

Requisitos para medição e validação do potencial bioquímico de metano (PBM)*

Christof Holliger, Hélène Fruteau de Laclos, Sasha D. Hafner,
Konrad Koch, Sören Weinrich, Sergi Astals, Madalena Alves,
Diana Andrade, Irini Angelidaki, Lise Appels, Samet Azman,
Alexandre Bagnoud Urs Baier, Yadira Bajon Fernandez, Jan Bartacek,
Federico Battista, David Bolzonella, Claire Bougrier, Camilla Braguglia,
Pierre Buffière, Marta Carballa, Arianna Catenacci, Vasilis Dandikas,
Fabian de Wilde, Sylvanus Ekwe, Elena Ficara, Ioannis Fotidis,
Jean-Claude Frigon, Agata Gallipoli, Jörn Heerenklage, Pavel Jenicek,
Judith Krautwald, Ralph Lindeboom, Jing Liu, Javier Lizasoain,
Rosa Marchetti, Florian Monlau, Mihaela Nistor, Hans Oechsner,
João Vítor Oliveira, André Pauss, Sébastien Pommier, Francisco Raposo,
Thierry Ribeiro, Christian Schaum, Els Schuman, Sebastian Schwede,
Mariangela Soldano, Anton Taboada, Michel Torrijos, Miriam van Eekert,
Jules van Lier, Isabella Wierinck

16 de março de 2021

Documento número 100. Esta é uma tradução para o português (do Brasil) por Heleno Quevedo de Lima do documento em inglês (versão 1.9). Em caso de dúvida, o documento em inglês prevalece sobre esta tradução. Este documento faz parte da coleção de métodos PBM padrão.[†]

* Citação recomendada: Holliger, C.; Fruteau de Laclos, H.; Hafner, S.D.; Koch, K.; Weinrich, S.; Astals, S.; et al. Requirements for Measurement and Validation of Biochemical Methane Potential (BMP). Standard BMP Methods document 100, version 1.9. Available online: <https://www.dbfz.de/en/BMP> (accessed on February 24, 2021).

Ou consulte <https://www.dbfz.de/en/BMP> para um arquivo BibTeX que pode ser importado para o software de gerenciamento de citações.

[†]Para mais informações e outros documentos, visite <https://www.dbfz.de/en/BMP>. Para o histórico da versão do documento ou para propor alterações, visite <https://github.com/sashahafner/BMP-methods>.

1 Introdução

Este documento apresenta os requisitos mínimos para medição e validação do potencial bioquímico do metano (também chamado de potencial do biometano) (PBM). Este documento representa o consenso de mais de 50 pesquisadores em digestão anaeróbia. A lista de requisitos é a mesma da publicação em acesso aberto de [Holliger et al. \[2021\]](#). Para obter detalhes sobre o desenvolvimento desses requisitos, consulte os documentos de acesso aberto [Holliger et al. \[2016\]](#) e [Hafner et al. \[2020c\]](#).

2 Requisitos para medição do PBM

2.1 Análise do substrato e inóculo

O conteúdo de sólidos voláteis (SV) do inóculo e do substrato é necessário para determinar a relação inóculo/substrato (I/S) e para o cálculo do PBM. Para detalhes sobre as medições dos sólidos totais (ST) e SV podem ser encontrados no documento da US EPA (incluindo um documento gratuito detalhado da US EPA [\[EPA, 2001\]](#), bem como [Strach \[2020\]](#) e [Baird et al. \[2017\]](#)).

1. Sólidos Totais (ST). Determine a massa do inóculo e de todos os substratos após a secagem a 105°C em triplicata. O ST é necessário apenas para determinação do conteúdo de sólidos voláteis (SV).
2. Sólidos voláteis (SV). Determine a massa do inóculo e de todos os substratos após calcinação da amostra seca a 550 °C em triplicata. O SV é determinado a partir da perda de massa.

2.2 Configuração e duração do teste

1. Amostras. Todos os ensaios do PBM devem incluir três tipos de amostras: lotes com apenas inóculo (“brancos”), com inóculo e celulose microcristalina como controle positivo¹, e com inóculo e substrato.
2. Replicação. Todos os testes devem incluir pelo menos 3 lotes (frascos) para cada condição.² O número mínimo de lotes usados em um teste do PBM com um substrato é, portanto, 9 (3 brancos, 3 celulose, 3 substrato).
3. Duração. Encerre os testes de PBM somente após a produção diária de CH₄ dos lotes individuais, em 3 dias consecutivos, ser < 1,0 % do volume

¹Outros substratos de controle positivo poderiam ser usados no futuro [\[Koch et al., 2020\]](#), mas apenas a celulose teve testes extensivos que foram usados para desenvolver os critérios de validação descritos abaixo na Seção 4 [\[Hafner et al., 2020c\]](#).

²Se um frasco é perdido, por exemplo, quebra, resultando em $n = 2$ para qualquer condição, os resultados não podem ser validados. Portanto, é prudente incluir 4 réplicas, especialmente para o branco. Os valores discrepantes podem ser eliminados se houver um bom motivo para suspeitar que houve um erro na medição (por exemplo, vazamento), mas o número restante de repetições deve ser pelo menos 3.

líquido acumulado de metano do substrato (lote de substrato menos a média de brancos). Para métodos manuais ou outros onde as medições não são feitas todos os dias, a rescisão pode ocorrer no final do primeiro intervalo de medição de pelo menos 3 dias, onde a taxa de produção cai abaixo do máximo de 1% (ou dois ou mais intervalos dessa soma a pelo menos 3 dias, todos com taxas abaixo do máximo de 1%). Se substratos diferentes forem testados, cada substrato pode ser encerrado quando o mais lento dos 3 lotes replicados atingir o critério de encerramento. Os brancos devem continuar enquanto for o lote mais lento (mais recente) com substrato. A continuação dos testes além desta duração líquida de 1% é aceitável e pode ajudar a garantir que os critérios de validação sejam atendidos (Seção 4).

3 Cálculos

1. Processamento de dados. O volume CH_4 padronizado (seco, 0 °C, 101,325 kPa) é calculado a partir de dados de laboratório usando métodos padronizados.³
2. Unidades PBM. O PBM é expresso em volume CH_4 padronizado (seco, 0°C, 101,325 kPa, referido como volume “normal”) por unidade de massa de matéria orgânica de substrato adicionada (normalmente SV, mas às vezes demanda química de oxigênio (DQO)) (geralmente escrito como $\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{ gSV}^{-1}$).
3. Cálculo do PBM. O PBM de todos os substratos (incluindo celulose) é calculado subtraindo a produção de inóculo CH_4 (determinado a partir do branco) da produção bruta (total) de CH_4 do substrato com o inóculo e normalizando pela massa de SV do substrato. Quaisquer diferenças na massa do inóculo ou do substrato, entre os lotes, devem ser refletidas nos cálculos. Os cálculos devem seguir uma abordagem padronizada.⁴
4. Cálculo do desvio padrão do PBM. O desvio padrão associado a cada valor PBM médio ($n \geq 3$) deve incluir a variabilidade de ambos os brancos e lotes (frascos) com substrato e inóculo, junto com a incerteza na massa de SV do substrato adicionado.⁵

³Descrições detalhadas dos cálculos estão disponíveis para os seguintes métodos de medição na coleção de Métodos PBM Padrão (<https://www.dbfz.de/en/BMP>): volumétrico (documento 201) [Hafner et al., 2020f], manométrico (documento 202) [Hafner et al., 2020a], gravimétrico (documento 203) [Hafner et al., 2020g], e densidade do gás (documento 204) [Hafner et al., 2020d].

⁴O cálculo do PBM é descrito em detalhes no documento 200 [Hafner et al., 2020b].

⁵Veja o documento 200 [Hafner et al., 2020b].

4 Critérios de validação

Os resultados do PBM que atendem *todos* os seguintes critérios podem ser descritos como “validados”.⁶ Caso contrário, os resultados não são validados e os testes devem ser repetidos.

1. Todos os componentes necessários do protocolo de medição do PBM listados acima (Seção 2) são atendidos (incluindo duração) e os cálculos são feitos conforme descrito acima (Seção 3).
2. A média do PBM da celulose está entre 340 e 395 NmL_{CH₄} gSV⁻¹.
3. O desvio padrão relativo para o PBM de celulose (desvio padrão, incluindo variabilidade nos brancos, nos frascos de substrato e SV do substrato adicionado, dividido pelo PBM médio) não é superior a 6%.

Referências

- R. B. Baird, A. D. Eaton, and E. W. Rice. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Water Works Association, 2017. ISBN 978-1-62576-240-5.
- EPA. Method 1684 Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids. Technical Report EPA-821-R-01-015, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division (4303), Washington DC, 2001. URL https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_1684_draft_2001.pdf.
- S. D. Hafner, S. Astals, P. Buffiere, N. Løjborg, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Manometric Measurements. Standard BMP Methods document 202, version 2.5., 2020a. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Biochemical Methane Potential (BMP). Standard BMP Methods document 200, version 1.6., 2020b. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, H. Fruteau de Laclos, K. Koch, and C. Holliger. Improving inter-laboratory reproducibility in measurement of biochemical methane potential (BMP). *Water*, 12(6):1752, June 2020c. doi: 10.3390/w12061752. URL <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/6/1752>.

⁶Os critérios listados acima estão duplicados no documento 101 [Hafner et al., 2020e], que foi desenvolvido para simplificar e facilitar a localização desses critérios necessários.

- S. D. Hafner, C. Justesen, R. Thorsen, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Gas Density-Based Measurements. Standard BMP Methods document 204, version 1.5., 2020d. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, K. Koch, H. Fruteau de Laclos, and C. Holliger. Validation criteria for measurement of biochemical methane potential (BMP). Standard BMP Methods document 101, version 1.0., 2020e. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, N. Løjborg, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Volumetric Measurements. Standard BMP Methods document 201, version 1.5., 2020f. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, B. K. Richards, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Gravimetric Measurements. Standard BMP Methods document 203, version 1.0., 2020g. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- C. Holliger, M. Alves, D. Andrade, I. Angelidaki, S. Astals, U. Baier, C. Bougrier, P. Buffière, M. Carballa, V. de Wilde, F. Ebertseder, B. Fernández, E. Ficara, I. Fotidis, J.-C. Frigon, H. Fruteau de Laclos, D. S. M. Ghasimi, G. Hack, M. Hartel, J. Heerenklage, I. Sarvari Horvath, P. Jenicek, K. Koch, J. Krautwald, J. Lizasoain, J. Liu, L. Mosberger, M. Nistor, H. Oechsner, J. V. Oliveira, M. Paterson, A. Pauss, S. Pommier, I. Porqueddu, F. Raposo, T. Ribeiro, F. Rüsch Pfund, S. Strömberg, M. Torrijos, M. van Eekert, J. van Lier, H. Wedwitschka, and I. Wierinck. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11):2515–2522, 2016. doi: 10.2166/wst.2016.336.
- C. Holliger, S. Astals, H. F. de Laclos, S. D. Hafner, K. Koch, and S. Weinrich. Towards a standardization of biomethane potential tests: A commentary. *Water Science and Technology*, 83(1):247–250, 2021. ISSN 0273-1223. doi: 10.2166/wst.2020.569. URL <https://doi.org/10.2166/wst.2020.569>.
- K. Koch, S. D. Hafner, S. Astals, and S. Weinrich. Evaluation of Common Supermarket Products as Positive Controls in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests. *Water*, 12(5):1223, May 2020. doi: 10.3390/w12051223. URL <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/5/1223>.
- K. Strach. Determination of total solids (dry matter) and volatile solids (organic dry matter). In J. Liebetrau and D. Pfeiffer, editors, *Collection of Methods for Biogas*, volume 7 of *Biomass Energy Use*. DBFZ, Leipzig, Germany, second edition, 2020. URL <https://www.dbfz.de/projektseiten/chinares/downloads/>.