. A comparison of nanosilver and silver ion effects on bioreactor landfill operations and methanogenic population dynamics. *Water Research*, v. 47, n. 10, p. 3422-3430, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.040>

YANG, Y.; GUO, J.; HU, Z. Impact of nano zero valent iron (NZVI) on methanogenic activity and population dynamics in anaerobic digestion.

Water Research, v. 47, n. 17, p. 6790-6800, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.09.012>

YANG, Y.; XU, M.; WALL, J.D.; HU, Z. Nanosilver impact on methanogenesis and biogas production from municipal solid waste. *Waste Management*, v. 32, n. 5, p. 816-825, 2012b. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.01.009>

ZHANG, C.; HU, Z.; LI, P.; GAJARAJ, S. Governing factors affecting the impacts of silver nanoparticles on wastewater treatment. *Science of Total Environment*, v. 572, p. 852-873, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.145>

ZHANG, Y.; CHEN, Y.; WESTERHOFF, P.; CRITTENDEN, J. Impact of natural organic matter and divalent cations on the stability of aqueous nanoparticles. *Water Research*, v. 43, n. 17, p. 4249-4257, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.005>

