



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL
(SANEAMENTO AMBIENTAL)

NAASSOM WAGNER SALES MORAIS

USO DE MATERIAIS CONDUTORES NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

FORTALEZA

2025

NAASSOM WAGNER SALES MORAIS

**USO DE MATERIAIS CONDUTORES NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (Recursos Hídricos), do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M826u Morais, Naassom Wagner Sales.
 Uso de materiais condutores no tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura / Naassom Wagner Sales Morais. – 2025.
 231 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Recursos Hídricos, Fortaleza, 2025.
 Orientação: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.
1. Transferência direta de elétrons interespécies. 2. Carvão ativado granular. 3. Ferro de valência zero. 4. Nanomagnetita. 5. Óxido de grafeno. I. Título.

CDD 627

NAASSOM WAGNER SALES MORAIS

**USO DE MATERIAIS CONDUTORES NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA
RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (Recursos Hídricos), do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Aprovada em: 29/01/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Tito Augusto Gehring
Ruhr-Universität Bochum (RUB, Alemanha)

Prof. Dr. Sergio Francisco de Aquino
Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Profª. Dra. Giovana Tommaso
Universidade de São Paulo (USP)

Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao meu Deus, meu amado Pai Celestial. O único que é digno de receber a glória, a honra e o poder. À minha amada mãe, Elma Sales Morais (*in memoriam*), e ao meu amigo e professor Erlon Lopes Pereira (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, meu amado Pai Celestial, e ao meu Senhor e Salvador Jesus Cristo. Dou graças por seu amor imensurável, por seu sacrifício na cruz, por ter me escolhido como filho antes da fundação do mundo e por ter me predestinado para o louvor da glória de sua graça.

Agradeço a meu pai Wagner Luiz da Silva Moraes que não mediu esforços em minha criação e me deu todo suporte necessário para que eu me dedicasse a carreira acadêmica. Agradeço à minha mãe Elma Sales Moraes (*in memoriam*) que me deu a vida e a quem estou ligado por toda a eternidade. Agradeço ao meu irmão, Nathanael Wagner Sales Moraes, que é um exemplo de dedicação à carreira acadêmica e muito me encorajou a seguir este caminho.

Agradeço ao meu orientador professor Dr. André Bezerra dos Santos que sempre me apoiou e demonstrou incontestável confiança em mim. Não tenho palavras suficientes para descrever minha gratidão e meu apreço a ele.

Agradeço aos meus alunos de Iniciação Científica, Marcos Vinícius Domingos Araújo da Silva, Rennan Guthierrez Nunes do Nascimento e Valdemiro Matsumura de Sousa, e aos meus amigos e colegas de laboratório, Amanda Lima Moraes dos Santos, Amanda de Sousa e Silva, Tiago Rocha Nogueira, Isabele Clara Cavalcante Malveira e Bianca Holanda Albano Girão; sem eles o caminho até aqui teria sido muito mais difícil e minha pesquisa com certeza não teria sido realizada com êxito. Agradeço a minha amiga Hadassa Mendes Macêdo por ter confeccionado as figuras de minha tese.

Agradeço a meu amigo Erlon Lopes Pereira (*in memoriam*) que me faz muita falta e sem ele eu não teria concluído meu mestrado e nem teria forças para prosseguir a vida acadêmica. Impactou minha vida e me tornou uma pessoa melhor.

Agradeço à Universidade Federal do Ceará (UFC), junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (Recursos Hídricos), pela estrutura concedida para realização do meu trabalho de doutorado. Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) em ETes Sustentáveis pelo financiamento de bolsas de pesquisa, projetos de pesquisa, manutenção de laboratórios e a outras fontes de renda que tornaram esta pesquisa possível.

RESUMO

A suinocultura é de suma importância para a economia global e brasileira. No entanto, essa atividade possui como passivo ambiental a geração de águas residuárias de suinocultura (ARS), as quais possuem elevada carga poluente, sendo indispensável seu tratamento antes de sua disposição final. Nesse contexto, a digestão anaeróbia (DA) é um bioprocessos que permite o tratamento adequado desse efluente aliado com a recuperação de metano (CH_4), um valioso recurso energético. A aplicação de mediadores redox insolúveis (MRIs), também denominados de materiais condutores (MCs) de elétrons, na DA de resíduos orgânicos é uma estratégia pujante para aumentar a produção de CH_4 , pois estimula a sintrofia microbiana e os processos de transferência direta e indireta de elétrons interespecies. Entretanto, a utilização desses materiais no tratamento anaeróbio da ARS, visando acelerar e aumentar a produção de CH_4 , foi pouco explorado em pesquisas científicas. Portanto, este trabalho avaliou o uso de MCs, como óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita (OG- Fe_3O_4), carvão ativado granular (CAG), ferro de valência zero (FeVZ), nanomagnetita (Fe_3O_4) e as associações Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG, no tratamento anaeróbio de ARS, avaliando parâmetros cinéticos que governam a produção de CH_4 , analisando as alterações nas comunidades microbianas e discutindo os principais mecanismos de transferência de elétrons promovidos por esses materiais. Os ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foram conduzidos em reatores de vidro com 300 mL de volume total operando em regime de batelada sob temperatura mesofílica de 37 °C ou termofílica de 55 °C e agitação orbital de 150 rpm. A ARS foi utilizada como substrato, e biomassas não adaptadas ao tratamento anaeróbio desse efluente foram utilizadas como inóculos. Os MCs foram adicionados nas seguintes concentrações: 3,0 e 150,0 mg L⁻¹ para OG- Fe_3O_4 e 0,4, 2,0 e 4,0 g L⁻¹ para CAG, FeVZ e Fe_3O_4 . As doses de MCs foram limitadas à concentração de inóculo (sólidos suspensos voláteis) aplicada aos reatores. Referente ao impacto do OG- Fe_3O_4 no tratamento anaeróbio de ARS: o OG- Fe_3O_4 (150,0 mg L⁻¹) tornou a DA mais eficiente, aumentando o PBM e a eficiência de remoção de matéria orgânica em 17,2% e 12,6%, respectivamente. Esse aditivo também acelerou a velocidade de produção de CH_4 (k) em 31,9%, diminuiu em 25,6% o tempo de adaptação dos microrganismos ao substrato (fase lag - λ), e aumentou a taxa máxima de geração de CH_4 (μ) em 32,3%. *Chloroflexi* e *Methanobacterium beijingense* foram os principais microrganismos enriquecidos por esse aditivo. Os potenciais parceiros de Transferência Direta de Elétrons Interespecies (TDEI) foram as bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi* e as bactérias *Clostridium sensu stricto 1* (filo *Firmicutes*) com as arqueias metanogênicas *Methanobacterium beijingense* e *Methanothrix*

soehngenii. Acerca do feito da aplicação de CAG, FeVZ e Fe₃O₄ na metanização da ARS verifica-se que o CAG (4,0 g L⁻¹) foi o material que mais beneficiou a cinética metanogênica, promovendo ausência de fase *lag* e elevando em 52,9% e em 63,6% o *k* e o μ , respectivamente. O FeVZ (4,0 g L⁻¹) foi o material que mais aumentou o PBM (+15,2%) e o teor de CH₄ no biogás (+13,5%). A Fe₃O₄ (4,0 g L⁻¹) também aperfeiçoou a cinética metanogênica, aumentando o μ em 52,6% e o *k* em 37,7%. Os gêneros bacterianos *Clostridium sensu stricto* 1, *Mesotoga*, *Longilinea* e JGI-0000079-D21 foram enriquecidos na presença dos MCs e foram classificados como os potenciais parceiros de TDEI das arqueias *Methanotherix soehngenii*. No que tange à influência de MCs na DA de ARS, verifica-se que o desempenho dos digestores mesofílicos e termofílicos foi aperfeiçoado, mesmo em diferentes razões substrato inóculo (RSI). Na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) em RSI 0,5, o CAG foi melhor em otimizar a cinética de metanização, elevando em 29,9% o *k* e reduzindo o tempo de digestão técnica (T80) em 15,9%. Enquanto isso, o FeVZ foi o material que mais aumentou o PBM (+19,4%), o μ (+40,5%) e o teor de CH₄ no biogás (+22,1%). Em RSI 2,0, o CAG destacou-se dentre os demais materiais, promovendo acréscimos de 11%, 10,2% e 26,3% no PBM, *k* e μ , respectivamente, além de reduzir o T80 em 7,0%. Nos ensaios termofílicos em RSI 0,5, o FeVZ aumentou o PBM, o Y₁, o teor de CH₄ e o μ em 22,6%, 23,6%, 20,0% e 35,5%, nessa ordem; enquanto isso, o CAG e as combinações propiciaram melhor desempenho cinético. Na digestão anaeróbia termofílica (DAT) em RSI 2,0, a Fe₃O₄, o FeVZ e as combinações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG obtiveram melhor desempenho. A Fe₃O₄, por exemplo, elevou o PBM (+32,2%), o Y₁ (+30,1%), o teor de CH₄ (+1,9%), o μ (+38,9%) e reduziu o T80 em 4,3%. Os aditivos enriqueceram bactérias e arqueias participantes de TDEI, aumentando e acelerando a produção de CH₄. *Methanotherix soehngenii* dominou a DAM e *Methanolinea tarda* e *Methanosarcina thermophila* prevaleceram na DAT. Na DAM, a metanogênese acetoclástica deve ter sido a principal rota de síntese de CH₄, ao passo que a metanogênese hidrogenotrófica tornou-se preponderante na DAT. A metanogênese metilotrófica, associada a presença *Candidatus Methanomethylicus*, foi estimulada na DAT. Conclui-se que a adição de MCs em doses relativamente baixas em comparação com outros estudos reportados na literatura técnica e em doses limitadas à concentração de biomassa presente nos reatores foi suficiente para otimizar o tratamento anaeróbio da ARS a partir de inóculos não adaptados a degradação desse substrato.

Palavras-chave: Carvão ativado granular; Digestão anaeróbia mesofílica; Digestão anaeróbia termofílica; Ferro de valência zero; Nanomagnetita; Óxido de grafeno; Transferência direta de elétrons interespecies.

ABSTRACT

Pig farming is of utmost importance for the global and Brazilian economies. However, this activity has an environmental liability for generating swine wastewater (SW), which has a high pollutant load, making its treatment essential before its final disposal. In this context, anaerobic digestion (AD) is a bioprocess that allows the adequate treatment of this effluent combined with the recovery of methane (CH_4), a valuable energy resource. Applying insoluble redox mediators (IRMs), also called electron conductive materials (ECMs), in the AD of organic waste is a powerful strategy to increase CH_4 production, as it stimulates microbial syntrophy and the processes of direct and indirect interspecies electron transfer. However, the use of these materials in the anaerobic treatment of SW, aiming to accelerate and increase CH_4 production, has been little explored in scientific research. Therefore, this work evaluated the use of ECMs, graphene oxide functionalized with nano-magnetite ($\text{GO-Fe}_3\text{O}_4$), granular activated carbon (GAC), zero-valent iron (ZVI), nano-magnetite (Fe_3O_4), and the associations Fe_3O_4 +GAC and ZVI+GAC in the anaerobic treatment of SW, evaluating kinetic parameters that govern CH_4 production, analyzing changes in microbial communities, and discussing the main electron transfer mechanisms promoted by these materials. The Biochemical Methane Potential (BMP) tests were conducted in glass reactors with 300 mL of total volume operating in batch mode at a mesophilic temperature of 37 °C or thermophilic 55 °C and orbital agitation of 150 rpm. SW was used as a substrate, and biomasses not adapted to the anaerobic treatment of this effluent were used as inocula. ECMs were added at the following concentrations: 3.0 and 150.0 mg L⁻¹ for $\text{GO-Fe}_3\text{O}_4$ and 0.4, 2.0, and 4.0 g L⁻¹ for GAC, ZVI, and Fe_3O_4 . ECMs doses were limited to the inoculum concentration (volatile suspended solids) applied to the reactors. Regarding the impact of $\text{GO-Fe}_3\text{O}_4$ on the anaerobic treatment of SW, $\text{GO-Fe}_3\text{O}_4$ (150.0 mg L⁻¹) made DA more efficient, increasing the BMP and the organic matter removal efficiency by 17.2% and 12.6%, respectively. This additive also accelerated the CH_4 production rate (k) by 31.9%, decreased the adaptation time of microorganisms to the substrate (*lag* phase - λ) by 25.6%, and increased the maximum CH_4 generation rate (μ) by 32.3%. *Chloroflexi* and *Methanobacterium beijingense* were the main microorganisms enriched by this additive. The potential Direct Interspecies Electron Transfer (DIET) partners were bacteria belonging to the *phylum Chloroflexi* and the bacteria *Clostridium sensu stricto 1* (*phylum Firmicutes*) with the methanogenic archaea *Methanobacterium beijingense* and *Methanotherix soehngenii*. Regarding the application of GAC, ZVI, and Fe_3O_4 in the SW methanization, GAC (4.0 g L⁻¹) was the material that most benefited the methanogenic kinetics, promoting the absence of a *lag* phase

and increasing k and μ by 52.9% and 63.6%, respectively. ZVI (4.0 g L^{-1}) was the material that most increased BMP (+ 15.2%) and CH_4 content in biogas (+ 13.5%). Fe_3O_4 (4.0 g L^{-1}) also improved methanogenic kinetics, increasing μ by 52.6% and k by 37.7%. However, doses higher than $0.4 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$ did not produce additional positive impacts on BMP. The bacterial genera *Clostridium sensu stricto* 1, *Mesotoga*, *Longilinea*, and *JGI-0000079-D21* were enriched in the presence of ECMs and were classified as potential DIET partners of the archaea *Methanotherix soehngenii*. Regarding the influence of EMCs on the AD of SW, it appears that the performance of mesophilic and thermophilic digesters was improved, even at different inoculum substrate ratios (SIR). In mesophilic anaerobic digestion (MAD) at SIR 0.5, GAC was more successful in optimizing methanization kinetics, increasing k by 29.9% and reducing technical digestion time (T80) by 15.9%. Meanwhile, ZVI was the material that most increased BMP (+19.4%), μ (+40.5%), and CH_4 content in biogas (+22.1%). At SIR 2.0, GAC stood out among the other materials, promoting increases of 11%, 10.2%, and 26.3% in BMP, k , and μ , respectively, and reducing T80 by 7.0%. In thermophilic tests at SIR 0.5, ZVI increased BMP, Y_1 , CH_4 content, and μ by 22.6%, 23.6%, 20.0%, and 35.5%, in that order, while GAC and the combinations provided a better kinetic performance. In thermophilic anaerobic digestion (TAD) at SIR 2.0, Fe_3O_4 , ZVI, and the combinations Fe_3O_4 +CAG and ZVI+GAC obtained the best performance. Fe_3O_4 , for example, increased BMP (+32.2%), Y_1 (+30.1%), CH_4 content (+1.9%), μ (+38.9%), and reduced T80 by 4.3%. The additives enriched bacteria and archaea participating in DIET, increasing, and accelerating CH_4 production. *Methanotherix soehngenii* dominated the MAD, and *Methanolinea tarda* and *Methanosarcina thermophila* prevailed in the TDA. In MAD, acetoclastic methanogenesis must have been the main route of CH_4 synthesis, while in TAD, hydrogenotrophic methanogenesis became predominant. Methylophilic methanogenesis, associated with the presence of *Candidatus Methanomethylicus*, was stimulated in TAD. It is concluded that the addition of ECMs at relatively low doses compared to other studies reported in the technical literature and at doses limited to the biomass concentration present in the reactors was sufficient to optimize the anaerobic treatment of SW from inocula not adapted to the degradation of this substrate.

Keywords: Direct interspecies electron transfer; Granular activated carbon; Graphene oxide; Mesophilic anaerobic digestion; Nano-magnetite; Thermophilic anaerobic digestion; Zero-valent iron.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas da digestão anaeróbia e processos de transferência de elétrons.....	25
Figura 2 – Mecanismos de transferência de elétrons na digestão anaeróbia.....	27
Figura 3 – Resumo Gráfico.	34
Figura 4 – Materiais de Grafeno.	39
Figura 5 – Delineamento experimental dos ensaios de PBM e de AME.	45
Figura 6 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético no primeiro ciclo do teste de PBM.	51
Figura 7 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético no segundo e no terceiro ciclos do teste de PBM.	53
Figura 8 – Concentração de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e suas frações (polissacarídeos - PS e proteínas - PN) nos lodos avaliados.	58
Figura 9 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.	59
Figura 10 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana.	61
Figura 11 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal.....	66
Figura 12 – Redução biológica de óxido de grafeno a óxido de grafeno reduzido e mecanismos de transferência direta de elétrons interespecies.....	67
Figura 13 – Resumo Gráfico.	76
Figura 14 – Mecanismos de transferência de elétrons na digestão anaeróbia.	81
Figura 15 – Delineamento experimental dos ensaios de PBM.	85
Figura 16 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos nos dois ciclos do teste de PBM.	89
Figura 17 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao1) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.	108
Figura 18 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana ao nível de Filo, Classe e Gênero.....	111
Figura 19 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal ao nível de Filo, Gênero e Espécie.....	117
Figura 20 – Curvas cumulativas de metano do teste PBM.....	119
Figura 21 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pelo CAG.	121
Figura 22 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pelo FeVZ.	122
Figura 23 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pela Fe ₃ O ₄	123

Figura 24 – Micrografia MEV do CAG x 100 (A); x 500 (B); x 1000 (C).	125
Figura 25 – Micrografia MEV do FeVZ x 500 (A); x 1000 (B); x 5000 (C).	126
Figura 26 – Micrografia MEV da Fe ₃ O ₄ x 5000 (A); x 10000 (B) e x 20000 (C).	127
Figura 27 – Resumo Gráfico.	132
Figura 28 – Delineamento experimental do teste de PBM.	141
Figura 29 – CCMs experimentais e geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos do teste de PBM mesofílico e termofílico em RSI 0,5 (curva média).....	148
Figura 30 – CCMs experimentais e geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos do teste de PBM mesofílico e termofílico em RSI 2,0 (curva média).....	155
Figura 31 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao1) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.	162
Figura 32 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana ao nível de Filo e Gênero.	165
Figura 33 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal ao nível de Filo e Gênero.	173
Figura 34 – Interações sintróficas de degradação de matéria orgânica, de produção de metano e de transferência extracelular de elétrons estimuladas pelos aditivos condutores na digestão anaeróbia mesofílica da água residuária de suinocultura.	174
Figura 35 – Interações sintróficas de degradação de matéria orgânica, de produção de metano e de transferência extracelular de elétrons estimuladas pelos aditivos condutores na digestão anaeróbia termofílica da água residuária de suinocultura.	178

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao primeiro ciclo (valores médios).	47
Tabela 2 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao segundo ciclo (valores médios).	53
Tabela 3 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao terceiro ciclo (valores médios).	55
Tabela 4 – Parâmetros utilizados para verificar a estabilidade dos digestores anaeróbios em cada ciclo de tratamento da ARS.	56
Tabela 5 – Caracterização físico-química e microbiológica da ARS (<i>in natura</i>).	69
Tabela 6 – Equações utilizadas no cálculo do balanço de massa e de rendimentos.	72
Tabela 7 – Descrição teórica e equação dos modelos matemáticos aplicados no estudo cinético da produção de metano.	72
Tabela 8 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com OG-Fe ₃ O ₄	74
Tabela 9 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de CAG (valores médios).	91
Tabela 10 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de FeVZ (valores médios).	97
Tabela 11 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de Fe ₃ O ₄ (valores médios).	104
Tabela 12 – Impacto dos aditivos nas principais variáveis-resposta do teste de PBM.	120
Tabela 13 – Equações de rendimentos e fórmulas dos modelos matemáticos de produção.	128
Tabela 14 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com CAG.	128
Tabela 15 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com FeVZ.	129

Tabela 16 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com Fe ₃ O ₄	129
Tabela 17 – Valores de pH iniciais e finais para cada ciclo de tratamento da ARS.	130
Tabela 18 – Caracterização dos inóculos utilizados nos ensaios metanogênicos.....	138
Tabela 19 – Rendimentos de produção de metano, parâmetros cinéticos e composições de biogás referentes aos ensaios mesofílicos e termofílicos realizados em razão substrato inóculo (RSI) 0,5 (valores médios).	146
Tabela 20 – Rendimentos de produção de metano, parâmetros cinéticos e composições de biogás referentes aos ensaios mesofílicos e termofílicos realizados em razão substrato inóculo (RSI) 2,0 (valores médios).	153
Tabela 21 – Concentração de ácidos graxos voláteis em cada grupo de reatores ao final do teste de PBM (valores médios).	157
Tabela 22 – Parâmetros utilizados para verificar a estabilidade dos digestores anaeróbios mesofílicos e termofílicos.....	160
Tabela 23 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe ₃ O ₄ e das associações Fe ₃ O ₄ +CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) da água residuária de suinocultura (ARS).....	175
Tabela 24 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe ₃ O ₄ e das associações Fe ₃ O ₄ +CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia termofílica (DAT) da água residuária de suinocultura (ARS).	179
Tabela 25 – Equações do balanço de massa, dos rendimentos de remoção e produção e fórmulas dos modelos matemáticos de produção.....	183
Tabela 26 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM em RSI 0,5.....	185
Tabela 27 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM em RSI 2,0.....	186
Tabela 28 – Composição das comunidades microbianas (abundância relativa) em nível taxonômico de domínio.....	187
Tabela 29 – Impactos percentuais dos materiais condutores nos parâmetros de eficiência e de cinética dos testes de potencial bioquímico de metano em relação aos reatores de controle.	192

Tabela 30 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre o efeito do OG-Fe ₃ O ₄ no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura (ARS).	193
Tabela 31 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre o impacto de CAG, FeVZ e Fe ₃ O ₄ no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura (ARS).	194
Tabela 32 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe ₃ O ₄ e das associações Fe ₃ O ₄ +CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) da água residuária de suinocultura (ARS).	195
Tabela 33 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe ₃ O ₄ e das associações Fe ₃ O ₄ +CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia termofílica (DAT) da água residuária de suinocultura (ARS).	196

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AIC	Critério de Informação de Akaike
AMAs	Arqueias Metanogênicas Acetoclásticas
AME	Atividade Metanogênica Específica
AMHs	Arqueias Metanogênicas Hidrogenotróficas
AMMs	Arqueias Metanogênicas Metilotróficas
ANOVA	Análise de variância
APHA	American Public Health Association
ARAs	Águas Residuárias Agroindustriais
ARS	Água Residuária de Suinocultura
ASE	Área de Superfície Específica
BMA	Balanço de Massa
BMs	Biomassas Mesofílicas
Br ⁻	Brometo
BRF	Bactérias Redutoras de Ferro
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
BSOA	Bactérias Sintróficas Oxidantes de Acetato
BSOP	Bactérias Sintróficas Oxidantes de Propionato
BSOB	Bactérias Sintróficas Oxidantes de Butirato
BTs	Biomassas Termofílicas
C/N	Relação carbono/nitrogênio
CA	Carvão Ativado
CAG	Carvão Ativado Granular
CAP	Carvão Ativado em Pó
CCMs	Curvas Cumulativas de Metano
CE	Condutividade Elétrica
CH ₂ O ₂	Ácido Fórmico
C ₂ H ₄ O ₂	Ácido Acético
C ₃ H ₆ O ₂	Ácido Propiônico
C ₄ H ₈ O ₂	Ácido Butírico
C ₅ H ₁₀ O ₂	Ácido Valérico

CH ₃ COO ⁻	Acetato
CH ₄	Metano
Cl ⁻	Cloreto
CNTP	Condições Normais de Temperatura e Pressão
CO ₂	Dióxido de Carbono
CPTP	Condições Padrão de Temperatura e Pressão
DA	Digestão Anaeróbia
DAM	Digestão Anaeróbia Mesofílica
DAT	Digestão Anaeróbia Termofílica
DBO _P	Demanda Bioquímica de Oxigênio Particulada
DBO _S	Demanda Bioquímica de Oxigênio Solúvel
DBO _T	Demanda Bioquímica de Oxigênio Total
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DQO/DBO	Relação DQO/DBO
DQO _{AGVs}	Massa de DQO de AGVs efluente
DQO _{aplicada}	Massa de DQO total aplicada no reator
DQO _{CH4}	Massa de DQO removida por produção de metano
DQO _P	Demanda Química de Oxigênio Particulada
DQO _{removida}	Massa de DQO removida do sistema
DQO _S	Demanda Química de Oxigênio Solúvel
DQO _{Sed+SSV}	Massa de DQO sedimentada e direcionada para crescimento celular
DQO _T	Demanda Química de Oxigênio Total
DRX	Difração de Raio-X
EFRX	Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios-X
e-pili	Pili eletricamente condutor
ER	Eficiência de Remoção
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
EtOH	Etanol
F ⁻	Fluoreto
Fe ₃ O ₄	Nanomagnetita
FeVZ	Ferro de Valência Zero
H ₂	Hidrogênio

H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
HCl	Ácido Clorídrico
iso-C ₄ H ₈ O ₂	Ácido Isobutírico
iso-C ₅ H ₁₀ O ₂	Ácido Isovalérico
<i>k</i>	Constante de velocidade de produção de metano de primeira-ordem
LC	Lodo de Cervejaria
LS	Lodo Sanitário
M	Volume total de metano gerado
MA	Metanogênese Acetoclástica
MC	Material Condutor
MCs	Materiais condutores
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MH	Metanogênese Hidrogenotrófica
MRIs	Mediadores Redox Insolúveis
Mt	Metano acumulado
NaHCO ₃	Bicarbonato de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NRMSE	Erro quadrático médio normalizado
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
O.G	Óleos e Graxas
OG	Óxido de Grafeno
OG-Fe ₃ O ₄	Óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita
OGr	Óxido de Grafeno Reduzido
OH ⁻	Hidroxila
OmcS	Citocromo do tipo c
OSA	Oxidação Sintrófica de Acetato
OSA-MH	Oxidação Sintrófica de Acetato seguida por Metanogênese Hidrogenotrófica
PBM	Potencial Bioquímico de Metano
pH	Potencial hidrogeniônico
PN	Proteínas
PS	Polissacarídeos

PT	Fósforo Total
R^2	Coefficiente de determinação
RSI	Razão substrato/inóculo
SDF	Sólidos Dissolvidos Fixos
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
SDV	Sólidos Dissolvidos Voláteis
SFT	Sólidos Fixos Totais
SiO ₂	Dióxido de Silício
SO ₄ ²⁻	Sulfato
SPE	Substâncias Poliméricas Extracelulares
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
SVT	Sólidos Voláteis Totais
t	Tempo de Digestão
T80	Tempo de Digestão Técnica
TDEI	Transferência Direta de Elétrons Interspecies
TFI	Transferência de Formiato Interspecies
THI	Transferência de Hidrogênio Interspecies
TIEI	Transferência Indireta de Elétrons Interspecies
UASB	Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente
Y ₁	Rendimento de produção de metano por DQO removida
Y ₂	Rendimento de produção de metano por DQO aplicada
Y _R	Rendimento de produção de metano por massa de aditivo adicionada
Y _{SSV}	Rendimento de produção de sólidos

LISTA DE SÍMBOLOS

μ	Taxa máxima de produção de metano
e	Número de Euler
λ	Tempo de fase <i>lag</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	22
2	PERGUNTA DE PESQUISA E HIPÓTESES	31
2.1	Pergunta de Pesquisa	31
2.2	Hipóteses	31
3	OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
3.1	Objetivo Geral.....	32
3.2	Objetivos Específicos	32
4	IMPACTO DO ÓXIDO DE GRAFENO FUNCIONALIZADO COM NANOMAGNETITA NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA	33
4.1	Introdução	35
4.2	Materiais e Métodos.....	41
4.2.1	<i>Substrato e Inóculo</i>	<i>41</i>
4.2.2	<i>Teste de Potencial Bioquímico de Metano.....</i>	<i>41</i>
4.2.3	<i>Delineamento Experimental</i>	<i>44</i>
4.2.4	<i>Análises Estatísticas e Estudo Cinético</i>	<i>45</i>
4.2.5	<i>Extração de DNA, Sequenciamento Genético e Bioinformática.....</i>	<i>46</i>
4.3	Resultados e Discussão.....	47
4.3.1	<i>Desempenho dos Reatores no Primeiro Ciclo</i>	<i>47</i>
4.3.2	<i>Desempenho dos Reatores no Segundo e Terceiro Ciclos.....</i>	<i>52</i>
4.3.3	<i>Estabilidade dos Digestores Anaeróbios</i>	<i>55</i>
4.3.4	<i>Análise das Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE)</i>	<i>57</i>
4.3.5	<i>Análise das Comunidades Microbianas.....</i>	<i>59</i>
4.4	Conclusão.....	68
4.5	Material Suplementar	69
5	EFEITO DA APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO GRANULAR, FERRO DE VALÊNCIA ZERO E NANOMAGNETITA NA METANIZAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA	75
5.1	Introdução	77
5.2	Materiais e Métodos.....	83
5.2.1	<i>Substrato e Inóculo</i>	<i>83</i>

5.2.2	<i>Materiais Condutores</i>	83
5.2.3	<i>Teste de Potencial Bioquímico de Metano</i>	84
5.2.4	<i>Rendimentos e Estudo Cinético</i>	86
5.2.5	<i>Extração de DNA, Sequenciamento Genético e Bioinformática</i>	86
5.3	Resultados e Discussão	88
5.3.1	<i>Curvas Cumulativas de Metano</i>	88
5.3.2	<i>Desempenho do CAG</i>	90
5.3.3	<i>Desempenho do FeVZ</i>	96
5.3.4	<i>Desempenho da Fe₃O₄</i>	103
5.3.5	<i>Estabilidade dos Digestores Anaeróbios</i>	107
5.3.6	<i>Análise das Comunidades Microbianas</i>	107
5.3.7	<i>Análise Comparativa do Efeito dos Materiais Condutores</i>	119
5.4	Conclusão	124
5.5	Material Suplementar	125
6	INFLUÊNCIA DE MATERIAIS CONDUTORES, DA RAZÃO SUBSTRATO INÓCULO E DA TEMPERATURA NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA	131
6.1	Introdução	133
6.2	Materiais e Métodos	138
6.2.1	<i>Substrato e Inóculo</i>	138
6.2.2	<i>Aditivos</i>	139
6.2.3	<i>Teste de Potencial Bioquímico de Metano</i>	139
6.2.4	<i>Processamento de Dados e Estudo Cinético</i>	141
6.2.5	<i>Métodos Analíticos</i>	143
6.2.6	<i>Sequenciamento Genético e Bioinformática</i>	144
6.3	Resultados e Discussão	146
6.3.1	<i>Performance dos Digestores Anaeróbios em RSI 0,5</i>	146
6.3.2	<i>Performance dos Digestores Anaeróbios em RSI 2,0</i>	152
6.3.3	<i>Estabilidade dos Digestores Anaeróbios</i>	159
6.3.4	<i>Análise das Comunidades Microbianas</i>	162
6.3.5	<i>Efeito do Aditivo Não Condutor</i>	180

6.4	Conclusão.....	181
6.5	Material Suplementar.....	182
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	188
	REFERÊNCIAS.....	197

1 INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento de estudos que objetivam a recuperação de recursos a partir do tratamento biológico de águas residuárias agroindustriais (ARAs) intensificou-se nos últimos anos devido à necessidade de adoção de soluções que permitam o gerenciamento dos recursos globais de forma abrangente, interligada e eficiente. Devido ao crescimento contínuo de setores industriais alimentícios, impulsionado pelo rápido aumento populacional e pela urbanização, o volume de efluentes agroindustriais continua a aumentar progressivamente (Moraes *et al.*, 2021c). O descarte inadequado desses efluentes no meio ambiente pode ocasionar a poluição e a contaminação do solo, da água e do ar, a proliferação de vetores de doenças, disfunções hormonais na fauna aquática e terrestre devido à presença de micropoluentes, à promoção de resistência bacteriana como resultado da presença de antibióticos, além de alterações nas características físico-químicas da água de corpos hídricos, favorecendo o processo de eutrofização e, conseqüentemente, ocasionando a diminuição da qualidade do manancial e a redução dos usos múltiplos das águas (Xiao *et al.*, 2018). Por exemplo, apenas as águas residuárias de laticínios geradas globalmente apresentam potencial poluidor equivalente a 60% da população mundial (de Sousa e Silva *et al.*, 2020). Estima-se que anualmente sejam produzidas mundialmente cerca de 380 bilhões de metros cúbicos de ARAs e que a demanda global por água, energia e alimentos aumente em mais de 50% até 2050 em relação ao ano de 2015 (Qadir *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018).

Nesse prisma, visando a não somente mitigar os impactos ambientais ocasionados pela disposição inadequada de efluentes agroindustriais, mas também agregar valor econômico, recuperar recursos de interesse comercial e industrial, como metano (CH₄), hidrogênio (H₂) e ácidos carboxílicos, a partir do tratamento biológico de ARAs, se tornou essencial ao progresso da sociedade e à manutenção dos recursos ambientais (Song *et al.*, 2018). Nesse cenário, a produção de CH₄ a partir da digestão anaeróbia (DA) de ARAs é uma estratégia consolidada para atender à necessidade crescente de fontes de energias renováveis e para reduzir emissões de gases de efeito estufa provenientes da exploração de combustíveis fósseis. O CH₄ é considerado um combustível limpo, inflamável e de alto poder calorífero que pode ser utilizado para geração de eletricidade, de calor, de vapor, como combustível veicular e para injeção na rede de gás natural para uso doméstico (Ullah Khan *et al.*, 2017).

Uma das atividades do agronegócio de considerável relevância nacional e internacional que gera quantidades elevadas de águas residuárias é a suinocultura. Segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CONAB, 2017), foram produzidas, no

Brasil, cerca de 3,75 milhões de toneladas de carne suína em 2017, o que fez com que o Brasil ocupasse a quarta posição mundial em produção nesse ano. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2024), em 2023, a produção de carne suína no Brasil foi de 4,45 milhões de toneladas de peso de carcaça. No cenário internacional, a produção mundial de carne suína estimada para 2024 é de 116,02 milhões de toneladas, sendo que a produção é liderada pela China (56,75 milhões de toneladas), União Europeia (21,25 milhões de toneladas), Estados Unidos (12,68 milhões de toneladas) e Brasil (4,49 milhões de toneladas) (USDA, 2024).

Nesse contexto, a água residuária de suinocultura (ARS) é um passivo ambiental dessa atividade agroindustrial e pode ser utilizada para a produção de CH₄ via DA. Estima-se que 4 a 8 L de águas residuárias sejam geradas diariamente por cabeça de suíno em um criatório (Nagarajan *et al.*, 2019). A ARS é composta principalmente de fezes, urina e de águas utilizadas para fins de limpeza e de higienização de baias de suinocultura (MORAIS *et al.*, 2020). A ARS apresenta elevada concentração de matéria orgânica, como demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) entre 6.500 e 7.200 mg L⁻¹ e demanda química de oxigênio (DQO) entre 5.000 e 30.000 mg L⁻¹, e de nutrientes, como nitrogênio total entre 800 e 6.000 mg L⁻¹, nitrogênio amoniacal entre 500 e 2.200 mg L⁻¹ e fósforo total entre 100 e 1.400 mg L⁻¹ (Ding *et al.*, 2017; Lourinho *et al.*, 2020; L. Shi *et al.*, 2024). Também podem conter micropoluentes, como antibióticos (tetraciclina, trimetoprima e sulfametoxazol) e hormônios (estrógenos e andrógenos), e oligoelementos, como zinco, ferro, cobre e manganês (Cheng *et al.*, 2018). Todavia, as concentrações desses parâmetros variam de acordo com a composição da ração dos suínos e da quantidade de água utilizada para a limpeza das baias (Córdoba *et al.*, 2016). Por esses motivos, a ARS possui elevado potencial poluidor, sendo imprescindível seu tratamento antes de sua disposição final (Morais; Santos, 2019).

A DA consiste em um processo bioquímico composto por quatro estágios: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, realizado por bactérias e arqueias que atuam de forma sintrófica, compatibilizando suas atividades metabólicas para utilizarem substratos orgânicos que não poderiam ser catabolizados por eles de forma individual. Na hidrólise, as bactérias secretam enzimas que degradam a matéria orgânica complexa (proteínas, carboidratos e lipídeos) em matéria orgânica simples (açúcares, aminoácidos, ácidos graxos de cadeia longa e glicerol). Em seguida, os compostos hidrolisados são utilizados por bactérias fermentativas acidogênicas para a produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) e álcoois. Posteriormente, as bactérias acetogênicas degradam os ácidos e os álcoois em hidrogênio (H₂), dióxido de carbono (CO₂) e acetato (CH₃COO⁻). Algumas bactérias, denominadas de homoacetogênicas, utilizam

H_2 e CO_2 para produzir CH_3COO^- . Por fim, as arqueias metanogênicas utilizam os três produtos da acetogênese para a produção de biogás, composto principalmente por CH_4 e CO_2 , transferindo a matéria orgânica do meio líquido para o meio gasoso (Merlin Christy *et al.*, 2014). As principais vias de produção de CH_4 são: metanogênese acetoclástica, em que as arqueias acetoclásticas usam o CH_3COO^- como fonte de carbono e energia, e a metanogênese hidrogenotrófica, na qual as arqueias hidrogenotróficas utilizam CO_2 como fonte de carbono e comoceptor final de elétrons e o H_2 ou o formiato ($HCOO^-$) como fonte de energia (Adekunle; Okolie, 2015).

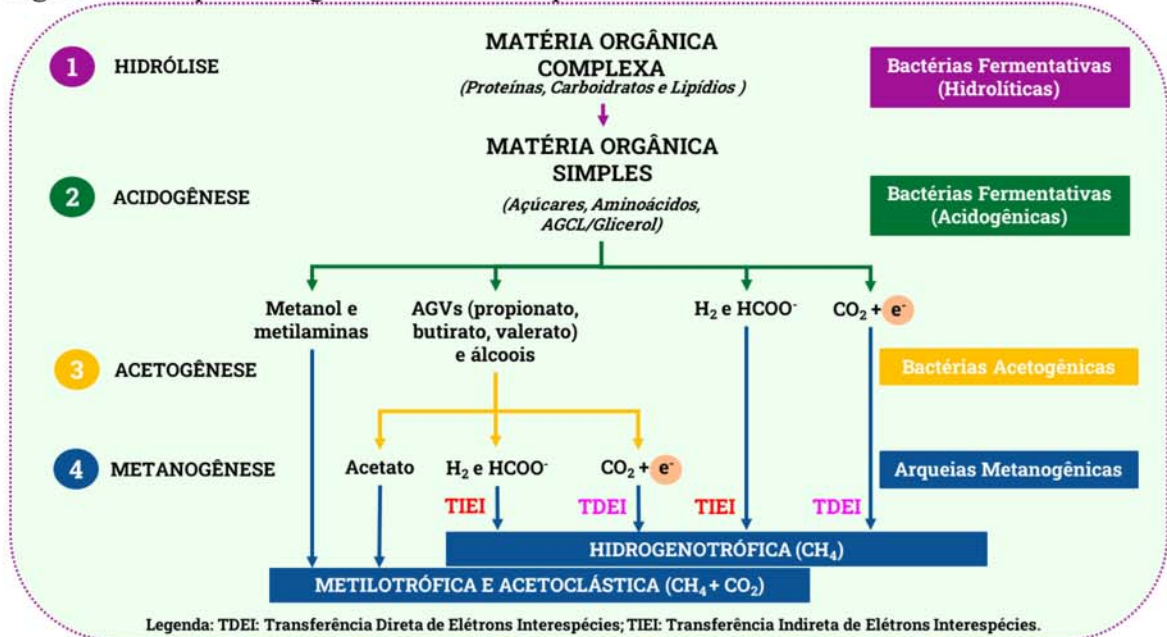
Em um digestor metanogênico, operando de forma apropriada, a pressão parcial de H_2 encontra-se na faixa de 10^{-6} a 10^{-4} atm, viabilizando a oxidação do propionato e do butirato (Shen *et al.*, 2016). Assim, como a degradação desses ácidos orgânicos dependem da remoção de H_2 do meio líquido, a distância entre os microrganismos fermentativos e metanogênicos impacta nesse processo. Isso ocorre porque o H_2 é pouco solúvel em água, o que gera baixo gradiente de concentração na fase líquida e reduzida força motriz para a transferência de H_2 de bactérias fermentativas para arqueias metanogênicas (Storck *et al.*, 2016). Conforme Mccarty e Smith (1986), a transferência de hidrogênio interespecies (THI) tem papel fundamental em lodos granulares, porque a distância entre os microrganismos anaeróbios é menor, facilitando a difusibilidade de H_2 pela membrana lipofílica, compensando o pequeno gradiente de concentração de H_2 obtido entre bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas.

Em contraponto, a transferência de formiato interespecies (TFI) parece ter maior influência na transferência de elétrons em lodo floculento, porque o $HCOO^-$ tem elevada solubilidade em água, favorecendo um maior gradiente de concentração entre bactérias e arqueias, compensando a maior distância interespecies, e a menor difusibilidade do $HCOO^-$ comparada a do H_2 (Wang *et al.*, 2021). A THI e a TFI são classificados como processos de Transferência Indireta de Elétrons Interespecies (TIEI), pois ocorrem por meio da difusão de mediadores redox solubilizados (MRSs) (Wang; Lee, 2021).

A transferência extracelular de elétrons na DA também pode ocorrer por mecanismos de Transferência Direta de Elétrons Interespecies (TDEI). Na TDEI, os elétrons são transferidos de microrganismos exoeletrogênicos (bactérias fermentativas doadoras de elétrons) para microrganismos endoeletrogênicos (arqueias metanogênicas ou bactérias aceitadoras de elétrons) sem a necessidade de MRSs, ocorrendo por meio de proteínas eletroativas, como os pili eletricamente condutores (e-pili) e os citocromos do tipo c (OmcS), localizados na superfície da membrana celular dos microrganismos anaeróbios (Kang *et al.*, 2021). Conforme Sun *et al.* (2023), a TDEI é mais vantajosa sob aspectos energéticos do que a

TIEI porque não requer as múltiplas etapas enzimáticas para produzir MRSs, tornando a simbiose da microbiota mais consolidada. É apresentado na **Figura 1** um esquema das principais etapas da DA e dos processos de transferência de elétrons (TIEI e TDEI) entre bactérias e arqueias.

Figura 1 – Etapas da digestão anaeróbia e processos de transferência de elétrons.



Fonte: O autor (2025).

Contudo, a DA de efluentes e de demais resíduos agroindustriais, enfrenta obstáculos característicos, por exemplo, o choque de carga orgânica em digestores anaeróbios pode ocasionar acúmulo de H_2 , inviabilizando termodinamicamente a oxidação sintrófica de propionato e butirato em CH_3COO^- . O acúmulo de ácidos orgânicos pode acarretar na diminuição do pH dos digestores anaeróbios (azedamento do reator), o que torna o ambiente anaeróbio inapropriado para o metabolismo das arqueias metanogênicas, as quais têm crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4 e podem suportar ambientes com pH entre 6,0 e 8,0 (Náthia-Neves *et al.*, 2018). O acúmulo de nitrogênio amoniacal total (NAT) advindo da degradação de proteínas e aminoácidos também pode ocasionar toxicidade e inibir a atividade metanogênica. O NAT é composto por nitrogênio amoniacal livre (NAL) e por amônio (NH_4^+). Concentrações de NAL entre 300 e 800 $mg\ L^{-1}$, de NH_4^+ entre 1.500 e 3.000 $mg\ L^{-1}$ e de NAT acima de 4.000 $mg\ L^{-1}$ são comumente relatados como inibitórios à produção de CH_4 (Rocamora *et al.*, 2020).

Além desses possíveis problemas, a metanização da ARS costuma ocorrer de forma lenta e gradual devido a elevadas concentrações de matéria orgânica particulada e de gorduras

(Morais *et al.*, 2021b). Substratos ricos em gorduras geralmente possuem um padrão de degradação mais lento e são mais propensos a produzirem inibição bioquímica devido ao acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) provenientes do processo de hidrólise (Ware; Power, 2017). Nesse caso, a hidrólise torna-se a fase limitante da DA, contribuindo para aumentar o tempo de início de produção de CH₄ (Morais *et al.*, 2021b).

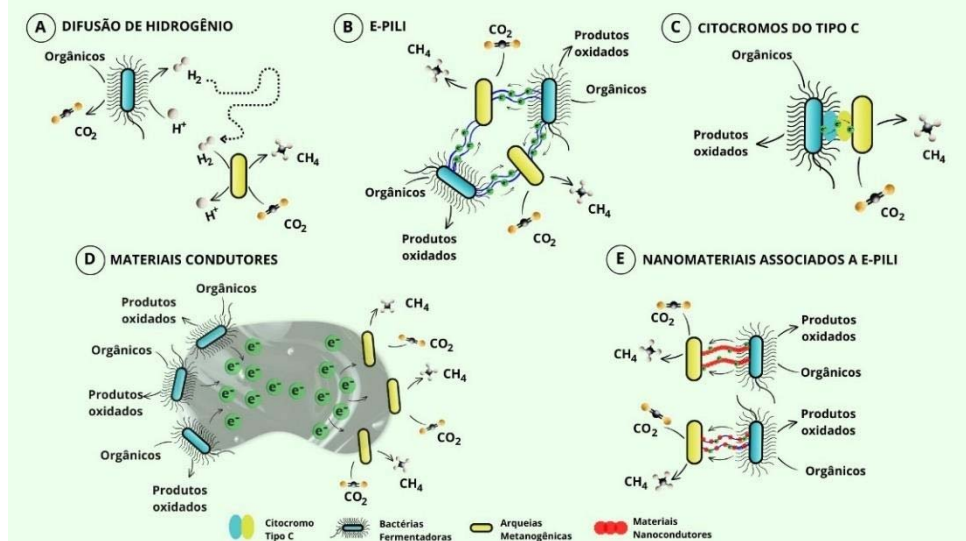
Visando aprimorar o desempenho de digestores anaeróbios quanto à produção de CH₄ e reduzir possíveis problemas operacionais, a aplicação de mediadores redox insolúveis (MRIs), também denominados de materiais condutores (MCs) de elétrons, à base de carbono, como carvão ativado granular (CAG), biocarvão (*biochar*) e óxido de grafeno (OG), e à base de ferro, como a nanomagnetita (Fe₃O₄) e o ferro de valência zero (FeVZ), tem ganhado notoriedade nos últimos anos (Abbas *et al.*, 2021). Em geral, esses materiais possuem propriedades físico-químicas, como grande área de superfície específica, biocompatibilidade e estabilidade química, que estimulam mecanismos benéficos à DA, como sintrofia microbiana, processos indiretos e diretos de transferência extracelular de elétrons, granulação do lodo, formação de Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE), adsorção de matéria orgânica e de compostos tóxicos e inibitórios à metanogênese, regulação de pH, efeito tampão e a ativação de enzimas-chave para os processos acidogênicos e metanogênicos (Nguyen *et al.*, 2021).

Os MCs promovem a transferência de elétrons por diferentes processos. Apesar da baixa condutividade elétrica (CE) do CAG (em torno de 10⁻⁶ a 10⁻⁵ S cm⁻¹), grupos funcionais, como quinonas, hidroquinonas, lactonas, carboxilas, hidroxilas e éteres, presentes em sua superfície, permitem a ocorrência de reações de oxidação-redução que mediam a transferência extracelular de elétrons (Van Der Zee *et al.*, 2003). De forma semelhante, a Fe₃O₄ apresenta baixa CE (entre 1 e 10 S cm⁻¹), mas seus óxidos de ferro (FeO e Fe₂O₃) constituintes podem viabilizam a condução de elétrons por meio de reações de oxidação-redução (Kong; Zhang, 2023). Ligações pi conjugadas conferem elevada CE ao grafeno (2.000 a 20.000 S cm⁻¹), enquanto isso elétrons 'livres', característicos de ligações metálicas, realizam a condução de elétrons pela superfície do FeVZ (10.000 a 100.000 S cm⁻¹) (Chen *et al.*, 2020; Ponzelli *et al.*, 2024). Os MCs apresentam CE superior à dos e-pili (2 a 20 μS cm⁻¹), com exceção o CAG que possui CE similar (Kutlar *et al.*, 2022).

Conforme Sun *et al.* (2023), os MCs são capazes de transferir elétrons livres advindos da degradação anaeróbia da matéria orgânica por bactérias fermentativas diretamente às arqueias metanogênicas, sem a necessidade de MRSs, como o H₂ e o HCOO⁻, acelerando, assim, a produção de CH₄. Além disso, são capazes de reduzir a concentração de equivalentes redutores, como o H₂, do meio líquido, ao enriquecerem arqueias metanogênicas

hidrogenotróficas (AMHs) e ao favorecerem a formação de grânulos anaeróbios, que facilitam a THI e a TFI, evitando os problemas relacionados ao acúmulo de H_2 e de ácidos orgânicos em digestores anaeróbios (Zhao *et al.*, 2020). Os principais mecanismos de transferência de elétrons na DA, a saber TIEI por difusão de H_2 , e TDEI via proteínas condutoras, como OmcS e e-pili, ou mediada por MRIs, são ilustrados na **Figura 2**.

Figura 2 – Mecanismos de transferência de elétrons na digestão anaeróbia.



Fonte: O autor (2025).

Existem diversas lacunas científicas que ainda não foram exploradas quanto ao uso de MCs na DA. Dentre elas, destacam-se as correlações entre as doses desses materiais com o tipo de substrato (teor de sólidos), o tipo de reator (biomassa livre ou imobilizada), o regime de alimentação (batelada ou fluxo contínuo), o tipo de biomassa utilizada como inóculo (floculada ou granulada, com baixa ou elevada atividade metanogênica específica – AME), a quantidade de microrganismos (razão entre a massa de MC e a massa de sólidos suspensos voláteis) e a carga orgânica aplicada em digestores anaeróbios (razão substrato inóculo – RSI).

A literatura também carece de informações quanto ao impacto de MCs na digestão termofílica de resíduos orgânicos sob aspectos de eficiência, de cinética e de alterações nas estruturas das comunidades de bactérias e de arqueias. Também são escassos os estudos que avaliam o efeito de MCs em processos acidogênicos quanto à produção e à recuperação de H_2 e de AGVs de elevado valor agregado, como o ácido hexanoico, o ácido heptanoico e o ácido octanoico. O desenvolvimento de pesquisas que reportem o efeito de MCs em concentrações menores as que são comumente relatadas na literatura, entre 10,0 e 50,0 g L⁻¹ para materiais carbonáceos e entre 1,0 e 10,0 g L⁻¹ para materiais de ferro, ou que busquem concentrações otimizadas para a metanização de resíduos orgânicos também é imprescindível para tornar

economicamente viável o uso desses aditivos. Assim, torna-se fundamental a condução de pesquisas que avancem no entendimento sobre os efeitos benéficos desses materiais à DA e que discutam a viabilidade ambiental e econômica da utilização desses aditivos no tratamento anaeróbio de efluentes agroindustriais, como a ARS.

Com base no que foi explanado sobre a utilização de aditivos condutores de elétrons em processos anaeróbios, a aplicação de MCs no tratamento anaeróbio da ARS pode aumentar os rendimentos de produção de CH_4 , acelerar a cinética de metanização ao diminuir o tempo inicial de geração de CH_4 (fase *lag*) e ao aumentar a velocidade e a taxa máxima de produção de CH_4 , aumentar o teor de CH_4 no biogás e enriquecer bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas. Como a principal função dos aditivos condutores é o estímulo a simbiose microbiana, biomassas com baixa AME (em torno de $0,1 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) são mais beneficiadas pela aplicação de MCs do que biomassas com elevada AME (em torno de $0,5 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$), as quais já possuem interações simbióticas consolidadas (Angelidaki *et al.*, 2009). Assim, espera-se que os aditivos tenham um efeito mais expressivo no tratamento anaeróbio da ARS realizado por um inóculo com baixa atividade metanogênica.

Os aditivos também podem tornar a DA termofílica da ARS mais estável. Um sistema anaeróbio termofílico é considerado menos estável em comparação ao mesofílico, pois, devido à quebra acelerada de proteínas, pode ocorrer um rápido aumento da concentração de NAL, o que pode inibir a atividade e o crescimento dos microrganismos metanogênicos (Ryue *et al.*, 2020; Sung; Liu, 2003). Além disso, a alta taxa de hidrólise da matéria orgânica também pode ocasionar instabilidade em reatores termofílicos devido ao potencial acúmulo de AGVs, o que pode diminuir o pH e ocasionar a acidificação do reator (Appels *et al.*, 2008). Nesse contexto, o CAG poderia beneficiar o tratamento anaeróbio termofílico da ARS ao adsorver compostos inibitórios à atividade metanogênica que comumente acumulam-se em digestores termofílicos, como NAT, NAL e AGVs. Além disso, aditivos de ferro (Fe_3O_4 e FeVZ), podem acelerar a transferência de elétrons e enriquecer AMHs, contribuindo para a redução da concentração de equivalentes redutores, como H_2 , do meio líquido, assim reduzindo a possibilidade de acidificação do reator.

Para testar essas hipóteses, quatro aditivos, a saber óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita (OG- Fe_3O_4), CAG, FeVZ e Fe_3O_4 , foram avaliados, quanto as suas capacidades de beneficiar a DA, em testes de PBM realizados em condições mesofílicas (37°C), onde a ARS foi utilizada como fonte de carbono e como inóculos foram utilizados um lodo floculento (lodo sanitário - LS) e um lodo granular (lodo de cervejaria - LC). Também foram conduzidos ensaios de PBM para comparar o impacto desses aditivos na DA da ARS em

condições mesofílicas (37 °C) e termofílicas (55 °C). A biomassa mesofílica (lodo mesofílico, LM) e a termofílica (lodo termofílico, LT) foram originadas pela adaptação de um LC ao tratamento de glicose. O cultivo desses lodos foi realizado em dois reatores anaeróbios, de escala laboratorial, um operando a temperatura ambiente, cerca de 28 °C, e o outro a temperatura termofílica de 55°C, sob regime de alimentação em fluxo contínuo. Em comparação com o LS e LC, LM e LT possuíam AME substancialmente superior, permitindo avaliar o impacto dos MCs na metanização da ARS realizada por inóculos com distintas atividades metanogênicas.

Os principais parâmetros utilizados para avaliar a eficiência da DA e o efeito dos MCs foram: o volume de CH₄ produzido, a eficiência de remoção de matéria orgânica (em termos de demanda química de oxigênio – DQO), os rendimentos de produção de CH₄ por DQO removida e aplicada, a composição do biogás, a velocidade de produção de CH₄, a taxa máxima de produção de CH₄, o tempo de fase *lag*, a alteração na composição e na concentração de SPE e as modificações nas estruturas das comunidades microbianas (bactérias e arqueias). O efeito dos aditivos sobre a estabilidade dos digestores anaeróbios foi avaliado por meio dos valores de pH e das concentrações de nitrogênio (NAT e NAL). Os potenciais mecanismos de transferência de elétrons ativados pelos aditivos durante o tratamento anaeróbio da ARS foram propostos e discutidos com base nas propriedades físico-químicas dos materiais avaliados, nas estruturas das comunidades bacterianas e arqueais, nos índices de alfa diversidade Shannon e Chao1, os quais indicam, respectivamente, a uniformidade e a riqueza de espécies em uma biomassa, e por meio do estudo cinético da produção de CH₄.

Com objetivo de facilitar a comparação deste trabalho com outros estudos da literatura técnica, as doses de MCs foram expressas em concentração (massa de aditivo adicionado por volume reacional) e pela razão entre massa de aditivo e a massa de SSV presente nos reatores (rMC/SSV). As concentrações de MCs foram determinadas de acordo com a literatura técnica e foram limitadas à concentração de inóculo (SSV) presente nos reatores, visando-se evitar a aplicação de aditivos em excesso, o que aumenta o custo do processo.

Mediante o exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero, nanomagnetita e óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura em condições mesofílicas e termofílicas, avaliando parâmetros cinéticos que governam a produção de metano, analisando as alterações nas comunidades microbianas e discutindo os principais mecanismos de transferência de elétrons promovidos por esses materiais. Este trabalho foi dividido na seguinte estrutura:

Capítulo 1 – Introdução Geral**Capítulo 2 – Pergunta de Pesquisa e Hipóteses****Capítulo 3 – Objetivo Geral e Objetivos Específicos**

Capítulo 4 – Impacto do óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita no tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura. Teve como objetivo analisar o impacto do óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita na digestão anaeróbia da água residuária de suinocultura sob aspectos cinéticos de produção de metano e investigar as modificações na estrutura da comunidade microbiana promovidas por esse material.

Capítulo 5 – Efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura. Teve como objetivo analisar o efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura, avaliando os parâmetros cinéticos que governam a produção de metano, analisando as alterações nas estruturas das comunidades microbianas e discutindo os principais mecanismos de transferência de elétrons promovidos por esses materiais.

Capítulo 6 – Influência de materiais condutores, da razão substrato inóculo e da temperatura na digestão anaeróbia da água residuária de suinocultura. Teve como objetivo analisar a influência da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero, nanomagnetita e das associações entre esses aditivos na digestão anaeróbia mesofílica e termofílica da água residuária de suinocultura em condições de baixa e de elevada carga orgânica, regulada pelo parâmetro razão substrato inóculo, analisando a estabilidade dos digestores, a eficiência da produção de metano, a cinética de metanização, a uniformidade e a riqueza das comunidades microbianas e as alterações nas estruturas das comunidades de bactérias e de arqueias.

Capítulo 7 – Considerações Finais. As hipóteses da Tese são aceitas ou refutadas. É realizada uma comparação dos efeitos dos aditivos quanto aos seus benefícios ao tratamento anaeróbio da ARS. Uma compilação dos principais resultados é disponibilizada ao leitor. Também são discutidos os principais empecilhos para a implementação de aditivos condutores em sistemas anaeróbios em escala real e as possíveis estratégias para vencer esses obstáculos. A Tese é finalizada com a indicação de temas para o desenvolvimento de novos estudos quanto ao uso de materiais condutores na DA de resíduos agroindustriais.

Referências.

2 PERGUNTA DE PESQUISA E HIPÓTESES

2.1 Pergunta de Pesquisa

A aplicação de materiais condutores de elétrons no tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura pode acelerar e aumentar a produção de metano?

2.2 Hipóteses

1. A aplicação de materiais condutores no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura aumenta o Potencial Bioquímico de Metano;
2. Materiais condutores contribuem para acelerar a cinética de metanização da água residuária de suinocultura, reduzindo o tempo de fase *lag* e aumentando a velocidade e a taxa máxima de produção de CH₄;
3. O teor de CH₄ no biogás é aumentado na presença de materiais condutores;
4. Materiais condutores enriquecem bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas;
5. Os materiais condutores têm maior influência no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura realizado por biomassas com baixa atividade metanogênica específica;
6. Os materiais condutores tornam a digestão anaeróbia termofílica da água residuária de suinocultura mais estável, acelerando a cinética de metanização.

3 OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito da aplicação de óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita, carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura em condições mesofílicas e termofílicas.

3.2 Objetivos Específicos

1. Analisar o impacto de materiais condutores e da razão substrato inóculo sobre a digestão anaeróbia mesofílica e termofílica da água residuária de suinocultura;
2. Determinar o impacto de materiais condutores no aumento dos rendimentos de produção de metano a partir da metanização da água residuária de suinocultura;
3. Avaliar o efeito de materiais condutores na cinética de metanização da água residuária de suinocultura;
4. Discutir os principais mecanismos de transferência indireta e direta de elétrons interespecies estimulados por materiais condutores;
5. Determinar o impacto de materiais condutores, da razão substrato inóculo e da temperatura nas alterações das comunidades microbianas durante o tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura.

4 IMPACTO DO ÓXIDO DE GRAFENO FUNCIONALIZADO COM NANOMAGNETITA NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

RESUMO

A aplicação de materiais condutores à base de carbono, como o óxido de grafeno (OG), e à base de ferro, como a nanomagnetita (Fe_3O_4), na digestão anaeróbia (DA) apresenta-se como uma estratégia para estimular interações sintróficas entre os microrganismos anaeróbios e para promover a Transferência Direta de Elétrons Interespécies (TDEI). Nesse sentido, a funcionalização do OG com Fe_3O_4 , processo de manipulação das propriedades físicas e químicas de nano-elementos feita através da introdução de grupos funcionais ou nanomateriais, tem sido realizada para a formação de um material (OG- Fe_3O_4) que agrega as notórias propriedades dos dois materiais precursores, como elevada área superficial do OG e as propriedades magnéticas da Fe_3O_4 , e que pode atuar como um mediador na TDEI. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi analisar o impacto do óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita na digestão anaeróbia da água residuária de suinocultura sob aspectos cinéticos de produção de metano (CH_4) e investigar as modificações na estrutura da comunidade microbiana promovidas por esse material. O experimento foi conduzido em reatores de vidro com 300 mL de volume total e 200 mL de volume reacional, operando em regime de batelada alimentada com três ciclos de tratamento, cada um com 35 dias, totalizando 105 dias de ensaio. Foram adicionadas aos reatores doses de 0,1% ($3,0 \text{ mg L}^{-1}$ ou 1 mg gSSV^{-1}) e de 5% ($150,0 \text{ mg L}^{-1}$ ou 50 mg gSSV^{-1}) de OG- Fe_3O_4 em relação à concentração de sólidos suspensos voláteis ($3,0 \text{ gSSV L}^{-1}$). A adição de OG- Fe_3O_4 provocou uma seleção microbiológica para os processos fermentativos e metanogênicos, diminuindo a uniformidade e a riqueza das espécies. *Chloroflexi* e *Methanobacterium beijingense* foram os principais microrganismos enriquecidos por esse aditivo. Os potenciais parceiros de TDEI foram as bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi* e as bactérias *Clostridium sensu stricto 1* (filo *Firmicutes*) com as arqueias metanogênicas *Methanobacterium beijingense* e *Methanotheroxothrix soehngenii*. No primeiro ciclo de tratamento, observou-se redução dos rendimentos de geração de CH_4 , fato relacionado ao desvio energético ocasionado pela redução biológica do OG em óxido de grafeno reduzido (OGr) e a diminuição da disponibilidade de matéria orgânica solúvel devido às altas propriedades de adsorção do OG. Nos experimentos em longo prazo, segundo e terceiro ciclo, os efeitos benéficos do material adicionado foram mais notórios, o qual favoreceu a cinética de

metanização da ARS, acelerando a velocidade de produção de CH_4 em 31,9%, diminuindo em 25,6% o tempo de adaptação dos microrganismos ao substrato (fase *lag*), e aumentando a taxa máxima de geração de CH_4 em 32,3%. O teor de CH_4 no biogás teve um discreto aumento em relação aos reatores de controle, mas o potencial bioquímico de metano (PBM) e a eficiência de remoção de matéria orgânica foram aumentados em 17,2% e 12,6%, respectivamente. Os resultados demonstram que a adição de $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ aperfeiçoou o processo anaeróbio, acelerando, provendo maior geração de CH_4 e, conseqüentemente, tornando o tratamento da ARS mais eficiente.

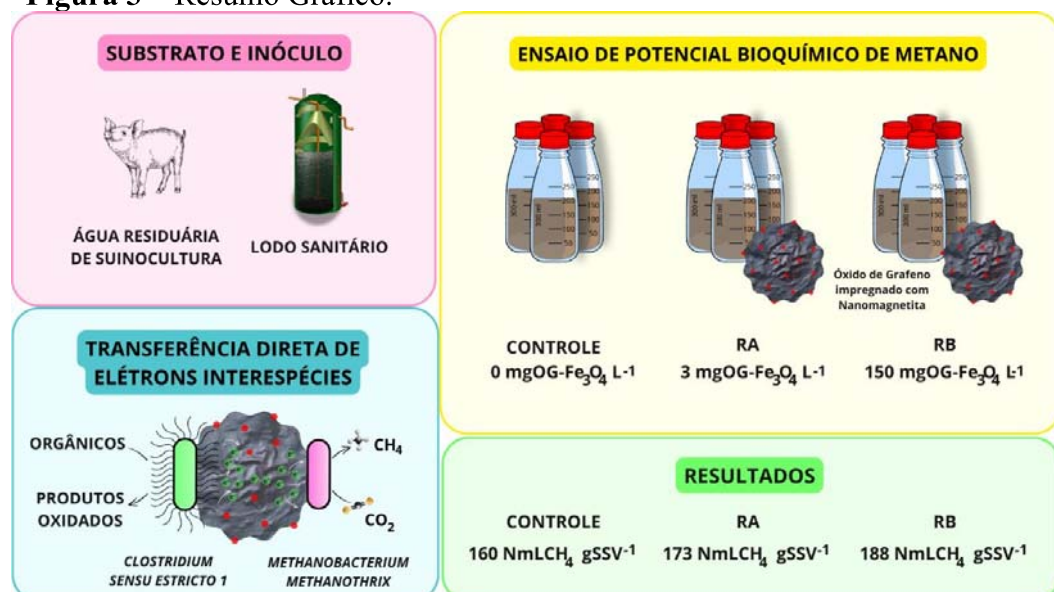
PALAVRAS-CHAVE: Água residuária de suinocultura; Digestão anaeróbia; Nanomagnetita; Óxido de grafeno; Potencial Bioquímico de Metano; Transferência direta de elétrons interespecies.

PONTOS DE DESTAQUE

- $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ tornou a digestão anaeróbia da ARS mais eficiente;
- $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ acelerou a cinética de metanização da ARS;
- $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ aumentou a concentração de SPE;
- $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ elevou o teor de polissacarídeos na SPE;
- *Chloroflexi* e *Methanobacterium* foram enriquecidos por $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$;
- *Clostridium sensu stricto 1* e *Methanothrix* são potenciais parceiros de TDEI.

RESUMO GRÁFICO

Figura 3 – Resumo Gráfico.



Fonte: O autor (2025).

4.1 Introdução

A água residuária de suinocultura (ARS) é um efluente composto principalmente de fezes, de urina e de águas utilizadas para fins de limpeza e de higienização de baias de suinocultura (MORAIS *et al.*, 2020). Conforme Lourinho *et al.* (2020), a ARS apresenta elevada concentração de matéria orgânica, como demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) entre 6.500 e 7.200 mg L⁻¹ e demanda química de oxigênio (DQO) entre 4.684 e 63.724 mg L⁻¹, e de nutrientes, como nitrogênio total entre 1.062 e 2.222 mg L⁻¹, nitrogênio amoniacal entre 948 e 1.558 mg L⁻¹ e fósforo total entre 32 e 181 mg L⁻¹. Também podem conter micropoluentes, como antibióticos (tetraciclina, trimetoprima e sulfametoxazol) e hormônios (estrógenos e andrógenos), e oligoelementos, como zinco, ferro, cobre e manganês. Entretanto, as concentrações desses parâmetros variam de acordo com a composição da ração dos suínos e da quantidade de água utilizada para a limpeza das baias (Córdoba *et al.*, 2016). Esse efluente é gerado em elevadas quantidades em suinoculturas, tornando-se um passivo ambiental dessa atividade. Estima-se que 4 a 8 L de águas residuárias sejam geradas diariamente por cabeça de suíno em um criatório (Morais *et al.*, 2021c). Por esses motivos, a ARS possui elevado potencial poluidor, sendo imprescindível seu tratamento antes de sua disposição final (Morais; Santos, 2019).

Nesse cenário, a digestão anaeróbia (DA) apresenta-se como um bioprocessamento adequado e consolidado para o tratamento de efluentes agroindustriais, como a ARS. A DA é um bioprocessamento realizado, na ausência de oxigênio (O₂), por um consórcio de microrganismos que obtém energia a partir de resíduos orgânicos. Esse processo ocorre por meio da sintrofia biológica entre bactérias e arqueias que harmonizam suas atividades metabólicas para utilizar substratos orgânicos que não poderiam ser catabolizados por eles de forma individual. Durante a DA, ocorre um fluxo de elétrons, em que os principais transportadores (mediadores redox solubilizados - MRSs) são o hidrogênio molecular (H₂) e o formiato (HCOO⁻), processo denominado de Transferência Indireta de Elétrons Interspecies (TIEI) (Cavalcante *et al.*, 2021).

Contudo, a DA de efluentes e de demais resíduos agroindustriais, enfrenta obstáculos característicos, por exemplo, o choque de carga orgânica em digestores anaeróbios que pode ocasionar acúmulo de H₂, inviabilizando termodinamicamente a oxidação sintrófica de propionato e butirato em acetato. O acúmulo de ácidos orgânicos pode acarretar na diminuição do pH dos digestores anaeróbios (azedamento do reator), o que torna o ambiente anaeróbio inadequado para o metabolismo das arqueias metanogênicas, as quais têm

crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4 e podem suportar ambientes com pH entre 6,0 e 8,0 (Náthia-Neves *et al.*, 2018). O acúmulo de nitrogênio amoniacal total (NAT) advindo da degradação de proteínas e aminoácidos também pode ocasionar toxicidade às arqueias metanogênicas. O NAT é composto por nitrogênio amoniacal livre (NAL) e por amônio (NH_4^+). Concentrações de NAL entre 300 e 800 mg L^{-1} , de NH_4^+ entre 1.500 e 3.000 mg L^{-1} e de NAT acima de 4.000 mg L^{-1} são comumente relatados como inibitórios à produção de metano (CH_4) (Rocamora *et al.*, 2020).

Além desses possíveis problemas, a metanização da ARS costuma ocorrer de forma lenta e gradual devido a elevadas concentrações de matéria orgânica particulada e de gorduras. Substratos ricos em gorduras geralmente possuem um padrão de degradação mais lento e são mais propensos a produzirem inibição bioquímica devido ao acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) provenientes do processo de hidrólise (Ware; Power, 2017). Nesse caso, a hidrólise torna-se a fase limitante da DA, contribuindo para aumentar o tempo de início de produção de CH_4 , ou seja, aumentar o tempo de fase *lag* (Moraes *et al.*, 2021b).

Nesse contexto, múltiplas estratégias têm sido implementadas para aprimorar o desempenho da DA de resíduos agroindustriais. Entre elas, destacam-se: a utilização de temperaturas termofílicas (50° a 60°C), objetivando acelerar as taxas de reação; a microaeração, a qual estimula a atividade de bactérias fermentativas no processo hidrolítico; o bioaumento, que consiste na inserção de microrganismos específicos à cultura mista, com o propósito de aumentar a diversidade microbiana e melhorar a atividade fermentativa e ou a metanogênica; a adição de enzimas promotoras de hidrólise, como a protease e a lipase; a suplementação de microelementos, como cobre, níquel, cobalto e selênio, para estimular o metabolismo microbiano; a realização de pré-tratamentos ao substrato, como tratamento térmico-alcálico, visando a quebra de compostos celulósicos; e a aplicação de mediadores redox insolúveis (MRIs), também denominados de materiais condutores (MCs) de elétrons, à base de carbono, como carvão ativado granular (CAG), biocarvão (*biochar*) e óxido de grafeno (OG), e à base de ferro, como a nanomagnetita (Fe_3O_4) e o ferro de valência zero (FeVZ), que podem estimular a sintrofia microbiológica (Abbas *et al.*, 2021; Ye *et al.*, 2018).

Essa última estratégia ganha destaque pela capacidade desses aditivos reduzirem a concentração de equivalentes redutores, como o H_2 , do meio líquido, ao aproximarem bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas via formação de agregados microbianos, acelerando a redução de CO_2 a CH_4 e evitando os problemas relacionados ao acúmulo de H_2 e de ácidos orgânicos. Além disso, esses aditivos podem beneficiar a DA de diversas formas, por exemplo, o CAG pode adsorver compostos inibitórios à metanogênese, como NH_3 , metais pesados e

fenóis, contribuindo para o bom funcionamento de digestores anaeróbios (L. Xiao *et al.*, 2022). Enquanto isso, os materiais constituídos por ferro estão relacionados à ativação de enzimas-chave dos processos acidogênicos e metanogênicos, como as enzimas acetato quinase e a hidrogenase redutora de F420 (Chen *et al.*, 2020). Por esses motivos, a aplicação de MCs pode acelerar a degradação de substratos e a produção de CH₄, evitar a acidificação de digestores, diminuir o tempo de fase *lag* e aumentar a taxa de produção de CH₄ (Abbas *et al.*, 2021).

Além desses benefícios, os MCs podem estimular processos de Transferência Direta de Elétrons Interspecies (TDEI). A TDEI é um bioprocesso em que elétrons livres fluem de uma célula para outra por meio de conexões físicas e elétricas compartilhadas, sem a necessidade de transportadores de elétrons reduzidos, como H₂ ou HCOO⁻ (Ajay *et al.*, 2020). A TDEI ocorre naturalmente em sistemas anaeróbios por meio de dois principais mecanismos: via pili eletricamente condutores (e-pili) e via proteínas de transporte de elétrons ligadas à membrana (citocromos do tipo c). Conforme Sun *et al.* (2023), a TDEI é mais vantajosa sob aspectos energéticos do que a TIEI porque não requer as múltiplas etapas enzimáticas para produzir MRSs, tornando a sintrofia da microbiota mais consolidada e, conseqüentemente, favorecendo os processos cinéticos que governam a utilização do substrato e a produção de CH₄. Assim, os MCs funcionam como condutores elétricos, promovendo a transferência de elétrons de célula para célula entre as bactérias acidogênicas e as arqueias metanogênicas, como meio suporte para a formação de agregados microbianos e podem influenciar positivamente os microrganismos a secretarem Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE) eletroativas, que podem participar de mecanismos de transferência de elétrons (Zhao *et al.*, 2020).

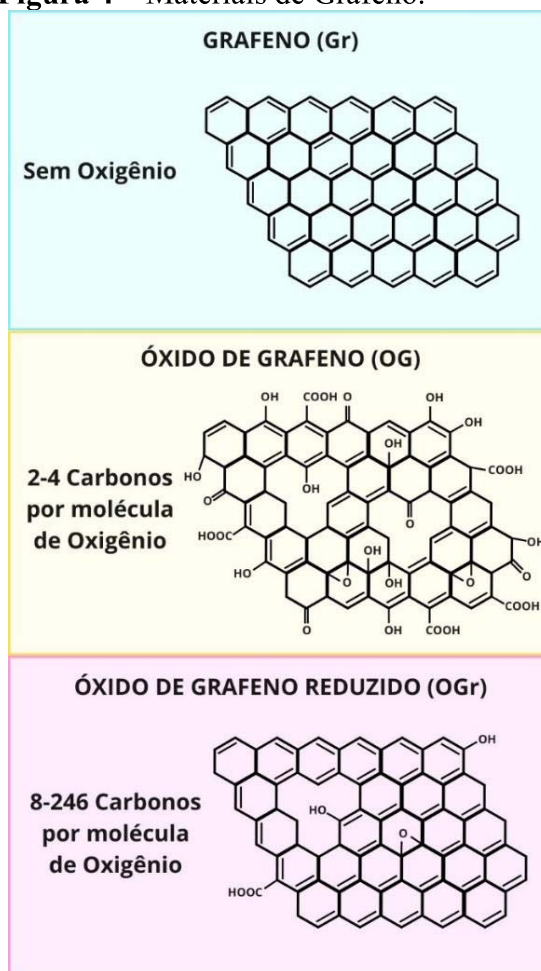
Nesse contexto, o grafeno (Gr) é um nanomaterial de carbono composto por uma única camada atômica de átomos de carbono bidimensionais com estrutura em favo de mel que possui características notórias para ser utilizado como um promotor de TDEI, como alta condutividade elétrica (CE), grande área superficial, estabilidade química, biocompatibilidade e boa resistência mecânica, mas é considerado um material muito caro para aplicações industriais em larga escala (Igarashi *et al.*, 2020). Em contrapartida, a aplicação de óxido de grafeno (OG) em detrimento ao Gr puro em sistemas anaeróbios tem sido uma alternativa economicamente mais viável devido seu menor custo, apesar de ter menor CE (Ponzelli *et al.*, 2022).

O OG é produzido pela oxidação química de grafite em óxido de grafite, seguido por etapas de ultrassom e de esfoliação química (Hummers; Offeman, 1958). Todavia, suas propriedades são diferentes das do Gr, pois possui, em sua superfície (borda ou parte interna), vários grupos funcionais contendo oxigênio, como grupos hidroxila, epóxido, diol, carbonila e

carboxila, os quais reduzem significativamente sua mobilidade eletrônica e resistência mecânica, mas aumentam sua hidrofilicidade (Zhou; Liang, 2014). O OG é um material altamente hidrofílico, que pode ser facilmente adicionado como um material homogeneamente disperso em um processo de DA (PONZELLI *et al.*, 2024). Em condições anaeróbias, o OG disperso em água é reduzido por meio da respiração microbiana, atuando como um aceitador de elétrons e sendo reduzido a óxido de grafeno reduzido (OGr). Várias bactérias podem estar envolvidas na redução biológica do OG, mas as que comprovadamente atuam nesse bioprocessos são a *Shewanella oneidensis* e a *Geobacter sulfurreducens* (Zhang; Tremblay, 2020).

Na síntese de OGr ocorre a remoção parcial de grupos oxigenados do OG, primeiramente os ancorados nas bordas e posteriormente os que estão fixados no interior, os quais podem ser estressantes para a microbiota anaeróbia (Salas *et al.*, 2010). Esse processo é fundamental para o estímulo à TDEI e subsequente melhoria da DA, pois o OGr possui propriedades físico-químicas similares ao Gr puro. Em relação ao OG, o OGr tem maior condutividade elétrica (Virdis; Dennis, 2017). O OGr tem sido utilizado em pesquisas que visam aumentar a produção de CH₄ e melhorar a estabilidade operacional da DA, além de atuar na regulação do pH, devido à presença de grupos de ácidos carboxílicos ancorados em sua superfície, os quais atuam recebendo e doando prótons, agindo como um tampão em frente à acidez proveniente da hidrólise de resíduos orgânicos (Bueno-López *et al.*, 2018). As estruturas moleculares dos materiais de grafeno e as quantidades de oxigênio em suas composições são apresentados na **Figura 4**.

Outro material que está em ampla investigação é a magnetita (Fe₃O₄), um mineral ferrimagnético constituído por de óxido de ferro-II (FeO) e óxido de ferro-III (Fe₂O₃), sendo comumente usada como um aditivo para tratar vários poluentes. Em sistemas anaeróbios, é aplicada devido suas propriedades de oxidação-redução que viabilizam a transferência extracelular de elétrons (Kong; Zhang, 2023). A principal diferença entre a Fe₃O₄ e os materiais à base de carbono é o tamanho das partículas, o que sugere diferentes mecanismos promotores de TDEI. Os MCs carbonáceos, como CAG e biocarvão, geralmente têm partículas grandes e, por isso, funcionam como conduítes elétricos para a troca de elétrons de longo alcance (centenas de micrômetros ou mais) entre os parceiros de TDEI. Em contraponto, a Fe₃O₄ geralmente é aplicada em nanopartículas e atua no transporte de elétrons de curto alcance ao associar-se aos e-pili (Ueki *et al.*, 2018).

Figura 4 – Materiais de Grafeno.

Fonte: O autor (2025).

Nesse contexto, a funcionalização do OG com Fe_3O_4 , processo de manipulação das propriedades físicas e químicas de nano-elementos feita através da introdução de grupos funcionais ou nanomateriais, tem sido realizada como uma estratégia para a formação de um material ($\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$) que agrega as notórias propriedades dos dois materiais precursores, como elevada área superficial do OG e as propriedades magnéticas da nanomagnetita (da Silva *et al.*, 2021). Com efeito, o $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ tem sido aplicado em diversas áreas da ciência, mas ganha destaque em pesquisas de degradação de contaminantes por processos oxidativos avançados (POAs), funcionando como catalisador de reações (Arshad *et al.*, 2018). Além disso, pesquisas sugerem que a forte ligação entre as nanopartículas de Fe_3O_4 com o OG facilita a transferência de elétrons, favorecendo a degradação de matéria orgânica e de contaminantes (Yu *et al.*, 2015). As propriedades magnéticas do $\text{OG-Fe}_3\text{O}_4$ permitem sua separação e recuperação em digestores anaeróbios por meio de aplicação de campo magnético, facilitando o reaproveitamento desse material (da Silva *et al.*, 2021).

Por esses motivos, a aplicação de um material condutor composto por carbono e ferro apresenta-se como uma estratégia atraente para beneficiar a DA e estimular a TDEI. Nesse sentido, a aplicação de OG-Fe₃O₄ no tratamento anaeróbio da ARS é uma lacuna científica a ser explorada. Mediante o exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o impacto do óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita na digestão anaeróbia da água residuária de suinocultura sob aspectos cinéticos de produção de metano e investigar as modificações na estrutura da comunidade microbiana promovidas por esse material.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Substrato e Inóculo

A água residuária de suinocultura (ARS) utilizada como substrato foi proveniente da higienização de baias de suínos de diversas fases de desenvolvimentos. Os suínos eram alimentados com ração à base de milho e soja com complemento vitamínico e mineral, sendo o controle zootécnico realizado pela suinocultura do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal do Ceará (UFC) em Fortaleza, Ceará, Brasil. Foi aplicado um peneiramento (malha quadrada de abertura de 2 mm) como tratamento preliminar, visando a separação dos sólidos grosseiros e, posteriormente, o efluente foi caracterizado conforme o *Standard Methods for the Examination of Water; Wastewater* (APHA, 2017). A caracterização físico-química e microbiológica da ARS *in natura* (substrato bruto) é apresentado na **Tabela 5** do Material Suplementar.

Foi utilizado como inóculo um lodo sanitário obtido de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) que compunha uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada no bairro José Walter, no município de Fortaleza, Ceará, Brasil, e operava em condições mesofílicas no tratamento de esgoto sanitário. Após a coleta, o inóculo foi caracterizado, apresentando concentrações de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV), sólidos totais fixos (STF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) de $81,2 \pm 1,6$; $48,3 \pm 0,9$; $32,9 \pm 1,7$, $47,2 \pm 1$ g L⁻¹, respectivamente, bem como relação SSV/ST média de 0,58, qualificando o lodo com aproximadamente 58% de fração orgânica.

4.2.2 Teste de Potencial Bioquímico de Metano

O teste Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foi conduzido em reatores de vidro com 300 mL de volume total, sendo 200 mL destinados ao volume reacional e 100 mL destinados ao *headspace*. O teste foi realizado em regime de batelada em 3 ciclos de tratamento, cada ciclo com 35 dias de duração, totalizando 105 dias de ensaio. Ao final de cada ciclo o sobrenadante dos reatores era removido e um novo meio basal com alimentação era inserido. O volume reacional e o volume de *headspace* foram iguais para todos os ciclos de tratamento.

Foi utilizado como material condutor uma suspensão de óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita (OG-Fe₃O₄) com concentração de 10 mg mL⁻¹. O aditivo foi sintetizado e disponibilizado pelo Grupo de Processos e Tecnologias Ambientais do

Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), localizado em Recife, Pernambuco, Brasil. O OG foi sintetizado conforme metodologia de Hummers (Hummers; Offeman, 1958) e a funcionalização de partículas de Fe_3O_4 na superfície do OG por método adaptado de Chai *et al.* (2017). Até 90% das partículas de OG- Fe_3O_4 tinham diâmetro característico concentrados abaixo de 64,3 μm . A caracterização completa do material pode ser consultada no trabalho de Da Silva *et al.* (2021).

A ARS e o lodo de inóculo foram preparados para a obtenção de uma razão substrato inóculo (RSI) de $0,70 \pm 0,1 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, na qual os experimentos foram conduzidos (Filer *et al.*, 2019). O material condutor (OG- Fe_3O_4) foi adicionado em duas dosagens: 0,1% ($3,0 \text{ mg L}^{-1}$ ou 1 mg gSSV^{-1}) e 5% ($150,0 \text{ mg L}^{-1}$ ou 50 mg gSSV^{-1}), ambas em relação aos SSV ($3,0 \text{ gSSV L}^{-1}$) presentes nos reatores. As concentrações adicionadas foram determinadas conforme outros estudos (Muratçobanoğlu *et al.*, 2021; T. Tian *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017). As concentrações dos nutrientes e a formulação do meio basal foi realizada segundo Moraes *et al.* (2021b), contendo: macronutrientes (mg L^{-1}) – NH_4Cl (500); K_2HPO_4 (150); MgCl_2 (100); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (100); $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50); $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2), e micronutrientes (mg L^{-1}) – ZnCl_2 (0,05); $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,03); $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,5); $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,05); $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,2); $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05); H_3BO_3 (0,01); $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05), e HCl em solução (1 mL L^{-1}).

O pH inicial foi ajustado para 7,0 com soluções de hidróxido de sódio (NaOH) 40% e ácido clorídrico (HCl) 10% e, posteriormente, o bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi adicionado como tampão na proporção de 1 g de tampão para 1 g de DQO L^{-1} . Os reatores foram selados com rolhas de borracha butílica e tampas de alumínio. Nitrogênio gasoso (N_2) foi usado como gás de purga por 1 min para cada reator em cada ciclo de tratamento (Moraes *et al.*, 2021b). Os reatores foram mantidos em incubadora (Marconi modelo MA-420) sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura mesofílica de $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Filer *et al.*, 2019). No início e ao final de cada ciclo de tratamento, foram realizadas análises de pH, nitrogênio amoniacal total e demanda química de oxigênio (DQO) total, particulada e solúvel. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com o *Standard Methods* (APHA, 2017). O nitrogênio amoniacal livre foi calculado conforme **Equação 4.S1** (Liu *et al.*, 2020) disponível no Material Suplementar. A estabilidade operacional dos digestores anaeróbios foi analisada pelos valores iniciais e finais de pH, determinados em um pHmetro DM-20 (Digimed Analítica LTDA, Brasil), e pelos teores de nitrogênio amoniacal, obtidos em um destilador de nitrogênio MA-036 (Marconi, Brasil).

A quantificação volumétrica de biogás foi realizada por meio do registro da pressão acumulada em cada reator, utilizando um transdutor de pressão manométrica (Warme LTDA,

Brasil). Ao final de cada ciclo da batelada alimentada, uma amostra de 1 mL de biogás de cada reator foi analisada por cromatografia gasosa para determinar a composição do biogás (CH₄, CO₂, H₂S, N₂) (Çetinkaya; Yetilmezsoy, 2019). As amostras de biogás foram coletadas com seringas estanques a gás (seringa SampleLock, Hamilton Company, EUA).

A composição do biogás foi analisada por cromatografia gasosa com detecção por descarga por ionização de barreira dielétrica (GC-BID, *gas chromatography-barrier ionization discharge*) (GC BID-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Japão), equipada com uma coluna GS GASPRO (60 m x 0,32 mm) (Agilent Technologies Inc., EUA). As temperaturas do forno, injetor e detector foram 250, 50 e 100 °C, respectivamente. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste em um fluxo de 2 mL min⁻¹, e o tempo de execução do método foi de 9 min (Moraes *et al.*, 2021b). A pressão interna do reator foi convertida em volume de CH₄ usando as Condições Normais de Temperatura e Pressão (CNTP) como referência [$P_{ref} = 1 \text{ atm}$ (1.013,25 mbar) e $T_{ref} = 273,15 \text{ K}$ (0°C)]. Assim, foi utilizado a porcentagem de CH₄ no biogás, a pressão registrada no manômetro (mbar) e um fator de conversão (mL mbar⁻¹) para obter o volume gerado de CH₄ (Moraes *et al.*, 2021a). As equações utilizadas para os cálculos de PBM são apresentadas no Material Suplementar como **Equações 4.S2, 4.S3 e 4.S4**.

O teste de Atividade Metanogênica Específica (AME) foi realizado de forma semelhante ao teste de PBM da ARS com objetivo de analisar o potencial metanogênico do inóculo. A RSI foi de $0,50 \pm 0,01 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ e a glicose a 2 gDQO L^{-1} foi utilizada como substrato. Para calcular a AME, do lodo foi utilizado método descrito por Angelidaki *et al.* (2009) que utilizaram a razão entre a velocidade de conversão do substrato a CH₄ pela massa de lodo utilizada no teste. A máxima taxa de produção de metano foi obtida por meio de modelagem matemática, e juntamente com as **Equações 4.S5 e 4.S6**, o valor de AME foi obtido. A AME média do lodo utilizado como inóculo foi de $0,141 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, valor superior a $0,100 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, o qual é a condição mínima para um inóculo ser utilizado em testes de PBM com substratos reais (Angelidaki *et al.*, 2009).

Ao término do experimento foi quantificado a concentração de Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE, mg mgSSV⁻¹) e de suas frações (polissacarídeos - PS e proteínas - PN). A extração das SPE foi realizada conforme Hong *et al.* (2017), na qual a biomassa é submetida a tratamento termoalcalino com NaOH a 80 °C por 10 minutos. O método fenol-sulfúrico usando sacarose como solução padrão foi utilizado para quantificar PS (Dubois *et al.*, 1956). As PN foram medidas com o método de Lowry usando albumina de soro bovino como solução padrão (LOWRY *et al.*, 1951). Ao final de cada ciclo, foi realizado um balanço de massa visando determinar o fluxo de matéria orgânica e calcular os rendimentos de remoção.

As equações (Eq. 4.S7 a 4.S14) usadas para essa finalidade são apresentadas na **Tabela 6** do Material Suplementar.

4.2.3 *Delineamento Experimental*

O experimento foi conduzido em três tratamentos: 1) reatores controle (RC): inóculo + ARS, 2) reatores A (RA): inóculo + ARS + 3 mgOG-Fe₃O₄ L⁻¹, 3) reatores B (RB): inóculo + ARS + 150 mgOG-Fe₃O₄ L⁻¹. Os tratamentos foram avaliados em quatro repetições idênticas, totalizando 12 reatores. Paralelamente aos reatores utilizados nos tratamentos, foram incubados 3 reatores para controle endógeno, contendo apenas inóculo com meio basal e tampão, ou seja, sem fonte de carbono proveniente de substrato. Estes reatores tiveram como objetivo avaliar a produção residual de CH₄ do inóculo, possibilitando estudos de produção líquida de CH₄. Também foram incubados 3 reatores com glicose visando obter a AME do inóculo. As principais variáveis resposta para o ensaio de PBM foram: Potencial Bioquímico de Metano (PBM, NL_{CH₄} kgSSV⁻¹); eficiência de remoção de DQO (%); rendimentos de produção de CH₄ por DQO removida (Y_1 , NL_{CH₄} gDQO_{remov}⁻¹) e aplicada (Y_2 , NL_{CH₄} gDQO_{apl}⁻¹); composição de biogás (CH₄ e CO₂, %); velocidade de produção de CH₄ (k , d⁻¹); taxa máxima de produção de CH₄ (μ , NL_{CH₄} KgSSV⁻¹ d⁻¹) e tempo de fase *lag* (λ , d). O delineamento experimental pode ser observado na **Figura 5**.

Figura 5 – Delineamento experimental dos ensaios de PBM e de AME.



Fonte: O autor (2025).

4.2.4 Análises Estatísticas e Estudo Cinético

O *software* Microcal Origin 8.1 (Microcal Software Inc., Northampton, MA, EUA) foi utilizado para tratamento estatístico dos dados. A análise de variância (one-way ANOVA) foi realizada com nível de confiança de 95% e probabilidade de 5% ($p < 0,05$) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey. Valores médios foram apresentados seguidos por letras do tratamento estatístico, onde letras iguais reportam sem diferença significativa para $p < 0,05$.

Modelos matemáticos de produção comumente utilizados na literatura (**Tabela 7**) foram aplicados para estimar os parâmetros cinéticos (**Equações 4.S15 a 4.S17**). Análises de regressão não linear de mínimos quadrados foram realizadas usando a ferramenta Solver do *software* Microsoft Office Excel 2019 para ajustar as equações não lineares dos modelos matemáticos selecionados à curva média de produção de CH_4 gerada a partir dos ensaios de PBM (Ware; Power, 2017). A aderência dos modelos ao perfil cinético de produção de CH_4 foi determinado pelos valores do coeficiente de determinação (R^2), do erro quadrático médio normalizado (NRMSE) e do Critério de Informação de Akaike (AIC) (**Equações 4.S18 a 4.S20**). Quanto maior o valor de R^2 e menor o valor de NRMSE e AIC, maior é a adequação dos dados estimados aos dados experimentais.

4.2.5 Extração de DNA, Sequenciamento Genético e Bioinformática

As análises de sequenciamento genético e o processamento dos dados foram realizados no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Central de Genômica e Bioinformática do Departamento de Biologia da UFC. O DNA foi extraído de amostras coletadas dos reatores utilizando PowerSoil® (MoBio Laboratories Inc., EUA). A biblioteca de *amplicons* para a região V4 do gene 16S rRNA foi preparada conforme descrito por Illumina (2013) usando primers específicos da região (515F/806R). Após a indexação, os produtos da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram limpos com esferas de purificação Agencourt AMPure XP - PCR (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA) com base nas instruções do fabricante e quantificados com o kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em um Qubit Fluorômetro 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA).

As bibliotecas foram sequenciadas usando o MiSeq 300-Cycle Reagent Kit v2 com um MiSeq Desktop Sequencer (Illumina). O pacote DADA2 v1.28.0 (Callahan *et al.*, 2016) foi usado para filtrar e montar as leituras em variantes de sequenciamento de amplicons (ASVs). As sequências obtidas foram classificadas taxonomicamente com base na versão 5.1 do banco de dados MiDAS, que cataloga microrganismos identificados em digestores anaeróbios (Dueholm *et al.*, 2024), usando o método assignTaxonomy, do pacote DADA2. Índices de alfa-diversidade foram estimados com o método *estimate_richness*, do pacote *Phyloseq* v1.44.0 (McMurdie; Holmes, 2013).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Desempenho dos Reatores no Primeiro Ciclo

Conforme balanço de massa realizado ao final do primeiro ciclo (**Tabela 1**) para os reatores controle (RC), 40,2% da matéria orgânica aplicada foi convertida a CH₄, 29,3% permaneciam na forma solúvel, 5,9% na fração particulada e 24,7% foi direcionada ao crescimento celular e removida do sobrenadante por sedimentação. Nos reatores que receberam OG-Fe₃O₄, reatores RA e RB, a conversão de matéria orgânica a CH₄ (DQO_{CH4}) foi menor em relação ao controle, mas o controle e RB foram agrupados estatisticamente.

Tabela 1 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao primeiro ciclo (valores médios).

Parâmetros	RC	RA	RB	Unidade
	0 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 0 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	3 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 1 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	150 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 50 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	
Balanço de Massa				
DQO _P	5,9 ^a	8,5 ^a	14,9 ^b	%
DQO _S	29,3 ^a	24,3 ^b	17,1 ^c	%
DQO _{CH4}	40,2 ^a	32,0 ^b	39,6 ^a	%
DQO _{Sed+SSV}	24,7 ^a	35,1 ^b	28,4 ^a	%
Rendimentos e Parâmetros Cinéticos				
ER	70,7 ^a	75,7 ^b	82,9 ^c	%
Y ₁	0,568 ^a	0,423 ^b	0,478 ^c	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,226 ^a	0,168 ^b	0,190 ^c	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,402 ^a	0,320 ^b	0,396 ^a	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,160 ^a	0,127 ^b	0,158 ^a	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
PBM	139,2 ^a	106,6 ^b	131,9 ^a	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
k	0,050 ^a	0,056 ^b	0,058 ^b	d ⁻¹
λ	4,481 ^a	1,457 ^b	3,215 ^c	d
μ	5,578 ^a	3,816 ^b	5,473 ^a	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
Composição do Biogás				
CH ₄	75,2 ^a	84,9 ^b	85,3 ^b	%
CO ₂	24,8 ^a	15,1 ^b	14,7 ^b	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

Legenda: letras iguais significam que não há diferença significativa (p < 0,05).

Fonte: O autor (2025).

A matéria orgânica particulada (DQO_P) efluente foi maior nos reatores com OG-Fe₃O₄, sendo que o controle e RA foram classificados no mesmo grupo estatístico. Esse resultado não foi observado nos demais ciclos, nos quais a DQO_P diminuiu com o aumento da

dose de aditivo. Observa-se a elevada porcentagem de matéria orgânica que foi “removida” por sedimentação e destinada ao crescimento celular ($DQO_{Sed+SSV}$), o que indica um potencial para o aumento do PBM com o aumento da capacidade hidrolítica das biomassas.

Os reatores RA e RB apresentaram maior eficiência de remoção (ER) de DQO, 75,7% e 82,9%, respectivamente, quando comparados ao controle que obteve 70,7% (**Tabela 1**). Apesar disso, os rendimentos de produção de CH_4 por DQO removida (Y_1) e aplicada (Y_2) e o Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foram inferiores nesses reatores. Esses dados implicam que outros mecanismos atuam na remoção de matéria orgânica solúvel do efluente, promovendo a elevação da ER nos reatores que receberam aditivo, mas não o aumento nos indicadores de produção de CH_4 .

Nesse contexto, Zhang *et al.* (2017) também reportaram efeitos prejudiciais à digestão anaeróbia (DA) de dejetos suíno com a aplicação de OG. Os autores utilizaram como inóculo um lodo adaptado ao tratamento de resíduos de suinocultura e realizaram um experimento de curto prazo (22 dias) em reatores batelada, com volume reacional de 400 mL, mantidos a 37 °C e 150 rpm. As doses de OG avaliadas foram 0 mg L⁻¹, 5 mg L⁻¹, 50 mg L⁻¹, 100 mg L⁻¹ e 500 mg L⁻¹. Eles reportaram que todas as doses de OG ocasionaram redução na produção acumulada de CH_4 em relação ao valor obtido no reator sem adição de OG. A redução máxima (17%) foi obtida com a dose de 500 mg L⁻¹ e a menor redução (2,7%) com o uso de 100 mg L⁻¹. Assim, os autores concluíram que o PBM do esterco suíno foi reduzido devido à adição de OG, mas não apresentaram ou discutiram possíveis causas para esse resultado.

Os potenciais efeitos adversos do OG na DA que podem justificar a diminuição da DQO_s sem o correspondente aumento da produção de CH_4 são: 1) as bactérias fermentativas podem usar o OG como aceptor de elétrons e sintetizar óxido de grafeno reduzido (OGr), consumindo elétrons do substrato fornecido, que de outra forma estaria disponível para a produção de CH_4 (Bueno-López *et al.*, 2018); 2) a diminuição da biodisponibilidade de matéria orgânica solúvel devido às altas propriedades de adsorção do OG (B. Dong *et al.*, 2019); 3) o nanomaterial pode atuar inicialmente como um estressor ambiental, causando a inibição da atividade microbiana, incluindo morte celular, por envolvimento e aprisionamento (Ponzelli *et al.*, 2022). Nesse contexto, segundo Rojas-Andrade *et al.* (2017), os principais mecanismos antibacterianos do OG em ambientes anaeróbios são o estresse de membrana e o isolamento por envolvimento. Conforme Zhang e Tremblay (2020), os materiais à base de OG podem destruir os microrganismos presentes no meio reacional, perfurando e extraíndo fosfolípidios da(s) membrana(s) e/ou envolver as células, impedindo que os nutrientes passem pela membrana celular e subsequentemente ocasione a inibição do crescimento.

No entanto, o efeito negativo sobre a produção de CH_4 só foi observado no primeiro ciclo de tratamento, quando ocorreu o primeiro contato do aditivo com a microbiota. Nesse contexto, Ponzelli *et al.* (2022) sugerem que o período experimental seja prolongado, visando fornecer tempo necessário para a cultura anaeróbia se adaptar ao aditivo e transformar o estressor em um estimulador, além de indicar que a utilização de OGr seja mais vantajosa devido à não necessidade de redução biológica do OG para a remoção de grupos funcionais de oxigênio (grupos hidroxila, epóxido, diol e carbonila), ligados à sua estrutura.

No processo de funcionalização da nanomagnetita ao OG ocorre a remoção de alguns grupos oxigenados mais superficiais à estrutura do material de grafeno e a substituição desses por óxidos de ferro, promovendo uma redução química parcial do OG. Porém, conforme trabalho que descreve a síntese e a caracterização do OG- Fe_3O_4 utilizado neste estudo (da Silva *et al.*, 2021), o OG- Fe_3O_4 contém grupos funcionais pertencentes aos seus materiais precursores (OG e Fe_3O_4), resultado obtido pela análise de Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios-X (EFRX), e possui camadas residuais empilhadas de OG, resultado obtido por meio de Difração de Raio-X (DRX), indicando que a Fe_3O_4 não se aderiu em toda a superfície do OG. Esses resultados sustentam a presença de grupos funcionais oxigenados no OG- Fe_3O_4 e o gasto energético para a redução biológica do OG.

Igarashi *et al.* (2020), pesquisando o impacto da adição de OG na digestão anaeróbia do etanol em co-culturas de *Geobacter metallireducens* (produtor de elétrons e oxidante de etanol) e *Methanosarcina barkeri* (consumidor de elétrons e produtor de CH_4) concluíram que parte dos elétrons gerados pela oxidação do etanol (EtOH) foram utilizados pela *G. metallireducens* para redução de OG para OGr, diminuindo a razão de conversão de EtOH a CH_4 . Os autores confirmaram a redução biológica do OG por meio de EFRX, a qual indicou a redução drástica de ligações C-OH e C=O e o aparecimento de ligações C-C.

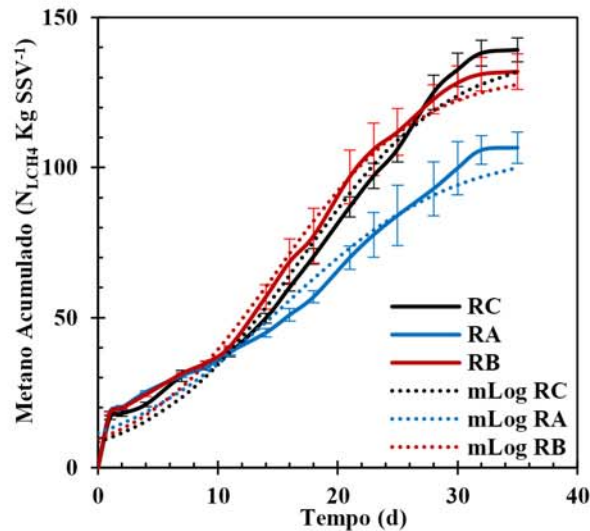
Devido a esses efeitos negativos do OG, Lin *et al.*, (2017) preferiram utilizar Gr puro para avaliar o estímulo à TDEI durante a DA do EtOH e obtiveram resultados mais positivos. Os ensaios foram conduzidos em reatores de vidro operando em batelada com volume de trabalho de 300 mL mantidos sob temperatura mesofílica de 35 °C durante 12 dias. Como fonte de microrganismos foi utilizado um lodo do tratamento de celulose. Além do Gr também utilizaram carvão ativado (CA) para efeito comparativo. A granulometria do CA foi de 10–32 mesh (equivalente a 0,5–1,7 mm) e a do Gr foi de 5 a 10 μm . As concentrações de Gr avaliadas foram de 0, 0,5, 1,0 e 2,0 g L^{-1} , enquanto para o CA os autores utilizaram maiores concentrações (0, 5, 10, 20 e 30 g L^{-1}) devido à condutividade elétrica do CA ser muito inferior à do Gr. Todas as concentrações de Gr favoreceram a metanogênese. A concentração ideal (1,0 g L^{-1}) resultou

em um aumento de 25% no rendimento de CH₄ e um aumento de 19,5% na taxa máxima de produção, valores superiores aos obtidos nos ensaios com a dose de 20 g L⁻¹ CA, a qual apresentou melhor resultado para este material (aumento de 12,8% no rendimento de produção de CH₄ e em 13,7% a taxa máxima de produção). A presença desses materiais diminuiu o tempo de fase *lag* e acelerou a cinética de degradação do EtOH. Na presença de 1,0 g L⁻¹ de Gr e de 20,0 g L⁻¹ de CA, 50,3% e 43,5% de EtOH foram consumidos nos primeiros 2 dias de DA, respectivamente. Comparativamente, apenas 32% de EtOH foi consumido na ausência de condutor. Os autores concluíram que os efeitos da adição de Gr foram mais benéficos e eficientes para aprimorar a digestão anaeróbia do EtOH e apresentaram os seguintes motivos: 1) a condutividade elétrica do Gr é muito maior que a do CA, resultando em maior eficiência na transferência de elétrons na TDEI; e 2) o tamanho micro do Gr resulta em uma maior área superficial específica e uma melhor interação com os microrganismos.

Conforme apresentado na **Tabela 1**, a porcentagem de CH₄ no biogás aumentou com a adição de OG-Fe₃O₄, passando de 75,2% no controle para 84,9% e 85,3% em RA e RB, respectivamente. Esse resultado está consoante a pesquisa de Muratçobanoğlu *et al.* (2021) que relataram o aumento de 65% na produção de biogás e de 5,2% no teor de CH₄ pela aplicação de 20 mg L⁻¹ de OGr, em relação ao controle, no tratamento mesofílico de estrume de vaca em reatores batelada de 300 mL, tendo como inóculo lodo sanitário.

As Curvas Cumulativas de Metano (CCMs) obtidas no primeiro ciclo indicaram uma formação lenta e gradual de CH₄ (**Figura 6**). Essas curvas são típicas de substratos que possuem altas concentrações de compostos orgânicos complexos, como gorduras e matéria orgânica particulada (Labatut *et al.*, 2011). Dentre os três modelos cinéticos avaliados, o modelo Logístico foi o mais eficaz em descrever a metanização da ARS apresentando valores inferiores de NRMSE e de AIC em relação aos outros modelos (**Tabela 8** do Material Suplementar). Pelo modelo Logístico, foram extraídos os valores de taxa máxima de produção de CH₄ (μ) e de tempo de fase *lag* (λ), e, pelo modelo Primeira-Ordem Exponencial, foi obtida a velocidade de produção de CH₄ (k). Os parâmetros cinéticos relacionam-se diretamente com a sintrofia da microbiota anaeróbia e sua afinidade em utilizar o substrato, sendo indicativos do desempenho do processo anaeróbio e do favorecimento ao processo de TDEI.

Figura 6 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético no primeiro ciclo do teste de PBM.



Legenda: as linhas tracejadas expressam as curvas cumulativas de metano (CCMs) geradas pelo ajuste cinético ao modelo matemático mais adequado para cada tratamento estatístico. mLog: CCM gerada pelo modelo Logístico. As barras de erro indicam o desvio padrão de cada amostra.

Fonte: O autor (2025).

A adição de OG-Fe₃O₄ favoreceu a sintrofia microbiana como pode ser entendido pelos valores obtidos dos parâmetros cinéticos de produção de CH₄ (**Tabela 1**). Em relação ao controle, o aumento da dose do aditivo diminuiu λ em 67,5% e 28,3% para RA e RB, respectivamente. O k foi aumentado em 10,7% em RA e em 14,8% em RB em detrimento ao controle. Todavia, refletindo a tendência de Y_1 e do PBM, ocorreu a diminuição na μ em RA (-31,6%) e RB (-1,9%), reforçando o desvio de elétrons da metanização para a redução biológica do OG e para a adsorção de matéria orgânica.

Nesse contexto, Ponzelli *et al.* (2022) avaliaram a aplicação de 5,0, 10,0 e 20,0 mgOG gSV⁻¹ em um sistema de batelada alimentada, com cinco ciclos de tratamento, tendo a glicose como substrato. Os autores obtiveram que as concentrações de OG maiores ou iguais a 10,0 mgOG gSV⁻¹ foram suficientes para acelerar a produção de CH₄ a partir do terceiro ciclo de tratamento, em que os valores de k foram superiores ao do controle (reatores sem OG). No quinto ciclo de tratamento, o k foi aumento de 0,76 d⁻¹ no controle para 1,65 d⁻¹ por efeito de 20,0 mgOG gSV⁻¹, correspondendo a um acréscimo de 117,1% no valor desse parâmetro cinético. Seguindo a mesma tendência de k , o PBM nos reatores aditivados só foi superior ao do controle a partir do terceiro ciclo de tratamento. Ponzelli *et al.* (2022) justificaram esse resultado pelos possíveis efeitos de citotoxicidade, dependentes da dose e do tempo, de

materiais de Gr em comunidades bacterianas e pelo possível envolvimento e aprisionamento de microrganismos por folhas de OG, que dificultam a entrada de nutrientes na célula. Com a diminuição desses efeitos adversos com o tempo, o tratamento anaeróbico da glicose foi beneficiado pelas propriedades condutoras do OG, ocasionando o aumento do PBM e de k .

4.3.2 Desempenho dos Reatores no Segundo e Terceiro Ciclos

Os efeitos positivos da adição de OG-Fe₃O₄ foram mais expressivos no segundo e no terceiro ciclo de tratamento (**Tabela 2** e **Tabela 3**). Para o segundo ciclo, ocorreu a diminuição da DQO_P no efluente tratado com o aumento da dose de aditivo, indicando maior ação hidrolítica e aproveitamento do substrato. Esse resultado está relacionado com a adaptação microbiológica ao aditivo, a especialização da biomassa em degradar o substrato, e ao fato de o OG-Fe₃O₄ atuar como um núcleo de agregação de microrganismos facilitando o contato de enzimas hidrolíticas com o substrato.

Os teores de DQO_S residual também diminuíram, mas permaneceram no mesmo grupo estatístico, provocando o aumento da eficiência de remoção (ER) de 77,9% no controle para 79,2% em RB. Os valores de DQO_{CH4} aumentaram discretamente com a inserção de OG-Fe₃O₄, refletindo em maiores rendimentos Y_1 e Y_2 . Esse ciclo foi marcado pelo aumento de Y_1 , passando de 0,496 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹ no controle para 0,555 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹ em RB, e de Y_2 , o qual teve aumento de 13,7% em relação ao controle. Estando relacionado a Y_2 e a DQO_{CH4}, o PBM apresentou um suave aumento. Nesse ciclo, não houve diferença estatística entre os valores de teor de CH₄ no biogás.

A cinética de metanização da ARS foi melhorada substancialmente no segundo ciclo de tratamento (**Tabela 2**). As variáveis-resposta relacionadas à cinética foram separadas em dois grupos estatísticos, os valores referentes aos reatores com OG-Fe₃O₄ foram agrupados, enquanto o controle ficou em um grupo isolado, indicando que os valores das médias foram diferentes. O modelo de Primeira-Ordem Exponencial foi o mais fidedigno em modelar as CCMs de RA e de RB, retornando maiores valores de R^2 e menores valores de erro NRMSE e de AIC (**Tabela 8**), enquanto o modelo de Gompertz Modificado foi mais adequado para o controle. Diferentemente do primeiro ciclo, o formato das CCMs no segundo ciclo indicou rápida produção de CH₄ e ausência ou curto tempo de fase *lag*, principalmente para os reatores que receberam OG-Fe₃O₄ (**Figura 7A**) (Ware; Power, 2017).

Tabela 2 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao segundo ciclo (valores médios).

Parâmetros	RC	RA	RB	Unidade
	0 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 0 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	3 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 1 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	150 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹ 50 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	
Balanço de Massa				
DQO _P	6,5 ^a	2,5 ^b	0,8 ^b	%
DQO _S	22,1 ^a	21,6 ^a	20,8 ^a	%
DQO _{CH4}	38,6 ^a	43,8 ^b	44,0 ^b	%
DQO _{Sed+SSV}	32,8 ^a	32,1 ^a	34,4 ^a	%
Rendimentos e Parâmetros Cinéticos				
ER	77,9 ^a	78,4 ^{ab}	79,2 ^b	%
Y ₁	0,496 ^a	0,560 ^b	0,555 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,198 ^a	0,223 ^b	0,221 ^b	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,386 ^a	0,438 ^b	0,440 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,154 ^a	0,174 ^b	0,175 ^b	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
PBM	93,2 ^a	101,4 ^a	101,9 ^a	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
k	0,105 ^a	0,138 ^b	0,152 ^b	d ⁻¹
λ	0,49 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	d
μ	6,38 ^a	8,59 ^b	9,43 ^b	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
Composição do Biogás				
CH ₄	84,4 ^a	84,0 ^a	84,7 ^a	%
CO ₂	15,6 ^a	16,0 ^a	15,3 ^a	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

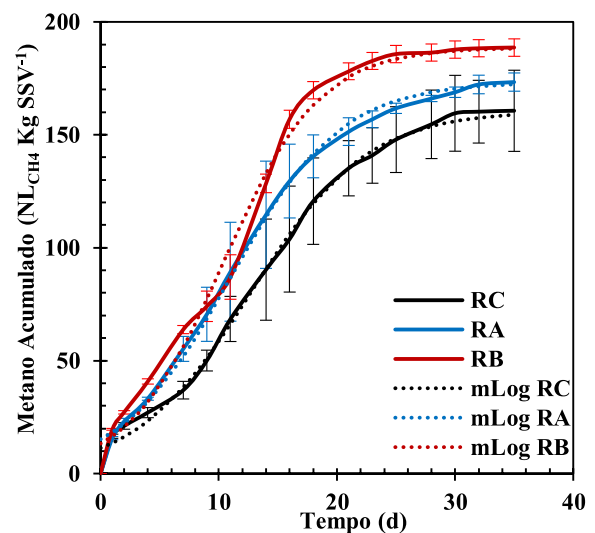
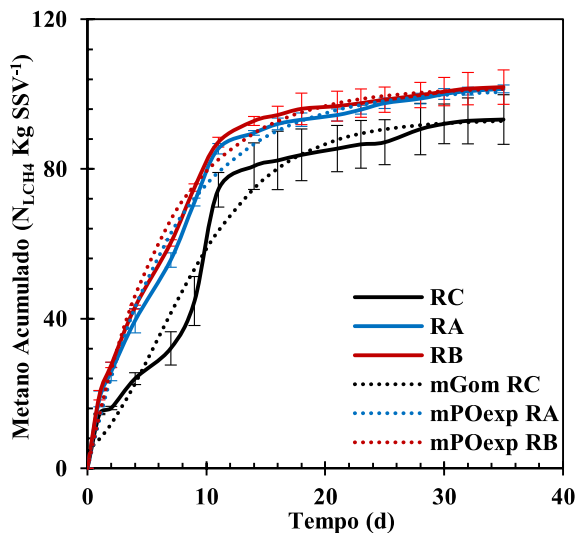
Legenda: letras iguais significam que não há diferença significativa (p < 0,05).

Fonte: O autor (2025).

Figura 7 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético no segundo e no terceiro ciclos do teste de PBM.

A. CCMs do 2º Ciclo

B. CCMs do 3º Ciclo



Legenda: as linhas tracejadas expressam as curvas cumulativas de metano (CCMs) geradas pelo ajuste cinético ao modelo matemático mais adequado para cada tratamento estatístico em cada ciclo do teste de PBM. mLog: CCM gerada pelo modelo Logístico. mPOexp: CCM gerada pelo modelo Primeira-Ordem Exponencial. mGom: CCM gerada pelo modelo Gompertz Modificado. As barras de erro indicam o desvio padrão de cada amostra.

Fonte: O autor (2025).

Além disso, essa modificação de formato das CCMs indica maior sintrofia microbiana e adaptação microbiológica ao substrato e às condições ambientais. A maior aderência do modelo de Primeira-Ordem Exponencial às CCMs de RA e RB em detrimento ao controle reforça a capacidade do OG-Fe₃O₄ em estimular a degradação da matéria orgânica de forma mais rápida e, conseqüentemente, reduzir o tempo de fase *lag* e acelerar a cinética de metanização do substrato. Nesse contexto, k passou de 0,105 d⁻¹ no controle para 0,152 d⁻¹ em RB, um aumento expressivo de 43,8%, enquanto isso, μ foi aumentada em 47,8% (passando de 6,4 NL_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹ no controle para 9,4 NL_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹ em RB) e λ caiu de 0,49 d no controle para 0,0 d em RA e RB.

No terceiro ciclo de tratamento, ocorreu o aumento da DQO_{CH₄} e do Y₂ com o aumento da dose de OG-Fe₃O₄, refletindo no aumento do PBM de 160,6 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ no controle para 173,4 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ e 188,6 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ em RA e RB, respectivamente (aumento total de 17,4%). O maior aproveitamento da DQO_S foi observado pelo aumento da ER de 82,4% no controle para 85,9% em RA e 92,8% em RB (**Tabela 3**). Além disso, ocorreu a redução da DQO_{Sed+SSV}, DQO direcionada para crescimento celular ou removida por sedimentação, em comparação com os ciclos anteriores, indicando maior aproveitamento da matéria orgânica e maior atividade hidrolítica das biomassas.

Além disso, o aditivo provocou o aumento da massa de DQO convertida a CH₄ de 241,6 mgDQO_{CH₄} no controle para 261,12 mgDQO_{CH₄} e 284,13 mgDQO_{CH₄} em RA e RB, respectivamente. Contudo, devido ao aumento da massa de DQO removida, os valores de Y₁ foram equilibrados e iguais estatisticamente, indicando que o mecanismo de adsorção de matéria orgânica solúvel ainda estava ativo nesta etapa de tratamento nos reatores que receberam OG-Fe₃O₄. Assim como no segundo ciclo, o teor de CH₄ no biogás também não foi beneficiado, mas o OG-Fe₃O₄ aumentou a geração de biogás, provendo um maior PBM.

As CCMs do terceiro ciclo indicaram geração mais lenta de CH₄ em comparação com as CCMs do segundo ciclo (**Figura 7B**). Isso pode ser justificado pelas características físico-químicas muito heterogêneas da ARS. Por exemplo, o efluente dessa alimentação poderia ter maior teor de matéria orgânica particulada, aumentando o tempo de hidrólise. Assim, essa modificação no formato da curva não deve ser estritamente relacionada com a diminuição de atividade microbiana, principalmente porque os rendimentos de aproveitamento do substrato foram melhorados nesse ciclo. O modelo Logístico foi o mais adequado para a extração dos parâmetros cinéticos (**Tabela 8**). Comparando RB com o controle, o k foi aumentado em 31,9%, μ em 32,3%, e o tempo de fase *lag* diminuiu de 3,20 d para 2,38d (-25,6%).

Tabela 3 – Balanço de massa, rendimentos, parâmetros cinéticos e composição de biogás referentes ao terceiro ciclo (valores médios).

Parâmetros	RC	RA	RB	Unidade
	0 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹	3 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹	150 mgOG-Fe ₃ O ₄ L ⁻¹	
	0 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	1 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	50 mgOG-Fe ₃ O ₄ gSSV ⁻¹	
Balanço de Massa				
DQO _P	4,4 ^a	3,7 ^a	3,2 ^a	%
DQO _S	17,6 ^a	14,1 ^b	7,2 ^c	%
DQO _{CH4}	61,0 ^a	65,9 ^b	71,7 ^c	%
DQO _{Sed+SSV}	17,0 ^a	16,3 ^a	17,9 ^a	%
Rendimentos e Parâmetros Cinéticos				
ER	82,4 ^a	85,9 ^b	92,8 ^c	%
Y ₁	0,743 ^a	0,767 ^a	0,772 ^a	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,296 ^a	0,305 ^a	0,308 ^a	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,610 ^a	0,659 ^{ab}	0,717 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,243 ^a	0,262 ^{ab}	0,285 ^b	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
PBM	160,6 ^a	173,4 ^{ab}	188,6 ^b	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
k	0,067 ^a	0,079 ^{ab}	0,088 ^b	d ⁻¹
λ	3,20 ^a	2,12 ^b	2,38 ^b	d
μ	8,81 ^a	9,30 ^a	11,65 ^b	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
Composição do Biogás				
CH ₄	83,7 ^a	83,9 ^a	83,4 ^a	%
CO ₂	16,3 ^a	16,1 ^a	16,6 ^a	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

Legenda: letras iguais significam que não há diferença significativa (p < 0,05).

Fonte: O autor (2025).

Com base nos resultados positivos do segundo e do terceiro ciclo de tratamento, é possível afirmar que o desvio energético para redução do OG e a diminuição da disponibilidade de matéria orgânica solúvel por adsorção foram os mecanismos preponderantes na diminuição da produção de CH₄ no primeiro ciclo de tratamento, sendo que a inibição da atividade bacteriana por envolvimento e aprisionamento não deve ter contribuído de forma significativa para esse resultado, caso contrário, seria observado efeitos negativos nos demais ciclos.

4.3.3 Estabilidade dos Digestores Anaeróbios

A estabilidade dos digestores anaeróbios em cada ciclo de tratamento foi analisada por meio das concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrogênio amoniacal livre (NAL) e amônio (NH₄⁺) e dos valores de pH, os quais são apresentados na **Tabela 4**. Como a ARS é um substrato rico em proteínas, é importante analisar a concentração de nitrogênio

amoniacal, objetivando verificar uma possível inibição da atividade metanogênica devido ao excesso de amônia. Enquanto isso, os valores de pH indicam se os digestores anaeróbios operaram em condições adequadas para o metabolismo das arqueias metanogênicas.

Tabela 4 – Parâmetros utilizados para verificar a estabilidade dos digestores anaeróbios em cada ciclo de tratamento da ARS.

Reatores	pH		NAT (mg-N L ⁻¹)			NAL (mg-N L ⁻¹)			NH ₄ ⁺ (mg-N L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	TA (%)	Inicial	Final	TA (%)	Inicial	Final
1º ciclo de tratamento										
RC	7,2	7,2	188,2	294,6	56,4	4,2	5,8	39,8	184,0	288,8
RA	7,2	7,3	154,0	253,9	64,9	3,3	6,6	97,4	150,7	247,3
RB	7,2	7,5	159,6	260,3	63,1	3,6	10,0	178,8	156,0	250,3
2º ciclo de tratamento										
RC	7,2	7,0	100,8	172,5	71,1	2,1	2,2	4,0	98,7	170,3
RA	7,2	7,1	83,4	143,9	72,5	1,8	2,0	9,8	81,6	141,9
RB	7,2	7,1	87,9	150,6	71,3	1,7	2,4	36,6	86,2	148,2
3º ciclo de tratamento										
RC	7,4	7,2	76,1	138,7	82,3	2,4	2,7	16,3	73,7	136,0
RA	7,4	7,2	76,3	138,8	81,9	2,4	2,9	21,5	73,9	135,9
RB	7,4	7,2	76,2	138,9	82,3	2,4	3,1	30,2	73,8	135,8

Legenda: NAT: nitrogênio amoniacal total; NAL: nitrogênio amoniacal livre; NH₄⁺: amônio; TA: Taxa de aumento (%). É a porcentagem de aumento de NAT ou de NAL em relação a seu valor inicial.

Fonte: O autor (2025).

As concentrações de NAT, NAL e NH₄⁺ foram inferiores aos comumente reportados como inibitórios (NAT acima de 4.000 mg-N L⁻¹, NAL entre 300 e 800 mg-N L⁻¹ e NH₄⁺ entre 1.500 e 3.000 mg-N L⁻¹), demonstrando que não houve inibição da atividade metanogênica por excesso de nitrogênio amoniacal (Rocamora *et al.*, 2020). Alguns estudos indicam que concentrações de NAL entre 100 e 150 mg-N L⁻¹ podem inibir a metanogênese realizada por inóculos não adaptados ao substrato e as condições operacionais avaliadas (Chen *et al.*, 2014). Apesar disso, as concentrações de NAL obtidas foram muito inferiores a essas.

Os valores de pH mantiveram-se entre 7,0 e 7,5 para todos os reatores nos três ciclos de tratamento da ARS. Considerando que as arqueias metanogênicas suportam ambientes com pH entre 6,0 e 8,0 e têm metabolismo favorecido na faixa de pH entre 6,6 e 7,4, afirma-se que não ocorreu acúmulo de ácidos orgânicos capaz de reduzir os valores de pH a níveis inibitórios, indicando um bom funcionamento dos digestores anaeróbios (Náthia-Neves *et al.*, 2018).

O OG-Fe₃O₄ aumentou de forma discreta a disponibilização de NAT no primeiro ciclo de tratamento, elevando a taxa de aumento (TA) de 56,4% no controle para 64,9% e 63,1% em RA e RB, respectivamente, sugerindo que o aditivo potencializou a hidrólise de proteínas (Tabela 4). Entretanto, esse efeito não foi observado nos demais ciclos, provavelmente devido à adaptação dos microrganismos à degradação do substrato.

Considerando os valores médios da TA para o NAT em cada ciclo, observou-se que esse parâmetro aumentou de 61,5% no primeiro ciclo para 71,6% e para 82,1% no segundo e no terceiro ciclo, respectivamente, indicando a especialização microbiana à degradação de proteínas e aminoácidos presentes na ARS, tornando a hidrólise mais eficiente ao longo do período experimental. Esse resultado corrobora o progressivo aumento dos rendimentos de produção de CH₄ por DQO removida (Y_1) e aplicada (Y_2) a cada ciclo de tratamento realizado (**Tabelas 1, 2 e 3**). Por exemplo, tomando como base os resultados de RB, o Y_1 aumentou de 0,478 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹ no primeiro ciclo para 0,555 e 0,772 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹ no segundo e no terceiro ciclo, respectivamente. Enquanto isso, o Y_2 passou de 0,396 gDQO_{CH4} gDQO_{apl}⁻¹ para 0,440 e 0,717 gDQO_{CH4} gDQO_{apl}⁻¹ nos ciclos seguintes.

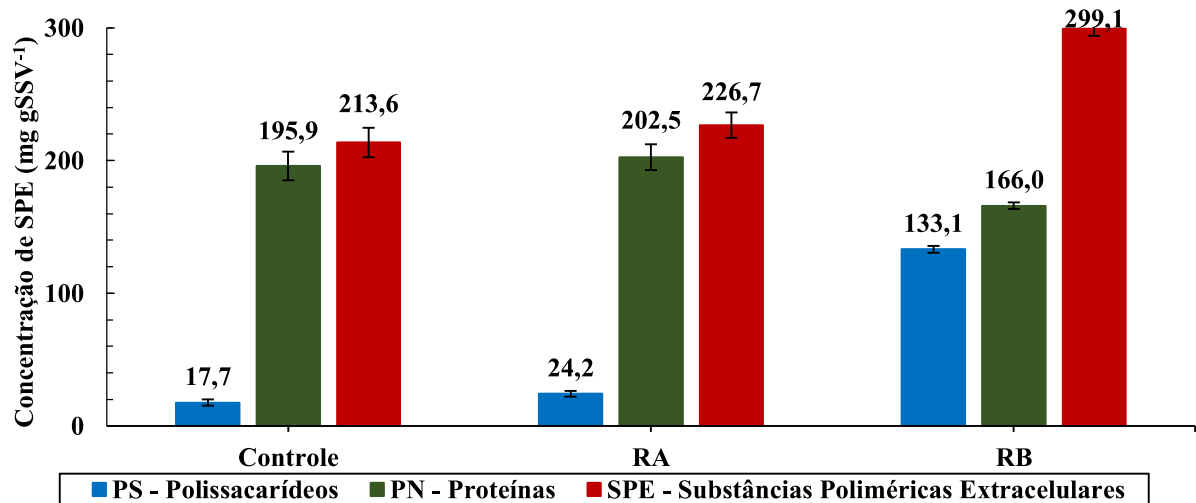
Apesar de todas as concentrações de NAL estarem abaixo dos valores inibitórios, nota-se que a TA para essa parcela de amônia foi elevada progressivamente com o aumento da dose de OG-Fe₃O₄. Esse efeito foi mais expressivo no primeiro ciclo, em que a TA para o NAL aumentou de 39,8% no controle para 97,4% em RA e para 178,8% em RB. Esse resultado é justificado pelos maiores valores de pH em RA e RB, em comparação com o controle, ao final de cada ciclo, pois o aumento do pH favorece a formação de NAL (Y. Xiao *et al.*, 2022).

4.3.4 *Análise das Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE)*

A adição de OG-Fe₃O₄ alterou a composição e na concentração das Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE) da biomassa. Conforme Liu *et al.* (2023), SPE é uma mistura complexa que inclui polissacarídeos (PS), proteínas (PN), fosfolipídios, ácidos nucleicos e ácidos húmicos, e sua produção é afetada por vários fatores, como secreção, lise e eliminação de células do ambiente interno e, no modo operacional, substâncias nutritivas do ambiente externo. O aumento da dose de OG-Fe₃O₄ resultou em um aumento progressivo da concentração de SPE total, com aumento nos teores de PS e diminuição da quantidade de PN (**Figura 8**).

A concentração de SPE aumentou de 213,6 mg gSSV⁻¹ no controle para 299,1 mg gSSV⁻¹ em RB, acréscimo correspondente a 40%. Conforme Xue *et al.* (2012), as SPE têm um papel importante no processo de granulação e na proteção dos microrganismos em condições ambientais adversas, como em contato com substâncias tóxicas e riscos à dessecação. Além disso, as SPE estimulam a sintrofia microbiana através da regulação de atividades enzimáticas, favorecem a coesão do biofilme e podem beneficiar a transferência de elétrons, quando contém substâncias eletroativas e grupos funcionais redox, como quinonas (Wang *et al.*, 2021).

Figura 8 – Concentração de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e suas frações (polissacarídeos - PS e proteínas - PN) nos lodos avaliados.



Fonte: O autor (2025).

A aplicação de OG em um sistema anaeróbio pode aumentar a secreção de SPE pelos microrganismos. As bordas afiadas do OG podem danificar as células da membrana e aumentar a liberação de material intracelular. Nessas condições, os microrganismos produzem e liberam mais SPE para se adaptar às novas condições de estresse, enquanto usam as SPE excretadas como uma escudo protetor ou como um transportador de elétrons para promover o processo de transferência de elétrons (PONZELLI *et al.*, 2024).

O teor de PS nas SPE aumentou de 8,3% no controle para 10,7% e 44,5% nos reatores RA e RB, respectivamente. Enquanto isso, o teor de PN caiu de 91,7% no controle para 89,3% no RA e 55,5% em RB. Nesse contexto, Tian *et al.* (2017), investigando os efeitos do nanografeno (30 mg L⁻¹ e 120 mg L⁻¹) na metanogênese da glicose, também obtiveram que o aumento nas dosagens de grafeno resultou em um aumento nos teores de PS na SPE. Os autores comunicaram que o Gr teve efeitos significativamente positivos no aumento da concentração de SPE de aproximadamente 170 mg gSSV⁻¹ (88,2% PN e 11,8% PS) nos reatores controle para 200 mg gSSV⁻¹ (65% PN e 35% PS) nos reatores que receberam 120 mg L⁻¹ de Gr. Esses resultados foram relacionados com a capacidade das SPE favorecerem a granulação do lodo e a formarem uma matriz gelatinosa, que aglomera os microrganismos dentro do biofilme e, assim, constrói uma barreira protetora capaz de resistir a condições ambientais adversas, como os potenciais efeitos negativos causados pelo OG (Li *et al.*, 2015).

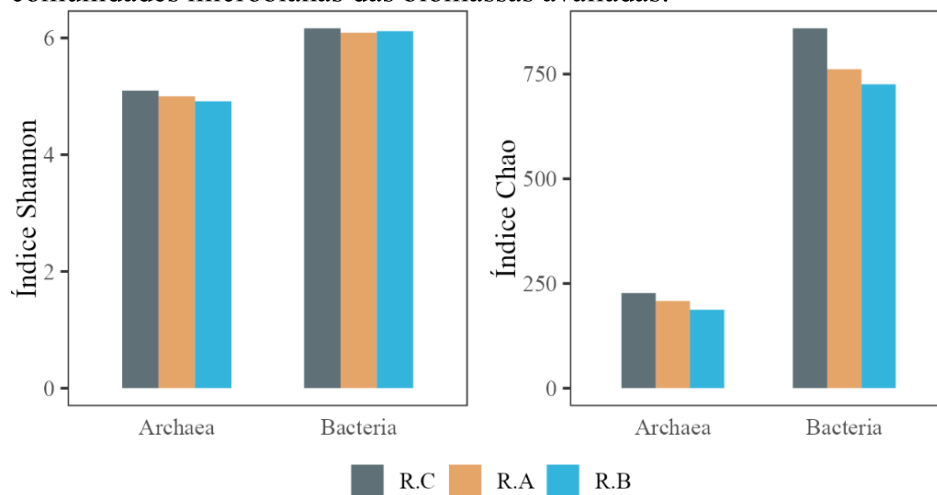
O aumento no teor de PS nas SPE também foi reportado em outros trabalhos que avaliaram o impacto de materiais de Gr na digestão anaeróbia (Igarashi *et al.*, 2020; Muratçobanoğlu *et al.*, 2021). Muratçobanoğlu *et al.* (2021), investigando o impacto do OGr

na digestão anaeróbia do esterco de vaca, observaram a partir de análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que estruturas semelhantes a exopolissacarídeos (SPE) no biofilme aumentaram com a adição de OGr, promovendo a formação de colônias e a transferência de elétrons entre os microrganismos. Portanto, infere-se que o aumento das SPE contribuiu com a metanização de ARS devido à promoção de sintrofia biológica e TDEI.

4.3.5 Análise das Comunidades Microbianas

O índice de Shannon e o Índice de Chao são indicadores de alfa-diversidade para medir a uniformidade, diversidade e riqueza das espécies microbianas. Quanto maior o índice de Shannon mais uniforme e diversa é a biomassa e quanto maior índice de Chao maior a riqueza de espécies (Dai *et al.*, 2022). O índice Shannon indicou que ocorreu a diminuição da uniformidade das espécies de bactérias e de arqueias nos reatores que receberam OG-Fe₃O₄ em relação aos reatores sem aditivo, implicando na diminuição da diversidade dos microrganismos nessas biomassas e na dominância de determinadas espécies (**Figura 9**). Conforme o índice Chao, a riqueza de bactérias e de arqueias diminuiu nos reatores RA e RB, resultando em uma seleção microbiológica para a metanogênese (**Figura 9**).

Figura 9 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.



Fonte: O autor (2025).

O OG-Fe₃O₄ aumentou a abundância de bactérias (88,5% no controle para 90,4% e 91,6% em RA e em RB, respectivamente) e, conseqüentemente, reduziu da abundância de arqueias (11,5% no controle para 9,7% e 8,4% em RA e em RB, respectivamente) na comunidade microbiana. Além disso, não foram observadas diferenças expressivas quanto às

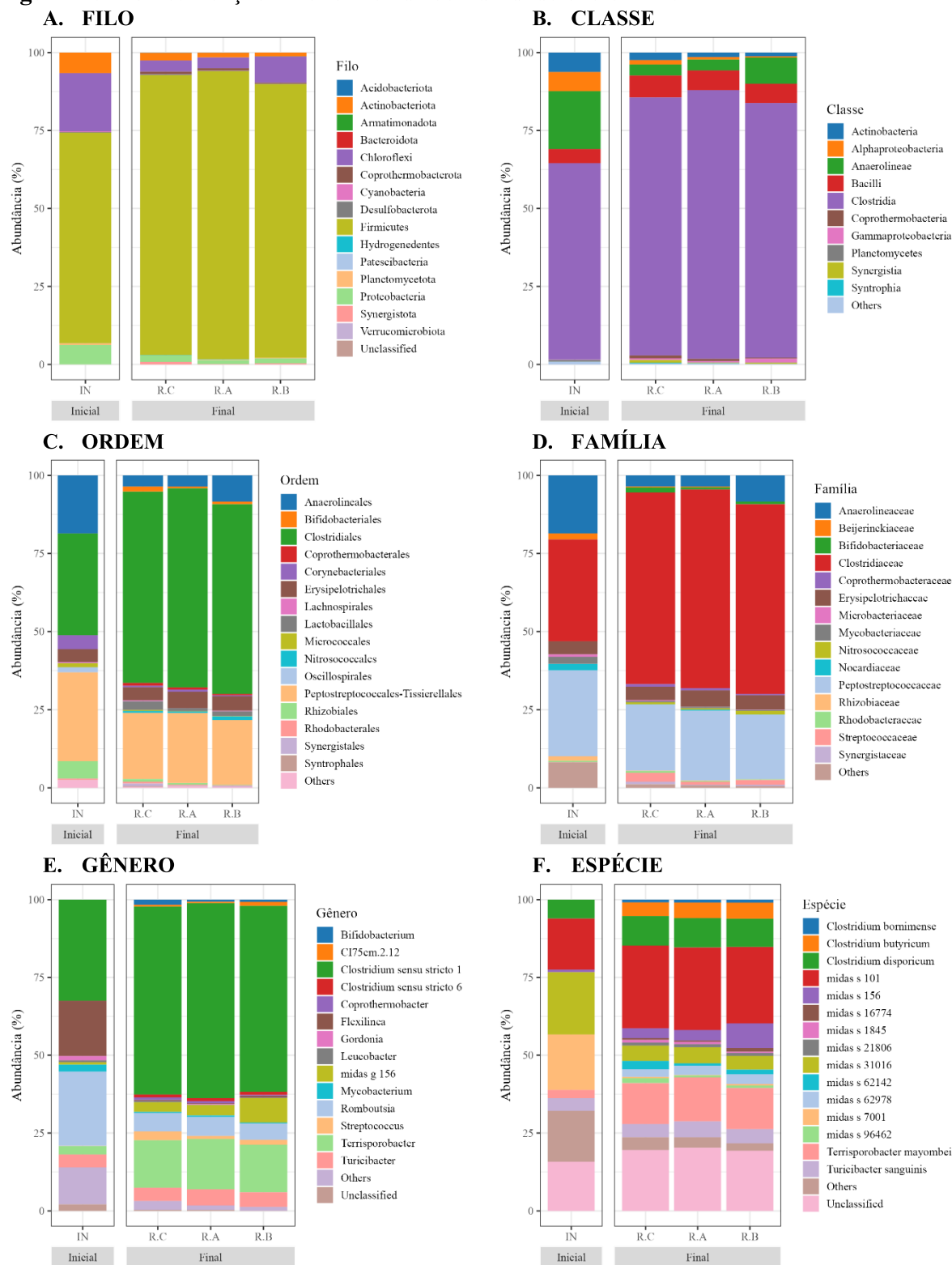
comunidades microbianas presentes na biomassa do reator controle e nas biomassas que receberam OG-Fe₃O₄, sendo que as maiores alterações parecem ter sido provocadas pela adaptação microbiológica à degradação do substrato (a comunidade microbiana do lodo de inóculo é substancialmente diferente das que realizaram o tratamento da ARS).

Apesar desses fatores, ocorreu o beneficiamento da metanização da ARS, fato comprovado pelo aumento do PBM e dos rendimentos de produção de CH₄ nos últimos ciclos de tratamento, indicando que o OG-Fe₃O₄ pode atuar na melhoria da digestão anaeróbia de diversas formas. Nesse contexto, Tian *et al.* (2017) comunicaram que o Gr pode beneficiar a metanogênese aumentando o teor e a atividade da coenzima F420, uma enzima-chave para o processo metanogênico. Esses autores reportaram que a adição de 120 mg L⁻¹ de Gr na digestão anaeróbia de glicose aumentou o teor da coenzima F420 em 2,1 vezes em relação ao controle sem aditivo, explicando a maior velocidade e as maiores taxas de utilização de acetato (gerado pela fermentação da glicose), e, conseqüentemente, a maior a produção de CH₄.

Assim, os mecanismos de aperfeiçoamento da digestão anaeróbia pelo OG-Fe₃O₄ ainda precisam ser mais investigados e elucidados. Porém, é possível afirmar que o material estimulou sintrofia microbiológica ao promover a formação de SPE e ao estimular a TDEI, comprovada pela maior velocidade na produção de CH₄ e na diminuição do tempo de fase *lag*.

4.3.5.1 Estrutura da Comunidade Bacteriana

O filo *Firmicutes* foi predominante ao final do tratamento da ARS, aumentando em abundância relativa de 67,5% no inóculo para 89,8%, 92,4% e 87,8% no controle, em RA e em RB, respectivamente. (**Figura 10A**). Esse resultado indica que o aumento da abundância relativa desse filo está relacionado a especialização microbiológica para a degradação da ARS e não a influência do OG-Fe₃O₄. Conforme Lourinho *et al.* (2020), *Firmicutes* são bactérias sintróficas que podem degradar AGVs e são comuns e abundantes em processos de degradação de dejetos suínos. Além disso, podem produzir uma variedade de enzimas relacionadas à degradação de produtos orgânicos complexos e são as bactérias predominantes na acidificação hidrolítica, comuns em sistemas anaeróbios com altos teores de nitrogênio amoniacal (Xiao *et al.*, 2021). Zhang *et al.* (2017), avaliando a aplicação de OG na digestão anaeróbia de dejetos suíno, reportaram que a diversidade microbiana diminuiu após tratamento e que as bactérias do filo *Firmicutes* aumentaram em abundância.

Figura 10 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana.

Fonte: O autor (2025).

O aditivo também impactou na abundância do filo *Actinobacteriota*, provocando sua redução de 2,4% no controle para 1,4% e 1,2% em RA e em RB, respectivamente. A abundância dessas bactérias no lodo de inóculo era superior (6,6%), indicando que a digestão anaeróbia do substrato (ARS) também influenciou na redução desses microrganismos. Conforme Qin *et al.* (2021), o filo *Actinobacteriota* atua na degradação de compostos orgânicos para a formação de acetato e H₂.

O filo *Chloroflexi* também teve abundância reduzida após tratamento da ARS passando de 18,7% no inóculo para 3,6% no controle. Porém, a maior dose de OG-Fe₃O₄ impactou positivamente esse filo, aumentando sua abundância relativa para 8,4% em RB (**Figura 10A**). No entanto, em RA, a abundância relativa de *Chloroflexi* foi igual a do controle (3,6%). As bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi* são hidrolíticas-fermentativas e desempenham papel benéfico na granulação do lodo devido fornecerem estrutura filamentosa na qual os flocos são formados (Bovio-Winkler *et al.*, 2023). Essas bactérias fermentam carboidratos e proteínas em substratos de baixo peso molecular (Speirs *et al.*, 2019). A maior abundância desse gênero nos reatores RB pode ter favorecido à formação de grânulos microbianos, contribuindo para a maior produção de SPE e de CH₄ nesses reatores, principalmente nos dois últimos ciclos de tratamento (**Figura 9**).

As classes taxonômicas mais favorecidas com o tratamento da ARS e com o aditivo foram *Clostridia*, *Anaerolineae* e *Gammaproteobacteria*, enquanto *Actinobacteria* e *Alphaproteobacteria* tiveram abundâncias diminuídas com o aumento da dose de material (**Figura 10B**). *Clostridia* são bactérias associadas à hidrólise e fermentação de proteínas, polissacarídeos, aminoácidos e outros substratos orgânicos e estão envolvidas na degradação de celulose, na oxidação do acetato sintrófico, além de atuarem na fermentação de butirato (com H₂ e acetato como produtos principais) e na homoacetogênese (**Figura 10C**) (Jo *et al.*, 2022). Conforme Hu *et al.* (2019), *Clostridia* apresentam alta tolerância em ambientes com elevadas concentrações de AGVs e amônia, indicando que resistem a fatores ambientais adversos. Isso pode estar relacionado ao aumento de sua abundância nos reatores que receberam OG-Fe₃O₄.

A classe *Anaerolineae* pertence ao filo *Chloroflexi* desempenha papel fundamental na fermentação de carboidratos, produzindo acetato, H₂ e lactato. O aumento de sua abundância pode aumentar a disponibilidade de substratos para o processo metanogênico (Romero *et al.*, 2020). Conforme Bovio-Winkler *et al.* (2023), bactérias do gênero *Chloroflexi*, principalmente da classe *Anaerolineae*, realizam associação sintrófica com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, atuando como fornecedores de elétrons, resultantes da oxidação de carbono orgânico, aos metanogênicos. Portanto, *Chloroflexi* e *Methanobacterium*, arqueia

hidrogenotrófica com maior abundância nas biomassas avaliadas, provavelmente estabeleceram interações sintróficas de transferência de elétrons, como a TIEI (difusão de H_2) ou a TDEI via OG- Fe_3O_4 ou por meio de proteínas transportadoras (e-pili e citocromo do tipo c).

Gammaproteobacteria apresentou uma maior abundância nos reatores com maior concentração de OG- Fe_3O_4 . Segundo Zheng *et al.* (2022), a magnetita (Fe_3O_4) enriquece microrganismos redutores de Fe (III), como algumas bactérias da classe *Gammaproteobacteria*, o que pode estimular a hidrólise de orgânicos complexos a compostos moleculares menores por meio do processo de redução desassimilatória de ferro (RDF), fornecendo mais substratos para metanógenos e melhorando o desempenho da digestão anaeróbia. As bactérias redutoras de ferro (BRF) são capazes de reduzir o ferro férrico, Fe (III), utilizando-o como acceptor final de elétrons com a oxidação de matéria orgânica ou H_2 (doadores de elétrons), obtendo energia para suas funções metabólicas (Scala *et al.*, 2006). Esse processo contribui para a regulação dos processos acetogênicos e metanogênicos ao manter o ambiente em baixa pressão parcial de H_2 .

Xu *et al.* (2019) relatam um mecanismo de TDEI a partir do ciclo redox de óxidos de ferro. Os autores comunicam que as bactérias sintróficas podem transferir elétrons advindo da oxidação de álcoois ou de AGVs para óxidos de ferro, o Fe (III) aceita elétrons e é reduzido para óxido ferroso, Fe (II), o qual transfere elétrons para metanógenos para redução de CO_2 a CH_4 e se oxida a Fe (III), restaurando o ciclo. Assim, o próprio Fe (II) é readsorvido ao Fe (III) (mineral) através da reprecipitação. Assim, o ciclo redox do ferro participa efetivamente na TDEI. Esse mecanismo pode ter ocorrido nos reatores com maior dose de aditivo, contribuindo para a utilização do substrato e para o aperfeiçoamento da cinética de metanização da ARS.

Conforme Zhang e Tremblay (2020) e Zhong *et al.* (2024), os principais microrganismos envolvidos na redução biológica de OG são as *Geobacter* e *Shewanella*, as quais também são microrganismos relacionados a RDF, indicando que bactérias que atuam em uma dessas vias podem atuar na outra. Com efeito, propõe-se que as bactérias *Clostridium sensu stricto 1*, as mais abundantes nas biomassas avaliadas pós-tratamento da ARS (60,39% no controle, 62,73% em RA e 59,77% em RB), foram as responsáveis pela síntese do OGr, já que *Geobacter* e *Shewanella* não foram encontradas nas biomassas avaliadas, e juntamente com bactérias da classe *Gammaproteobacteria* possam ter participado de reações de RDF e na transferência de elétrons por meio de óxidos de ferro (II e III). A participação de bactérias *Clostridium* no ciclo redox do ferro já foi relatada em outros trabalhos (Mishra; Pradhan, 2024; Nguyen *et al.*, 2024). Logo, *Clostridium* devem ter sido as principais bactérias a atuarem nos processos de TDEI, seja por doação de elétrons para arqueias por meio da superfície do OG- Fe_3O_4 ou por participação no ciclo redox do ferro.

Os gêneros com maior abundância foram *Clostridium sensu stricto 1*, *Romboutsia*, *Terrisporobacter* e *Turicibacter* (**Figura 10E**). De acordo com Zhuravleva *et al.* (2022), os membros do gênero *Clostridium sensu stricto 1* são acetógenos capazes de realizar TDEI em simbiose com *Methanoxanthus* (*Methanosaeta*). *Terrisporobacter* e *Turicibacter* são bactérias fermentadoras que utilizam carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos como substrato e são comuns na digestão anaeróbia de ARS (Xiao *et al.*, 2021). Em todos os reatores, as espécies *Clostridium butyricum*, *Clostridium disporicum*, *Terrisporobacter mayombe* e *Turicibacter sanguinis* foram as mais abundantes, todas pertencentes ao filo *Firmicutes* (**Figura 10F**).

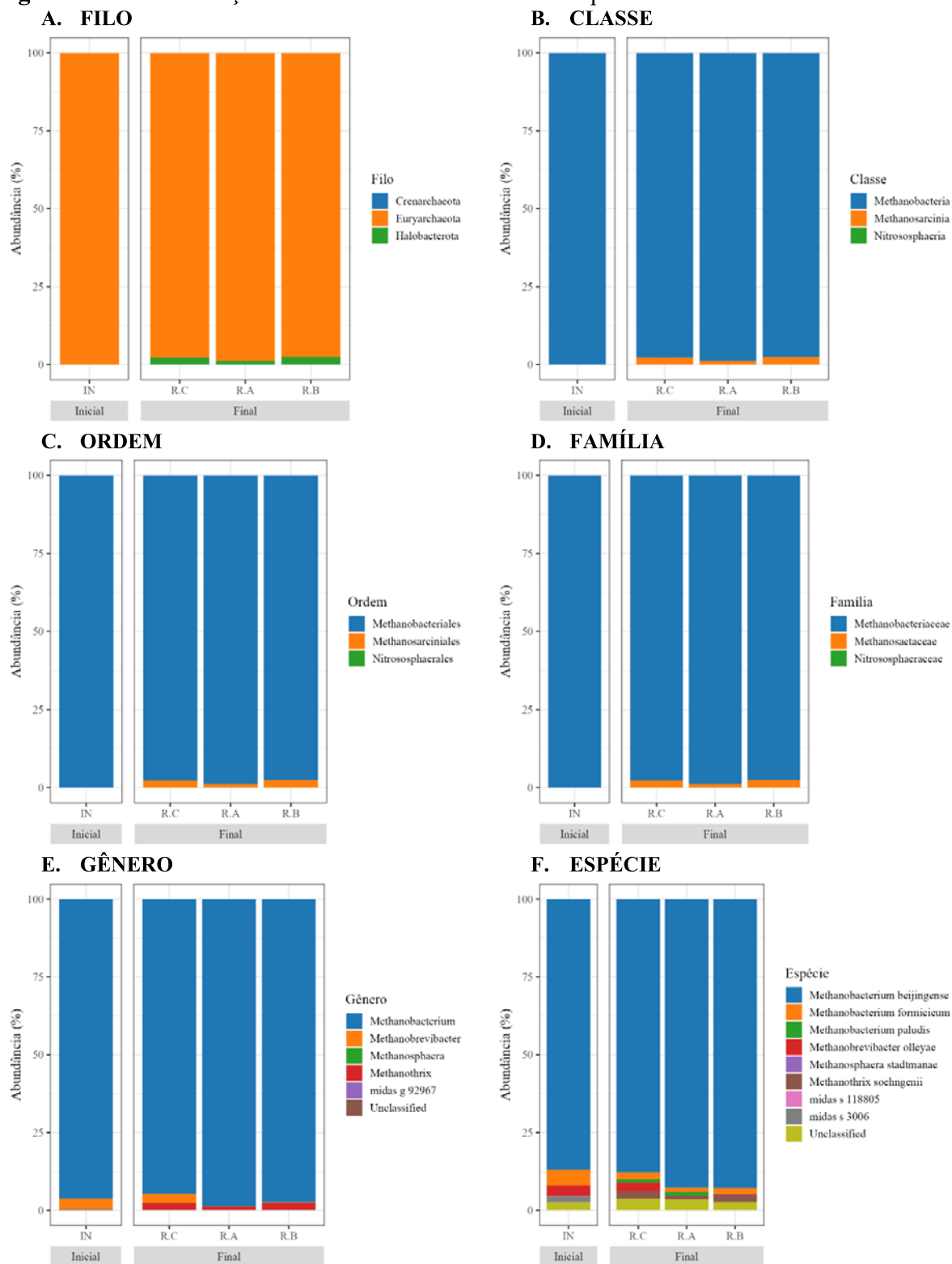
4.3.5.2 Estrutura da Comunidade Arqueal

Os filos em maior abundância na comunidade de arqueias foram *Euryarchaeota* e *Halobacterota* (**Figura 11A**). Conforme Lourinho *et al.* (2020), o filo *Euryarchaeota* domina as vias funcionais de formação de CH₄, estando frequentemente em maior abundância do que outros filos em reatores anaeróbios. Enquanto isso, os microrganismos pertencentes ao filo *Halobacterota* são os mais diversos metabolicamente dentre os metanogênicos, e podem atuar nas vias hidrogenotrófica, acetoclástica e metilotrófica (Lyu; Whitman, 2019).

Os gêneros de arqueias mais abundantes nos reatores foram *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e *Methanoxanthus* (**Figura 11E**). A adição de OG-Fe₃O₄ diminuiu a diversidade e a riqueza das arqueias (**Figura 9**) e enriqueceu *Methanobacterium*, a qual teve dominância sobre os outros gêneros (94,7% no controle, 98,7% em RA e 97,4% em RB) de arqueias, indicando favorecimento à metanogênese hidrogenotrófica (MH). *Methanobrevibacter* teve abundância inferior nos reatores RA (0,03%) e RB (0,13%) em relação ao controle (2,9%). A espécie dominante foi a *Methanobacterium beijingense*.

Segundo Hu *et al.* (2019), os gêneros *Methanobacterium* e *Methanobrevibacter* são microrganismos associados à MH e possuem tolerância a altas concentrações de AGVs e amônia. Lin *et al.* (2017), avaliando a metanização do EtOH com a adição de Gr, obtiveram o enriquecimento de bactérias *Geobacter* e *Pseudomonas* e de arqueias *Methanobacterium* e *Methanospirillum*, indicando que esses microrganismos estabeleceram parceria para a TDEI, contribuindo para o melhor desempenho da digestão anaeróbia do EtOH. Nesse contexto, Lin *et al.* (2018) reportaram o enriquecimento de *Methanobacterium* em sistemas anaeróbios adicionados de Gr tendo glicina como substrato e propuseram que esse gênero desempenha papel importante na TDEI.

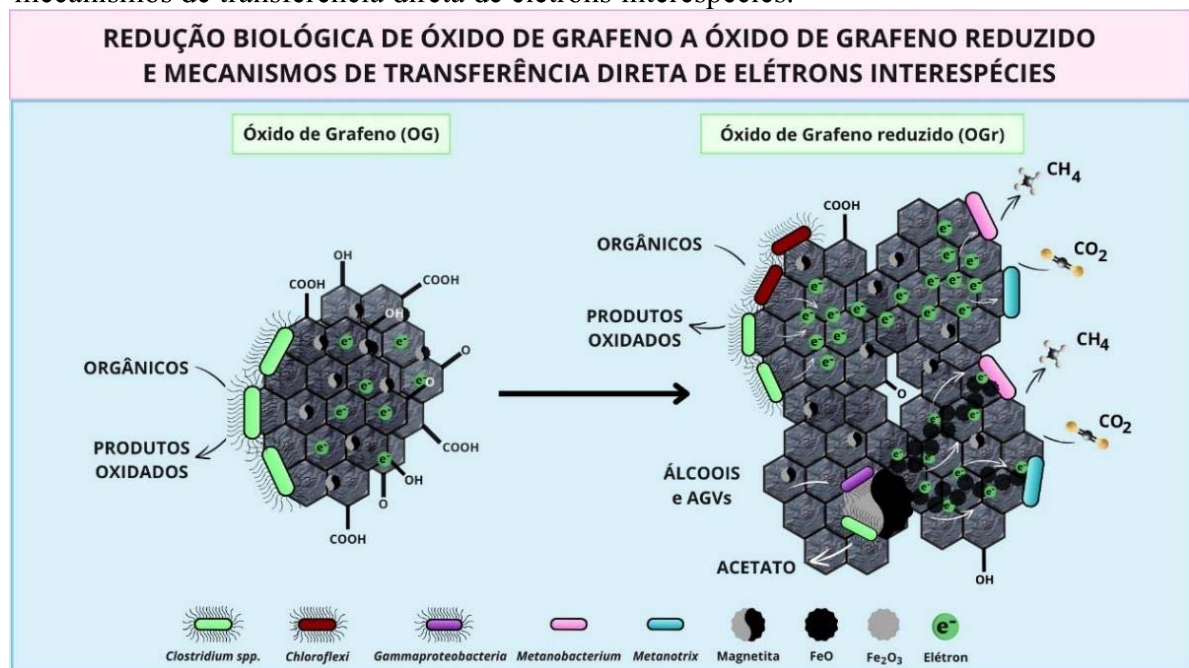
Com o tratamento anaeróbio da ARS ocorreu o enriquecimento da espécie *Methanothrix soehngeni*, o qual não foi detectada no inóculo. Todavia, as abundâncias relativas foram semelhantes nas biomassas avaliadas (2,27% no controle, 1,19% em RA e em 2,3% em RB), indicando que essa arqueia foi estimulada pela adaptação microbiológica à degradação da ARS e não por efeito do aditivo. *Methanothrix* são arqueias acetoclásticas e são capazes de reduzir CO₂ a CH₄ ao aceitarem elétrons via TDEI (Rotaru *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2018). Essas arqueias têm lenta taxa de crescimento quando comparadas a outros metanogênicos típicos de digestores anaeróbios, como as *Methanosarcina*, e baixa resistência a ambientes ácidos e com elevada concentração de nitrogênio amoniacal (NH₃) (Hou *et al.*, 2023a). Estudos propõem que a *Methanothrix* pode ser favorecida com adição de materiais condutores à base de ferro, principalmente ferro de valência zero (FeVZ) e de Fe₃O₄. Zheng *et al.* (2022) estudando a digestão anaeróbia de dejetos suínos em condição semiseca encontraram que a adição de Fe₃O₄ enriqueceu *Methanothrix*, indicando o estabelecimento de TDEI e aumentando os rendimentos de produção de CH₄. Zhao *et al.* (2018) também relataram os efeitos positivos da Fe₃O₄ no enriquecimento desse gênero de arqueias. As principais parceiras de TDEI da *Methanothrix* são os gêneros *Geobacter* e *Clostridium sensu stricto 1* (Xiao *et al.*, 2019). Nesse sentido, aponta-se uma correlação positiva entre o aumento da abundância relativa de *Clostridium sensu stricto 1* e o enriquecimento de *Methanothrix soehngeni* com o tratamento da ARS.

Figura 11 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal.

Fonte: O autor (2025).

Com base nos resultados obtidos, propõe-se que a adição de OG-Fe₃O₄ no tratamento anaeróbico da ARS estimulou a TDEI entre as bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi* e as bactérias *Clostridium sensu stricto 1* (filo *Firmicutes*) com as arqueias metanogênicas *Methanobacterium beijingense* e *Methanotherx soehngenii*. Os principais resultados obtidos pela inserção de OG-Fe₃O₄ na digestão anaeróbica da ARS quanto aos mecanismos de transferência de elétrons, síntese de OGr e os microrganismos envolvidos nesses processos são resumidos na **Figura 12**.

Figura 12 – Redução biológica de óxido de grafeno a óxido de grafeno reduzido e mecanismos de transferência direta de elétrons interespecies.



Fonte: O autor (2025).

4.4 Conclusão

A adição de óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita (OG-Fe₃O₄) nos ensaios de produção de metano (CH₄) a partir da água residuária de suinocultura (ARS) promoveu uma seleção microbiológica para favorecimento dos processos hidrolíticos, fermentativos e metanogênicos. *Chloroflexi* e *Methanobacterium beijingense* foram os principais microrganismos enriquecidos pelo OG-Fe₃O₄. Os potenciais parceiros de transferência direta de elétrons interespecíes (TDEI) foram as bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi* e as bactérias *Clostridium sensu stricto 1* (filo *Firmicutes*) com as arqueias metanogênicas *Methanobacterium beijingense* e *Methanotheroxothrix soehngenii*. A condução de elétrons pela superfície do OG-Fe₃O₄ e pelo ciclo redox do ferro foram os potenciais mecanismos de TDEI. As bactérias *Clostridium sensu stricto 1* devem ter participado da redução biológica de óxido de grafeno (OG) a óxido de grafeno reduzido (OGr) e o filo *Chloroflexi* foi relacionado com o aumento da concentração de Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE) e com o aumento da produção de CH₄. O estímulo à sintrofia da microbiota anaeróbia acelerou a velocidade de produção de CH₄ (*k*) em 31,9%, diminuiu o tempo de adaptação dos microrganismos ao substrato (*λ*) em 25,6%, aumentou a taxa máxima de produção de CH₄ (*μ*) em 32,3% e o potencial bioquímico de CH₄ (PBM) em 17,4% nos experimentos em longo prazo (terceiro ciclo).

Conclui-se que o OG-Fe₃O₄ torna a digestão anaeróbia da ARS mais eficiente ao aumentar e acelerar a produção de CH₄. Seus efeitos benéficos sobre a digestão anaeróbia são mais expressivos em experimentos de longo prazo, pois o OG pode ser reduzido a OGr, o que promove gasto energético, e adsorver matéria orgânica solúvel, limitando o teor de substrato disponível aos microrganismos metanogênicos.

Como perspectivas para futuros trabalhos têm-se o estudo da razão ideal entre OG-Fe₃O₄ e sólidos suspensos voláteis presentes nos reatores anaeróbios, a avaliação do tratamento da ARS com OG-Fe₃O₄ em diferentes modelos de reatores que permitam a imobilização dos materiais com alimentação em fluxo contínuo ou formas de separação dos aditivos condutores no efluente. A identificação de parceiros de TDEI (bactérias e arqueias) e as enzimas ativadas por meio de metaproteômica, a análise de viabilidade econômica da utilização de OG-Fe₃O₄ em sistemas anaeróbios e a aplicação deste material na metanização de diversos resíduos agrícolas, agroindustriais e urbanos também podem ser temas para novos estudos.

4.5 Material Suplementar

Caracterização do Substrato Bruto e do Inóculo

É apresentado na **Tabela 5** a caracterização físico-química e microbiológica da água residuária de suinocultura (ARS) *in natura*. Obteve-se elevada concentração de matéria orgânica total (16.933 mgO₂ L⁻¹) e particulada (11.554 mgO₂ L⁻¹), de sólidos totais (14.012 mgST L⁻¹), de sólidos suspensos totais (7.917 mgSST L⁻¹) e de nutrientes, como fósforo (510,6 mgPO₄⁻³ L⁻¹) e nitrogênio (661,6 mg-N L⁻¹).

Tabela 5 – Caracterização físico-química e microbiológica da ARS (*in natura*).

Parâmetro	Unidade	Média	Desvio Padrão	Parâmetro	Unidade	Média	Desvio Padrão
pH	-	7,1	-	Fósforo Total	mg PO ₄ ⁻³ L ⁻¹	510,6	2,2
CE	μS cm ⁻¹	1.338,0	-	Ortofosfato	mg PO ₄ ⁻³ L ⁻¹	191,1	11,8
Cor				Fósforo Orgânico	mg PO ₄ ⁻³ L ⁻¹	319,5	64,0
Aparente	mgPt-Co L ⁻¹	4.116,7	38,2	SO₄²⁻	mg SO ₄ ²⁻ L ⁻¹	114,6	1,8
Cor Verdadeira	mgPt-Co L ⁻¹	1.865,0	13,2	F⁻	mg F ⁻ L ⁻¹	3,3	0,0
Alcalinidade	mgCaCO ₃ L ⁻¹	2.366,7	153,2	Cl⁻	mg Cl ⁻ L ⁻¹	174,1	2,2
Acidez	mgH ₃ COOH L ⁻¹	3.303,4	126,5	ST	mg ST L ⁻¹	14.012	642,1
Nitrogênio Total	mg-N L ⁻¹	661,6	40,5	STV	mg STV L ⁻¹	9.728	784
NTK	mg NTK-N L ⁻¹	660,6	40,6	STF	mg STF L ⁻¹	4.283	850
Nitrogênio Orgânico	mg Norg-N L ⁻¹	424,5	39,6	SDT	mg SDT L ⁻¹	6.041	225
Nitrogênio Amoniacal	mg NH ₃ -N L ⁻¹	236,1	1,6	SDV	mg SDV L ⁻¹	3.000	630
NO₂⁻	mg NO ₂ ⁻ -N L ⁻¹	0,5	0,9	SDF	mg SDF L ⁻¹	3.041	449
NO₃⁻	mg NO ₃ ⁻ -N L ⁻¹	0,5	0,6	SST	mg SST L ⁻¹	7.971	859
DQO_T	mgO ₂ L ⁻¹	16.933	423	SSV	mg SSV L ⁻¹	6.729	769
DQO_S	mgO ₂ L ⁻¹	4.034	414	SSF	mg SSF L ⁻¹	1.242	407
DQO_P	mgO ₂ L ⁻¹	11.554	700	O.G	mg O.G L ⁻¹	1.253,3	231,8
DBO₅^{20°C}_T	mgO ₂ L ⁻¹	8.700	424	CT	NMP 100mL ⁻¹	1,6E+08	-
DBO₅^{20°C}_S	mgO ₂ L ⁻¹	6.150	212	E.coli	NMP 100mL ⁻¹	9,9E+07	-
DBO₅^{20°C}_P	mgO ₂ L ⁻¹	2.550	212				

Legenda: CE: condutividade elétrica. NTK: nitrogênio total Kjeldahl. NO₂⁻: nitrito. NO₃⁻: nitrato. DQO_{T,S,P}: demanda química de oxigênio total, solúvel e particulada. DBO_{T,S,P}: demanda bioquímica de oxigênio total, solúvel e particulada. SO₄²⁻: sulfato. F⁻: fluoreto. Cl⁻: cloreto. ST: sólidos totais. STV: sólidos totais voláteis. STF: sólidos totais fixos. SDT: sólidos dissolvidos totais. SDV: sólidos dissolvidos fixos. SST: sólidos suspensos totais. SSV: sólidos suspensos voláteis. SSF: sólidos suspensos fixos. O.G: óleos e graxas.

Fonte: O autor (2025).

Ressalta-se a elevada alcalinidade total desse efluente ($2.366,7 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), ocasionada, principalmente, pelas elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal total ($236,1 \text{ mg NH}_3\text{-N L}^{-1}$) advindo da degradação anaeróbia de proteínas e de aminoácidos comumente presentes na dieta de suínos. Conforme Moraes *et al.* (2021a), as ARS podem apresentar alcalinidade total na faixa de 560 a $4780 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, valor superior a de outras águas residuárias agroindustriais (ARAs), como as águas residuárias de abate bovino (ARAB, 80 a $1500 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), águas residuárias da produção de cerveja (ARPC, 190 a $3170 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), águas residuárias do beneficiamento de leite (ARBL, 140 a $620 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), e águas residuárias do beneficiamento de frutas para a produção de sorvetes (ARBFS, 220 a $1500 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$). Também é possível confirmar a elevada carga microbiológica pelos valores de Coliformes Termotolerantes (CT) e de *Escherichia coli* (*E. coli*).

A relação entre carbono e nitrogênio (C/N) presente na ARS é igual a 25, indicando um balanço apropriado entre matéria orgânica e nitrogênio para a biometanização do substrato. Uma alta relação C/N indica um déficit de nitrogênio, o que pode promover acúmulo de ácidos orgânicos e provocar a acidificação do reator anaeróbio. Já em uma baixa relação C/N, o nitrogênio pode se acumular na forma de amônia e provocar efeitos tóxicos sobre os microrganismos metanogênicos. A relação DQO/DBO da ARS é menor do que 2,5, indicando sua tratabilidade em processos biológicos.

O lodo utilizado como inóculo apresentou AME média de $0,141 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, valor superior a $0,100 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, o qual é a condição mínima para um inóculo ser utilizado em testes de PBM com substratos reais (Angelidaki *et al.*, 2009).

$$[NAL] = [NAT] \cdot \left(1 + \frac{10^{-pH}}{10^{-(0,09018 + \frac{2729,92}{T})}} \right)^{-1} \quad \text{Eq. 4.S1}$$

$$V_{CH_4} = CH_4 \cdot P_{man} \cdot K \quad \text{Eq. 4.S2}$$

$$K = \frac{V_{HP} \cdot T_{Ref}}{P_{Ref} \cdot T_{Test}} \quad \text{Eq. 4.S3}$$

$$PBM = \frac{V_{CH_4R} - V_{CH_4C}}{M_{SSV}} \quad \text{Eq. 4.S4}$$

Onde:

NAL é a concentração de nitrogênio amoniacal livre (mg NH₃-N L⁻¹); NAT é a concentração de nitrogênio amoniacal total (mg NH₃-N L⁻¹); T é a temperatura em kelvin (K); V_{CH₄} é o volume de CH₄ gerado (mL_{CH₄}); CH₄ é a porcentagem de metano no biogás; P_{man} é a pressão registrada pelo manômetro (mbar); K é o fator de conversão (mL_{CH₄} mbar⁻¹); V_{HP} é o volume de *headspace* do reator (mL); T_{ref} é a temperatura de referência (273 K); P_{ref} é a pressão de referência (1 atm = 1013,25 mbar) e T_{test} é a temperatura de teste em Kelvin (K); PBM é a produção bioquímica de metano (NL_{CH₄} kgSSV⁻¹); V_{CH₄R} é o volume total de metano produzido no reator de trabalho (NL_{CH₄}); V_{CH₄C} é o volume total de metano produzido no reator de controle endógeno (NL_{CH₄}), e M_{SSV} é a massa de sólidos no reator de trabalho (kgSSV).

$$AME = \frac{\mu \cdot f_T}{1000} \quad \text{Eq. 4.S5}$$

$$f_T = \frac{P \cdot K_{DQO}}{R \cdot (273 + T)} \quad \text{Eq. 4.S6}$$

Onde:

AME é atividade metanogênica específica (gDQO_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹); μ é a taxa máxima de produção de metano (NL_{CH₄} KgSSV⁻¹ d⁻¹); f(T) é o fator de correção para uma temperatura de operação do reator (gDQO_{CH₄} NL_{CH₄}⁻¹); P é a pressão atmosférica (1 atm); K_{DQO} é DQO correspondente a 1 mol de CH₄ (64 gDQO mol⁻¹); R é a constante de gás (0,08206 atm L mol⁻¹ K⁻¹) e T é a temperatura de operação do reator (°C).

Tabela 6 – Equações utilizadas no cálculo do balanço de massa e de rendimentos.

Equação do Balanço de Massa	Equação
$DQO_{PARTICULADA} = DQO_{APLICADA} - DQO_{SOLÚVEL}$	Eq. 4.S7
$BMA = DQO_{SOLÚVEL} + DQO_{PARTICULADA} + DQO_{CH_4} + DQO_{SSV}$	Eq. 4.S8
$DQO_{Sed+SSV} = DQO_{APLICADA} - DQO_{SOLÚVEL} - DQO_{PARTICULADA} - DQO_{CH_4}$	Eq. 4.S9
$DQO_{REMOVIDA} = DQO_{APLICADA} - DQO_{SOLÚVEL}$	Eq. 4.S10
$Y1_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{DQO_{REMOVIDA}}$	Eq. 4.S11
$Y2_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{DQO_{APICADA}}$	Eq. 4.S12
$Y_{SSV} = \frac{DQO_{SSV}}{DQO_{APICADA}}$	Eq. 4.S13
$ER = \frac{DQO_{REMOVIDA}}{DQO_{APICADA}}$	Eq. 4.S14

Legenda: $DQO_{APLICADA}$: Massa de DQO total inserida no reator; $DQO_{PARTICULADA}$: Massa de DQO particulada efluente; $DQO_{SOLÚVEL}$: Massa de DQO solúvel total efluente; BMA: Balanço de massa; DQO_{CH_4} : Massa de DQO removida por produção de CH_4 ; $DQO_{Sed+SSV}$: Massa de DQO direcionada para crescimento celular ou removida por sedimentação; $DQO_{REMOVIDA}$: Massa de DQO removida do sistema; Y1: rendimento de produção de CH_4 por DQO removida; Y2: rendimento de produção de CH_4 por DQO aplicada; Y_{SSV} : rendimento de produção de sólidos. ER: eficiência de remoção.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 7 – Descrição teórica e equação dos modelos matemáticos aplicados no estudo cinético da produção de metano.

Descrição dos Modelos Matemáticos	Equação do modelo matemático	Equação
Primeira-Ordem Exponencial		
Aplicado a substratos facilmente biodegradáveis. Estimar a velocidade de produção de CH_4 (k).	$M_t = M[1 - \exp(-kt)]$	Eq. 4.S15
Gompertz Modificado		
Este modelo é um dos mais aplicados para estimar a produção de CH_4 em testes de PBM. Permite estimar o tempo de fase <i>lag</i> (λ) e a taxa máxima de produção de CH_4 (μ). A função de Gompertz tem um ponto de inflexão fixo e é assimétrica em relação ao seu ponto. A curva desta função é modelada de acordo com a localização do ponto de inflexão.	$M_t = M \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu e}{M} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$	Eq. 4.S16
Logístico		
Estimar o tempo de fase <i>lag</i> (λ) e a taxa máxima de produção de CH_4 (μ). Possui um ponto de inflexão fixo e a curva é modelada de acordo com sua localização. É uma função simétrica em relação ao seu ponto de inflexão.	$M_t = \frac{M}{1 + \exp \left[\frac{4 \mu (\lambda - t)}{M} + 2 \right]}$	Eq. 4.S17

Legenda: M_t : metano acumulado ($NL_{CH_4} \text{ KgSSV}^{-1}$); M: volume total de metano gerado ($NL_{CH_4} \text{ KgSSV}^{-1}$); k: constante de velocidade produção de metano de primeira-ordem (d^{-1}); t: tempo de digestão (d); e: número de Euler (adimensional); λ : tempo da fase *lag* (d); μ : taxa máxima de produção de metano ($NL_{CH_4} \text{ KgSSV}^{-1} d^{-1}$).

Fonte: Morais *et al.*, (2021b).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (Y_{i,exp} - Y_{i,est})^2}{\sum_i (Y_{i,exp} - \bar{Y})^2} \quad \text{Eq. 4.S18}$$

$$NRMSE = \left[\frac{\sqrt{\frac{\sum_i (Y_{i,exp} - Y_{i,est})^2}{n}}}{(Y_{max} - Y_{min})} \right] \cdot 100 \quad \text{Eq. 4.S19}$$

$$AIC = N \cdot \ln \left(\frac{SS}{N} \right) + 2k \quad \text{Eq. 4.S20}$$

Onde:

R^2 é o valor do coeficiente de determinação (adimensional); $Y_{i,exp}$ é o valor dos dados experimentais; $Y_{i,est}$ é o valor estimado pelo modelo; \bar{Y} é a média dos dados experimentais; NRMSE é um erro quadrático médio (adimensional); n é o número de pontos de dados experimentais (observações); Y_{max} e Y_{min} são os valores máximo e mínimo observados para a variável resposta avaliada, respectivamente; AIC é o Critério de Informação de Akaike (adimensional); N é o número de observações de dados experimentais; SS é a soma quadrada dos resíduos e k é o número de parâmetros do modelo.

Tabela 8 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com OG-Fe₃O₄.

1º Ciclo de Tratamento				
Modelo	Parâmetros	Reator Controle	Reator A	Reator B
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,884	0,908	0,905
	NRMSE	11,23	9,30	10,36
	AIC	95,48	80,00	90,90
Gompertz Modificado	R ²	0,960	0,953	0,969
	NRMSE	6,61	6,67	5,95
	AIC	79,47	70,71	74,05
Logístico	R ²	0,983	0,972	0,987
	NRMSE	4,36	5,16	3,77
	AIC	65,34	61,97	58,57
2º Ciclo de Tratamento				
Modelo	Parâmetros	Reator Controle	Reator A	Reator B
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,954	0,991	0,993
	NRMSE	7,40	2,96	2,58
	AIC	67,64	39,33	34,84
Gompertz Modificado	R ²	0,977	0,984	0,985
	NRMSE	5,25	4,01	3,86
	AIC	58,01	51,70	50,54
Logístico	R ²	0,975	0,978	0,980
	NRMSE	5,44	4,69	4,49
	AIC	59,23	57,00	55,72
3º Ciclo de Tratamento				
Modelo	Parâmetros	Reator Controle	Reator A	Reator B
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,936	0,967	0,940
	NRMSE	8,96	6,31	8,86
	AIC	92,67	83,35	97,76
Gompertz Modificado	R ²	0,986	0,995	0,982
	NRMSE	3,67	2,50	4,81
	AIC	64,36	53,79	79,01
Logístico	R ²	0,996	0,997	0,991
	NRMSE	2,21	1,97	3,35
	AIC	47,03	45,76	66,67

Fonte: O autor (2025).

5 EFEITO DA APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO GRANULAR, FERRO DE VALÊNCIA ZERO E NANOMAGNETITA NA METANIZAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

RESUMO

A aplicação de materiais condutores (MCs) de elétrons, como o carvão ativado granular (CAG), o ferro de valência zero (FeVZ) e a nanomagnetita (Fe_3O_4), na digestão anaeróbia (DA) de resíduos orgânicos apresenta-se como uma estratégia atraente para elevar a produção de metano (CH_4) e acelerar o processo cinético metanogênico. Isso decorre de diversos benefícios, como o estímulo à sintrofia microbiana e a transferência direta de elétrons interespecies. Apesar disso, não existe um consenso na literatura sobre a concentração ou a dose a ser utilizada desses materiais. A maioria dos estudos analisam a aplicação de elevadas concentrações de MCs, o que onera o processo do tratamento anaeróbio, tornando a utilização inviável economicamente. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura, avaliando os parâmetros cinéticos que governam a produção de metano, analisando as alterações nas comunidades microbianas e discutindo os principais mecanismos de transferência de elétrons promovidos por esses materiais. O teste de potencial bioquímico de metano (PBM) foi realizado em reatores de vidro com 100 mL de volume reacional inoculados com lodo de cervejaria, operando em regime de batelada com dois ciclos de tratamento, cada um com 35 dias, totalizando 70 dias de ensaio, mantidos a 37 °C a 150 rpm. Foram adicionadas aos reatores doses de 10% (0,4 g L^{-1} ou 0,1 g gSSV $^{-1}$), 50% (2,0 g L^{-1} ou 0,5 g gSSV $^{-1}$) e 100% (4,0 g L^{-1} ou 1 g gSSV $^{-1}$) de MCs em relação à concentração de sólidos suspensos voláteis (4,0 gSSV L^{-1}) aplicados nos reatores. Considerando o segundo ciclo de tratamento, a dose de 4,0 g L^{-1} de cada aditivo foi a que mais otimizou a DA do substrato avaliado. O CAG foi o material que mais beneficiou a cinética metanogênica, promovendo ausência de fase *lag* e elevando em 52,9% e em 63,6% a velocidade e a taxa máxima de produção de CH_4 , respectivamente. O FeVZ foi o material que mais aumentou o PBM (+15,2%) e o teor de CH_4 no biogás (+13,5%). Enquanto isso, o aumento da dose de Fe_3O_4 também aperfeiçoou o processo cinético de geração de CH_4 , mas doses superiores a 0,4 g Fe_3O_4 L^{-1} não produziram impactos positivos adicionais ao PBM. Todos os MCs aumentaram a abundância relativa de bactérias sintróficas oxidantes de ácidos graxos voláteis. Arqueias metanogênicas hidrogenotróficas do gênero *Methanolinea* foram enriquecidas pelo FeVZ. Arqueias metanogênicas acetoclásticas do gênero *Methanothrix*

tiveram abundância expressivamente aumentada pela Fe_3O_4 , correspondendo a aproximadamente 88% da população de arqueias nos reatores com 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$. Bactérias sintróficas das classes taxonômicas *Synergistia*, *Spirochaetia*, *Syntrophobacteria*, *Syntrophorhabdia*, *Syntrophomonadia*, *Syntrophia*, *Clostridia* e as pertencentes aos gêneros *Clostridium sensu stricto 1*, *Mesotoga*, *Longilinea* e *JGI-0000079-D21*, são os potenciais parceiros de TDEI das arqueias *Methanotherx soehngenii*. Conclui-se que os MCs otimizaram a DA da ARS.

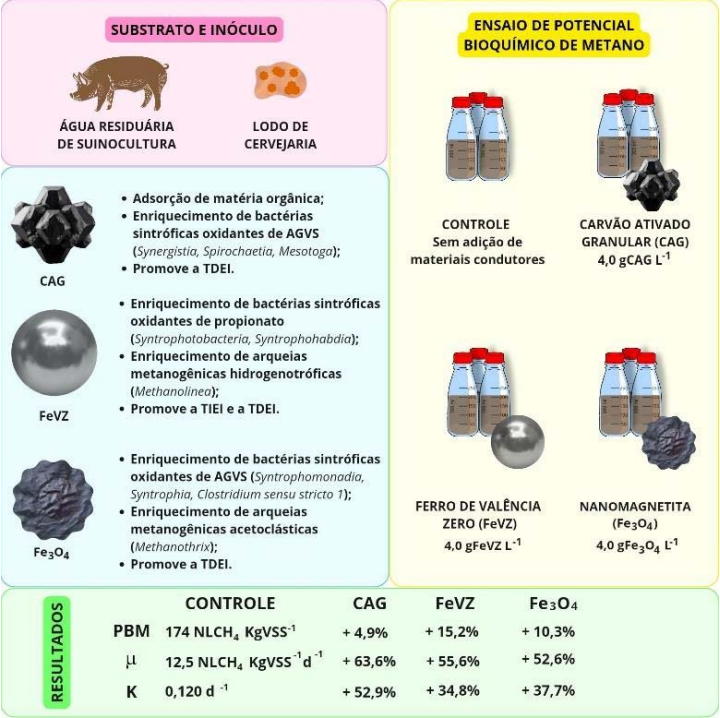
PALAVRAS-CHAVE: Carvão ativado granular; Ferro de valência zero; Materiais condutores; Nanomagnetita; Transferência direta de elétrons interespecies.

PONTOS DE DESTAQUE

- A cinética de metanização foi otimizada com 4,0 g L^{-1} de material condutor;
- Os materiais condutores enriqueceram bactérias sintróficas oxidantes de AGVs;
- CAG foi o material que mais beneficiou a cinética metanogênica;
- FeVZ foi o aditivo que mais elevou o PBM e o teor de CH_4 no biogás;
- Fe_3O_4 foi o suplemento que mais enriqueceu arqueias metanogênicas acetoclásticas.

RESUMO GRÁFICO

Figura 13 – Resumo Gráfico.



Fonte: O autor (2025).

5.1 Introdução

A aplicação de mediadores redox insolúveis (MRIs), também denominados de materiais condutores (MCs) de elétrons, como promotores da digestão anaeróbia (DA) vem ganhando notoriedade nos estudos sobre o tratamento anaeróbio de resíduos orgânicos (Sun *et al.*, 2023). Esses materiais estimulam a sintrofia microbiana, funcionando como condutores elétricos, e facilitando a Transferência Direta de Elétrons Interespécies (TDEI) de microrganismos exoeletrogênicos (bactérias fermentativas doadoras de elétrons) para microrganismos endoeletrogênicos (aqueias metanogênicas ou bactérias aceitadoras de elétrons), tornando a DA mais eficiente e estável. A TDEI é o estabelecimento de conexões físicas ou elétricas compartilhadas entre as células microbianas, ocorrendo por meio de proteínas condutoras ligadas a membrana celular, como citocromos do tipo c (OmcS) e pili eletricamente condutor (e-pili), ou via MCs (Wu *et al.*, 2023).

Estimular a TDEI via MCs tem sido uma forma inovadora de melhorar o desempenho da DA convencional baseada na Transferência Indireta de Elétrons Interespécies (TIEI). A TIEI ocorre por meio de mediadores redox solubilizados (MRSs), como o hidrogênio (Transferência de Hidrogênio Interespécies - THI), e o formiato (Transferência de Formiato Interespécies - TFI), sendo facilmente afetada pela pressão parcial de hidrogênio (H_2), pela necessidade de difusão das moléculas transportadoras de elétrons e pela distância entre os microrganismos, ocasionando baixa eficiência na produção de metano (CH_4) (Kong; Zhang, 2023). Em contraponto, a TDEI não é afetada por esses fatores, possuindo uma taxa transferência de elétrons de 8 a 9 vezes maior do que a TIEI (CHEN *et al.*, 2022a).

Os materiais que podem mediar a TDEI podem ser constituídos por carbono, como o carvão ativado granular (CAG), o biocarvão (*biochar*) e o óxido de grafeno, ou por ferro, como o ferro de valência zero (FeVZ), a nanomagnetita (Fe_3O_4) e a hematita (Fe_2O_3). Em geral, esses materiais possuem propriedades físico-químicas, como grande área de superfície específica, condutividade elétrica superior a dos e-pili, biocompatibilidade e estabilidade química, que estimulam, além da TDEI, outros mecanismos benéficos à DA, como granulação do lodo anaeróbio, imobilização microbiana, formação de Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE), adsorção de matéria orgânica e de compostos tóxicos, regulação de pH, efeito tampão e ativação de enzimas-chave para os processos acidogênicos e metanogênicos (Nguyen *et al.*, 2021). Por esses motivos, os MCs podem reduzir o tempo de fase *lag*, adaptação dos microrganismos às condições ambientais e operacionais em reatores anaeróbios, promover estabilidade operacional, inibir o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs), enriquecer a

população de arqueias metanogênicas, aumentar a velocidade e a taxa máxima de produção de CH_4 , bem como aumentar o teor de CH_4 no biogás (Yin *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o CAG é um dos materiais mais aplicados para a otimizar a DA devido suas propriedades notáveis, como resistência mecânica, estabilidade química, biocompatibilidade e elevada área de superfície específica para crescimento microbiano, que promove a retenção de biomassa e favorece a formação de biofilmes e de SPE, apresentando sítios reativos catalíticos que oferecem melhores interações para troca de elétrons, e elevada porosidade que garante excelente capacidade de adsorção (Gahlot *et al.*, 2020). O CAG atua como um capacitor, armazenando elétrons para posteriormente fornecê-los a microrganismos exoeletrogênicos (L. Xiao *et al.*, 2022). Por isso, esse material também funciona como mediador redox, substituindo o OmcS e os e-pili na transferência de elétrons, diminuindo, assim, as perdas energéticas relacionadas à produção e ativação dessas proteínas (Cavalcante *et al.*, 2021). O principal mecanismo de TDEI relacionado ao CAG é a condução de elétrons por sua superfície rica em grupos funcionais que atuam como mediadores redox, como quinonas, lactonas, hidroxilas e éteres (Van Der Zee *et al.*, 2003). Os microrganismos podem se aderir a qualquer ponto do CAG, sem a necessidade de fazerem contato direto célula a célula, contribuindo para o estabelecimento mais rápido da TDEI (Zhao *et al.*, 2020).

A elevada superfície específica e a porosidade do CAG promovem propriedades adsorventes, tornando-o uma ferramenta amplamente utilizada no tratamento de resíduos orgânicos onde há a presença de agentes inibitórios que interferem na metanogênese, como fenóis, amônia, sulfatos, metais pesados, AGVs, sulfeto de hidrogênio (H_2S), antibióticos e compostos orgânicos aromáticos e alifáticos (L. Xiao *et al.*, 2022). Devido à capacidade de adsorver AGVs, o CAG age na estabilização de variações do pH, funcionando como um tampão e protegendo a biomassa anaeróbia de choques de carga orgânica (Paritosh *et al.*, 2020).

Outro material singular que pode beneficiar a DA e é considerado um aditivo de baixo custo é o FeVZ (J. Zhang *et al.*, 2020). Em meio anaeróbio, a oxidação do FeVZ, reações apresentadas nas **Equações 5.1 a 5.3**, gera íons ferrosos (Fe^{2+}), hidroxilas (OH^-) e H_2 exógeno (aquele que não é formado pela degradação da matéria orgânica), o qual pode ser utilizado por arqueias hidrogenotróficas para reduzir CO_2 a CH_4 ou pode ser direcionado para a produção de ácido acético via bactérias homoacetogênicas (Baek *et al.*, 2019). Além disso, esse material pode tamponar a acidez de sistemas anaeróbios, contribuindo para o aumento do pH, por meio do consumo de cátion de hidrogênio (H^+) e da liberação de OH^- (**Equações 5.1 e 5.2**), diminuindo o risco de toxicidade por acúmulo de AGVs (He *et al.*, 2022). A corrosão anaeróbia do FeVZ com água ocorre preferencialmente em meio ácido, onde há maior concentração de

H⁺, mas também pode ocorrer, de forma mais lenta, em pH neutro (Baek *et al.*, 2019; Vyrides *et al.*, 2018).

O Fe²⁺ é fundamental para o crescimento de bactérias fermentativas e de arqueias metanogênicas, pois age como um estimulante da produção e da atividade de enzimas acidogênicas, como as enzimas acetato quinase, piruvato-ferredoxina oxidorreductase, fosfotransacetilase, butirato quinase e fosfotransbutirilase, e metanogênicas, como a hidrogenase redutora de F420 (HrF420) (Chen *et al.*, 2020). O Fe-S é um grupo ativo na HrF420, a qual participa juntamente com a coenzima F420 (cF420) da redução de CO₂ a CH₄. O Fe²⁺ atua como um cofator, estimulando a formação de Fe-S e melhorando a função da cF420 (Zhao *et al.*, 2018b). Além desses benefícios, o Fe²⁺ é nutriente para bactérias redutoras de sulfato (BRS) e pode combinar-se com H₂S para formar sulfeto de ferro II (FeS), removendo por precipitação o enxofre presente no meio reacional (Ruan *et al.*, 2017).

Mesmo em ambientes estritamente anaeróbios, o Fe²⁺ pode reagir com água (H₂O) e traços de oxigênio dissolvido (OD < 0,2 mg L⁻¹) para formar íon férrico (Fe³⁺) ou óxidos de ferro (III), como a magnetita (Fe₃O₄), a lepidocrocita (FeOOH) e o hidróxido de ferro (III) (Fe(OH)₃), ligados à superfície do FeVZ (reações apresentadas nas **Equações 5.4 a 5.7**) (J. Zhang *et al.*, 2020). Esses oxihidróxidos de ferro formados na superfície do FeVZ são mediadores de elétrons eficientes e capazes de acelerar o transporte de elétrons. O tipo de óxido na superfície do FeVZ varia com o OD disponível na água. A alta concentração de OD, meio aeróbio, resulta em altas taxas de oxidação e favorece a formação de FeOOH ou de Fe(OH)₃, enquanto a Fe₃O₄ seria o produto preferencial sob condições anóxicas ou anaeróbias (Shi *et al.*, 2021). Os óxidos de Fe (III) também participam de diversos mecanismos de remoção de matéria orgânica em meio anaeróbio, como a adsorção, a floculação e a precipitação (Ye *et al.*, 2021). Em condições neutras, o óxido de Fe(III) é insolúvel em água e pode atuar comoceptor de elétrons, sendo reduzido a Fe (II), na degradação da matéria orgânica por bactérias redutoras de ferro (BRF) (Honetschlägerová *et al.*, 2018).





A condução de elétrons no FeVZ ocorre em sua superfície condutora, devido aos elétrons “livres” característicos de ligações metálicas, que propicia o estabelecimento de TDEI entre bactérias acidogênicas e arqueias metanogênicas. Segundo Dai *et al.* (2022), o FeVZ possui boa bioafinidade, forte redutibilidade química e grande área superficial, características que facilitam o estabelecimento de conexões elétricas entre a superfície microbiana e o ferro, estimulando a TDEI de curto alcance. O FeVZ também promove a TDEI ao aumentar a capacidade de transferência de elétrons (ETC) de SPE, que indica as quantidades de grupos oxidativos e redutores disponíveis para trocar elétrons, como quinona e hidroquinona, e aumentar o conteúdo proteico das SPE, constituído principalmente por exoenzimas eletroativas (proteínas redox), formadas por íons de ferro, que funcionam como transportadores de elétrons (Li *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2016). De acordo com Yu e Zhang (2019), essas proteínas contêm grupos amida e ligações H que podem participar na transferência de elétrons de longo alcance.

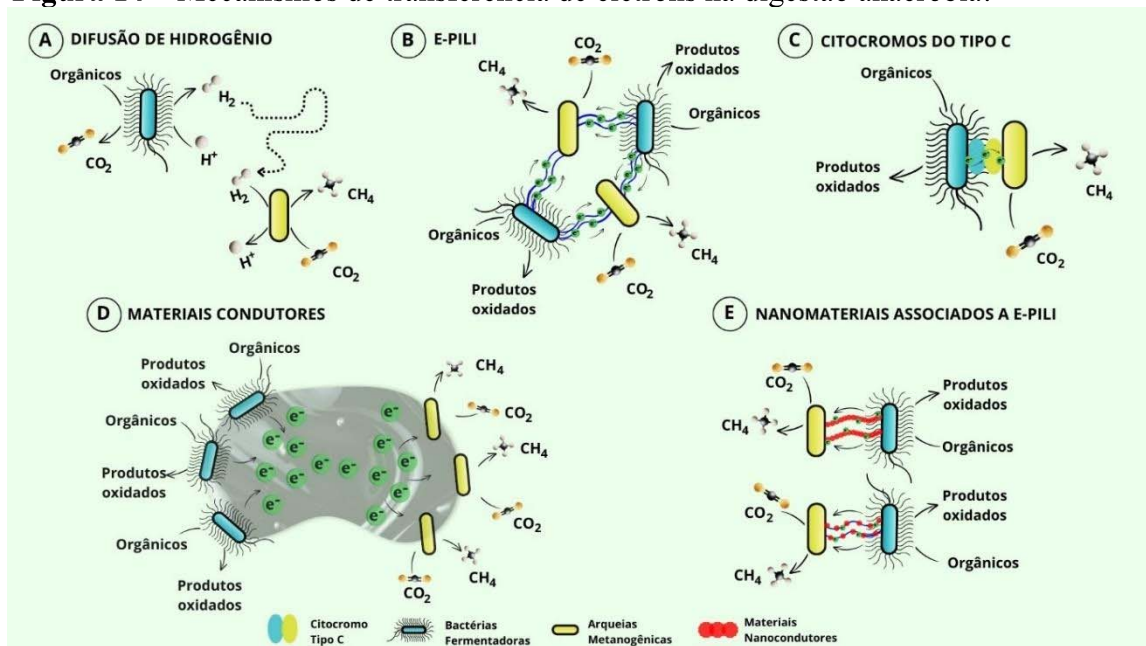
Além disso, o FeVZ tem um impacto positivo na sedimentabilidade do lodo anaeróbio devido sua capacidade de promover a formação de agregados microbianos (Liu *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2012). De acordo com a teoria DLVO, quando duas superfícies têm uma carga do mesmo sinal, há uma força repulsiva para impedir a aproximação de uma célula à outra (Schmidt; Ahring, 1994). O Fe^{2+} reduz a repulsão elétrica entre bactérias, as quais geralmente possuem cargas negativas, aumentando a interação célula a célula e promovendo a agregação de microrganismos (You *et al.*, 2017). Além disso, o Fe^{2+} aumenta a produção de SPE dos grânulos anaeróbios, o que é vital para manter uma estrutura do lodo intacta (Liu *et al.*, 2004). Estudos indicam que as SPE podem diminuir a carga negativa das superfícies celulares e, assim, facilitar a conexão de duas células vizinhas fisicamente entre si (Morgan *et al.*, 1990; Tsuneda *et al.*, 2003). Assim, a interação entre Fe^{2+} e SPE pode facilitar a formação de grânulos anaeróbios.

Dentre os óxidos de ferro, a nanomagnetita (Fe_3O_4) é um dos MCs comumente utilizados para aprimorar a DA via TDEI, devido a suas excelentes propriedades magnéticas, baixa resistividade elétrica e baixo potencial redox (Feng *et al.*, 2023). Esse óxido de ferro tem a capacidade de reprimir a expressão do gene OmcS, preservando energia que seria utilizada para síntese dessa proteína, e substitui os OmcS localizados nos e-pili, aumentando a capacidade condutora dessas proteínas e fornecendo um canal de fluxo contínuo de elétrons de exoeletrogênicos para endoeletrogênicos (Liu *et al.*, 2015). A Fe_3O_4 é relacionada a TDEI de curto alcance devido ao cristal de Fe_3O_4 ser geralmente menor que o tamanho das células

microbianas. Assim, duas células precisariam estar a nanômetros uma da outra para estarem simultaneamente em contato com o mesmo cristal de Fe_3O_4 e estabelecerem TDEI (Zhao *et al.*, 2020). A condução de elétrons pela Fe_3O_4 ocorre por meio de reações de oxidação-redução a partir de seus óxidos de ferro constituintes (FeO e Fe_2O_3) (Feng *et al.*, 2023).

A Fe_3O_4 também estimula a secreção de SPE com alta capacidade de aceitar e doar elétrons, acelerando processos de transferência de elétrons (Yu *et al.*, 2021). Além disso, a Fe_3O_4 pode enriquecer bactérias redutoras de ferro (BRF), como *Geobacter*, *Shewanella* e *Clostridium*, as quais são capazes de usar a redução de Fe(III) para conservação de energia durante a oxidação de H_2 e ou de matéria orgânica, provendo mais substratos a arqueias metanogênicas para produção de CH_4 (Peng *et al.*, 2018). Os principais mecanismos de transferência de elétrons na DA, a saber TIEI por difusão de H_2 , e TDEI via proteínas condutoras, como OmcS e e-pili, ou mediada por MCs, são ilustrados na **Figura 14**.

Figura 14 – Mecanismos de transferência de elétrons na digestão anaeróbia.



Fonte: O autor (2025).

Conforme Sun *et al.* (2023), a aplicação desses materiais em sistemas de tratamento anaeróbio costuma ser realizado em excesso com elevadas concentrações, entre 10,0 e 50,0 g L^{-1} para CAG, e entre 1,0 e 10,0 g L^{-1} para materiais de ferro, o que onera o processo e o torna economicamente inviável. Além disso, há uma dificuldade em comparar estudos com a aplicação de MCs no tratamento anaeróbio de resíduos orgânicos, pois ainda não existe um consenso na literatura quanto as doses ideais desses materiais, as quais sofrem influência de diversos fatores, como do tipo de substrato, do tipo de reator, do tipo de biomassa anaeróbia

utilizada como inóculo e da quantidade de biomassa ativa nos reatores. Cavalcante *et al.* (2021), propõem que a razão entre a massa de material adicionado pela massa de sólidos suspensos voláteis (SSV) adicionada aos reatores ($r_{MC/SSV}$) seja utilizada como parâmetro de padronização para comparação de estudos de Potencial Bioquímico de Metano (PBM). Apesar dessa proposição ser um avanço para estudos de metanização estimulada por MCs, esse critério não leva em consideração a Atividade Metanogênica Específica (AME) dos inóculos, a qual reflete na sintrofia microbiana pela capacidade de metabolizar um determinado substrato, e nem as características dos diferentes tipos de inóculos que podem ser utilizados nos testes de PBM, o que reforça a dificuldade para a obtenção de doses ótimas de MCs para o tratamento anaeróbico. Assim, é necessário aprofundar os conhecimentos sobre o uso de MCs na DA de resíduos orgânicos, principalmente na busca por doses ideais ou reduzidas que beneficiem o processo anaeróbico e que viabilizem a aplicação desses aditivos sob aspectos econômicos.

Em termos práticos, a principal função da aplicação de aditivos condutores de elétrons em digestores anaeróbios é aumentar produção de biogás e de CH_4 . Nesse contexto, a metanização da água residuária de suinocultura (ARS) apresenta-se como um processo importante a ser otimizado pela adição de MCs. A ARS é um efluente agrícola gerado a partir da mistura de água, ração, urina e esterco de porco. Esse efluente apresenta elevadas concentrações de sólidos suspensos totais, matéria orgânica, nas formas de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e de demanda química de oxigênio (DQO), nutrientes, como nitrogênio (N) e fósforo (F), microrganismos patogênicos e contaminantes emergentes, como antibióticos e hormônios (MORAIS *et al.*, 2021a). A composição da ARS pode variar dependendo da quantidade de água utilizada para limpeza das baias, tamanho da criação de suínos e da composição da ração (N. Chen *et al.*, 2023). Conforme Zhou *et al.* (2024), a ARS pode conter 1.000 a 30.000 $mg\ L^{-1}$ de DQO, 600 a 2.400 $mg\ L^{-1}$ de nitrogênio total e 50 a 300 $mg\ L^{-1}$ de fósforo total. Apesar de a DA ser um processo consolidado e amplamente utilizado para tratamento de ARS devido à sua estabilidade, confiabilidade e eficiência na remoção de matéria orgânica, o efluente tratado ainda apresenta elevada carga poluente, sendo essencial otimizar o processo anaeróbico para torná-lo mais eficiente através de uma maior recuperação de CH_4 .

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura, avaliando os parâmetros cinéticos que governam a produção de metano, analisando as alterações nas comunidades microbianas e discutindo os principais mecanismos de transferência de elétrons promovidos por esses materiais.

5.2 Materiais e Métodos

5.2.1 Substrato e Inóculo

A água residuária de suinocultura (ARS) utilizada como substrato foi coletada em uma granja de suínos localizada no município de Fortaleza, Ceará, Brasil. Após coleta, foi realizado a remoção de sólidos grosseiros por meio de peneiramento. Como inóculo foi utilizado um lodo de cervejaria (LC) de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) que compunha uma Estação de Tratamento de Efluentes Industriais (ETEI) localizada no município de Pacatuba, Ceará, Brasil, e operava em condições mesofílicas no tratamento de efluente de cervejaria.

O LC foi caracterizado, contendo concentrações de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV), sólidos totais fixos (STF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) de $86,8 \pm 1,5$; $69,8 \pm 1,5$; $16,9 \pm 0,3$; $68,7 \pm 1,4 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente, apresentando 79% de SSV. O LC apresentou Atividade Metanogênica Específica (AME) a glicose de $0,263 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Após caracterização, a ARS e o LC foram armazenados a 3°C , visando a manutenção de suas propriedades físico-químicas e microbiológicas. O LC foi utilizado nos ensaios metanogênicos sem prévia adaptação ao substrato (ARS).

5.2.2 Materiais Condutores

Foram utilizados como materiais condutores (MCs) de elétrons o carvão ativado granular (CAG), a nanomagnetita (Fe_3O_4) e o ferro de valência zero (FeVZ). O CAG foi adquirido de Sigma-Aldrich (DARCO[®]) e apresentava as seguintes características: tamanho de partículas de 0,8-1,7 mm, densidade aparente de $1,8\text{-}2,4 \text{ g cm}^{-3}$, a área superficial de $650 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e nível de impurezas menor ou igual que 0,4% (cinzas). O CAG foi lavado três vezes com água deionizada para remoção de impurezas e seco em estufa a 105°C por 24 horas para retirada de umidade. O FeVZ (Sigma-Aldrich[®]) tinha partículas de até $450 \mu\text{m}$ e pureza maior ou igual 99%. A Fe_3O_4 (Sigma-Aldrich[®]) tinha 97% de pureza, tamanho de partículas de 50-100 nm, área superficial de $6\text{-}8 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e densidade aparente de $4,8\text{-}5,1 \text{ g cm}^{-3}$. Imagens da estrutura superficial dos MCs foram obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV (Inspect S50, FEI Company, USA) e são apresentadas nas **Figuras 24 a 26** do Material Suplementar.

5.2.3 Teste de Potencial Bioquímico de Metano

O teste Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foi realizado em reatores de vidro com 300 mL de volume total, sendo 100 mL de volume reacional e 200 mL de *headspace*. O experimento foi conduzido em regime de batelada com 2 ciclos de tratamento, cada um com duração de 35 dias, totalizando 70 dias de ensaio. Ao final de cada ciclo, o sobrenadante dos reatores foi removido e um novo meio basal com alimentação idêntico ao primeiro foi inserido. O volume reacional e o volume de *headspace* foram iguais para todos os ciclos de tratamento.

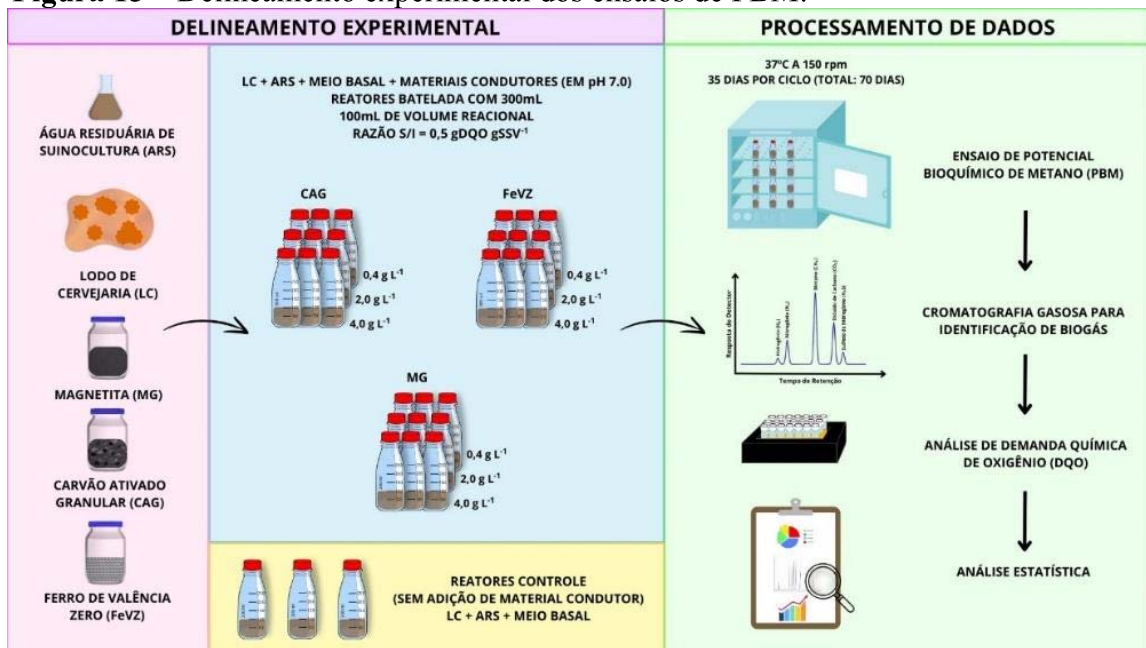
Os reatores foram alimentados com ARS na concentração de 2,0 gDQO L⁻¹ (com média de 82% de matéria orgânica na fração particulada e 18% na forma solúvel) e inoculados com LC (4 gSSV L⁻¹), gerando uma razão substrato inóculo (RSI) de $0,50 \pm 0,1$ gDQO·gSSV⁻¹, na qual os experimentos foram conduzidos. Os materiais condutores (CAG, Fe₃O₄ e FeVZ) foram adicionados em três dosagens: 10% (0,4 g L⁻¹ ou 0,1 g gSSV⁻¹), 50% (2,0 g L⁻¹ ou 0,5 g gSSV⁻¹) e 100% (4,0 g L⁻¹ ou 1 g gSSV⁻¹) em relação aos SSV (4,0 gSSV L⁻¹) aplicados nos reatores. O meio basal (macro e micronutrientes) utilizado foi elaborado conforme Moraes *et al.* (2021c). O pH inicial foi ajustado para 7,0 com auxílio de NaOH 40% e, em seguida, o meio foi tamponado com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) em proporção de 1 g de tampão para 1 g de DQO L⁻¹. Os reatores foram lacrados com borrachas butílicas e tampas plásticas. O *headspace* dos reatores foi purgado com nitrogênio gasoso (N₂) por 2 min e, posteriormente, os reatores foram armazenados em incubadoras (Marconi modelo MA-420) sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura mesofílica de $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Filer *et al.*, 2019).

Um transdutor de pressão manométrica (Warme LTDA, Brasil) foi utilizado para medir a pressão de biogás no *headspace* dos reatores. Ao término de cada ciclo, uma alíquota de 1 mL de biogás, de cada reator, era coletada com seringa estanque a gás (seringa SampleLock, Hamilton Company, EUA) a fim de ser analisada por cromatografia gasosa (GC) para determinação da composição do biogás (CH₄, CO₂, H₂S, N₂) (Çetinkaya; Yetilmezsoy, 2019). As análises de CG e de quantificação do volume de CH₄ foram realizadas conforme descrito por Moraes *et al.* (2021c). No início e ao final de cada ciclo de tratamento foram realizadas análises de pH e demanda química de oxigênio (DQO) total, particulada e solúvel. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com o *Standard Methods* (APHA, 2017). A estabilidade operacional dos digestores anaeróbios foi analisada pelos valores iniciais e finais de pH, determinados em um pHmetro DM-20 (Digimed Analítica LTDA, Brasil).

O teste de PBM foi realizado em quatro tratamentos para cada material condutor (MC) de acordo com a razão entre a concentração de MC e de SSV adicionados aos reatores

($\text{rMC/SSV} - \text{gMC gSSV}^{-1}$), sendo assim designados: 1) reator controle – R_c (0 rMC/SSV): $\text{LC} + \text{ARS} + 0 \text{ gMC L}^{-1}$, 2) reatores 10% – $R_{10\%}$ (0,1 rMC/SSV): $\text{LC} + \text{ARS} + 0,4 \text{ gMC L}^{-1}$, 3) reatores 50% – $R_{50\%}$ (0,5 rMC/SSV): $\text{LC} + \text{ARS} + 2,0 \text{ gMC L}^{-1}$ e 4) reatores 100% – $R_{100\%}$ (1,0 rMC/SSV): $\text{LC} + \text{ARS} + 4,0 \text{ gMC L}^{-1}$. Os tratamentos foram avaliados em triplicata, totalizando 30 reatores em batelada. Além desses, três reatores para controle endógeno, contendo apenas meio basal e LC, sem substrato, foram incubados, visando determinar produção residual de CH_4 . O delineamento experimental pode ser observado na **Figura 15**.

Figura 15 – Delineamento experimental dos ensaios de PBM.



Fonte: O autor (2025).

As principais variáveis resposta foram: Potencial Bioquímico de Metano (PBM, $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSSV}^{-1}$); eficiência de remoção de DQO (ER, %); rendimentos de produção de CH_4 por DQO removida (Y_1 , $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ gDQO}_{\text{remov}}^{-1}$) e aplicada (Y_2 , $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ gDQO}_{\text{apl}}^{-1}$); aumento na produção de CH_4 por massa de MC adicionado (Y_R , $\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{ gMC}^{-1}$); composição de biogás (CH_4 e CO_2 , %); velocidade de produção de CH_4 (k , d^{-1}); taxa máxima de produção de CH_4 (μ , $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ KgSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e tempo de fase *lag* (λ , d).

Para o tratamento estatístico dos dados, foi utilizado o *software* Microcal Origin 8.1 (Microcal Software Inc., Northampton, MA, EUA). A análise de variância (one-way ANOVA) foi realizada com nível de confiança de 95% e probabilidade de 5% ($p < 0,05$). As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, e seus valores foram apresentados seguidos por letras do tratamento estatístico, onde letras iguais reportam sem diferença significativa para $p < 0,05$.

5.2.4 Rendimentos e Estudo Cinético

As equações aplicadas para os cálculos dos rendimentos de produção de CH₄ e as fórmulas dos modelos matemáticos (Primeira Ordem-Exponencial, Gompertz-Modificado e Logístico) utilizados para extrair os valores dos parâmetros cinéticos da metanização da ARS são apresentados na **Tabela 13** do Material Suplementar. Análises de regressão não linear de mínimos quadrados foram realizadas utilizando a ferramenta Solver do *software* Microsoft Office Excel 2019, visando o ajuste das equações não lineares dos modelos selecionados aos dados experimentais de acúmulo de CH₄ no tempo (Ware; Power, 2017).

A aderência dos modelos aos dados experimentais foi realizada conforme análise dos valores do coeficiente de determinação (R^2), do erro quadrático médio normalizado (NRMSE) e do Critério de Informação de Akaike (AIC), calculados conforme Coelho *et al.* (2020). Quanto menor os valores de NRMSE e de AIC e maior o valor R^2 , maior é o ajuste dos dados estimados aos dados obtidos experimentalmente.

5.2.5 Extração de DNA, Sequenciamento Genético e Bioinformática

As análises de sequenciamento genético e o processamento dos dados foram realizados no Laboratório de Epidemiologia Molecular de Competência Analítica (*Analytical Competence Molecular Epidemiology Laboratory* – ACME Lab) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) em Ceará, Brasil. O DNA foi extraído de amostras coletadas dos reatores utilizando PowerSoil® (MoBio Laboratories Inc., EUA). A biblioteca de *amplicons* para a região V4 e V5 do gene 16S rRNA foi preparada conforme descrito por Illumina (2013) usando primers específicos da região (515F/806R). Após a indexação, os produtos da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram limpos com esferas de purificação Agencourt AMPure XP - PCR (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA) com base nas instruções do fabricante e quantificados com o kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em um Qubit Fluorômetro 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). As bibliotecas foram sequenciadas usando o MiSeq 300-Cycle Reagent Kit v2 com um MiSeq Desktop Sequencer (Illumina).

As leituras de sequenciamento foram cortadas, montadas e eliminadas de ruído usando DADA2 v1.28.0 (Callahan *et al.*, 2016). As variantes de sequenciamento de *amplicons* (ASVs) resultantes foram classificadas taxonomicamente com base na versão 5.1 do banco de dados MiDAS de microrganismos de lodo ativado e digestores anaeróbios (Dueholm *et al.*, 2024), usando o método assignTaxonomia do DADA2. O índice de diversidade alfa foi gerado

com o comando `estimativa_richness` do pacote `Phyloseq` v1.44.0 (McMurdie; Holmes, 2013). As abundâncias absolutas das funções foram previstas com PICRUST2 (Douglas *et al.*, 2020), que realiza uma colocação filogenética dos ASVs montados em uma árvore de referência que contém 20.000 genes do banco de dados de Genomas Microbianos Integrados (IMG) (Markowitz *et al.*, 2012), utilizando as ferramentas HMMER (<http://www.hmmmer.org>), EPA-ng (Barbera *et al.*, 2019) e GAPPa (Czech; Stamatakis, 2019). Após a colocação filogenética, o PICRUST2 prevê números de cópias individuais da família de genes para cada ASV usando o pacote `Castor` R (Louca; Doebeli, 2018).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 *Curvas Cumulativas de Metano*

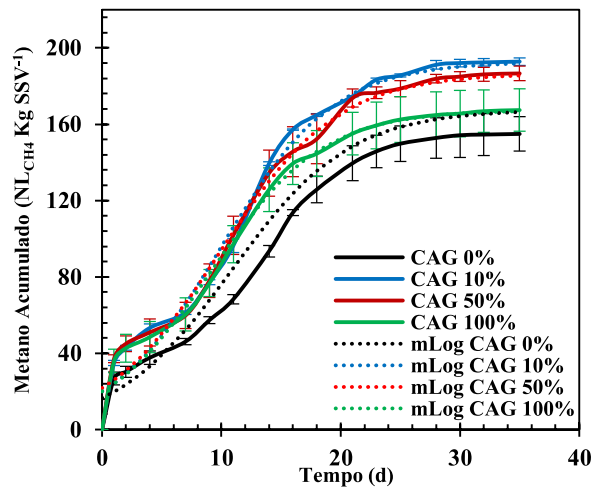
As curvas cumulativas de metano (CCMs) descrevem a cinética de metanização e são reflexos da utilização do substrato pelos microrganismos anaeróbios, sendo uma ferramenta útil para analisar a afinidade da biomassa pelo substrato (atividade metanogênica), observar períodos de inibição ou de baixa produção de metano (CH_4), indicar etapas limitantes do processo e avaliar a biodegradabilidade de substratos (Labatut *et al.*, 2011). As CCMs do primeiro ciclo de tratamento da água residuária de suinocultura (ARS) (**Figuras 16A, 16C e 16E**) apresentaram um formato característico da metanização de substratos que possuem altas concentrações de compostos orgânicos complexos, como gorduras e compostos celulósicos, ou elevada concentração de matéria orgânica na fração particulada, sugerindo a hidrólise como etapa limitante da digestão anaeróbia (DA). Essas curvas indicam a ocorrência de fase *lag*, em que ocorre a lenta produção de CH_4 devido à adaptação dos microrganismos ao substrato e às condições operacionais às quais estão submetidos, seguida por uma fase de elevada geração de CH_4 em curto tempo e por uma fase de estabilização em que a síntese de CH_4 diminuiu e tende a cessar.

Examinando as CCMs do primeiro ciclo de tratamento da ARS (**Figuras 16A, 16C e 16E**), observa-se uma etapa inicial de metanização no primeiro e segundo dia de incubação dos reatores devido ao consumo de matéria orgânica solúvel presente na ARS. O período entre o segundo e sexto dia foi marcado por uma lenta produção de CH_4 , devido à necessidade de hidrólise do substrato. A partir do sexto dia inicia-se uma etapa de maior geração de CH_4 , impulsionada pela disponibilização de substrato solúvel à arqueias metanogênicas por bactérias hidrolíticas. A estabilização da acumulação de CH_4 ocorreu a partir do trigésimo dia.

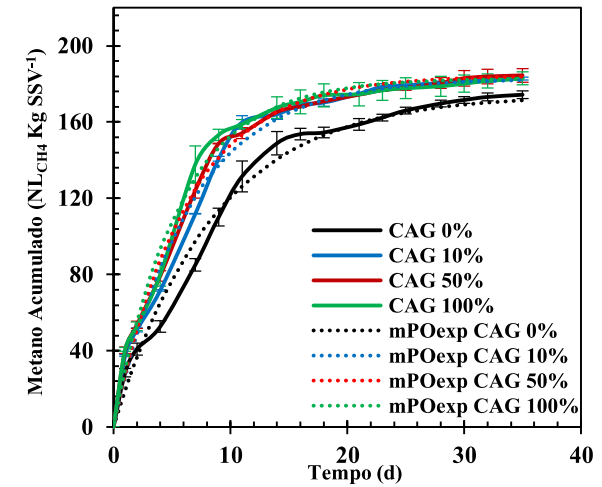
Os parâmetros cinéticos que governam a metanização da ARS em todas as condições avaliadas no primeiro ciclo de tratamento do teste de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foram obtidos utilizando o modelo Logístico, o qual retornou menores valores de erro NRMSE e de AIC e maiores valores de coeficiente de determinação (R^2) (**Tabelas 14, 15 e 16**). O modelo Logístico é comumente aplicado para o ajuste cinético de CCMs que expressam lenta produção de CH_4 , permitindo estimar a taxa máxima de produção de CH_4 (μ) e do tempo de fase *lag* (λ) (Donoso-Bravo *et al.*, 2010). O modelo de Primeira Ordem-Exponencial foi utilizado para estimar a velocidade de produção de CH_4 (k), já que esse parâmetro não é determinado pelo modelo Logístico.

Figura 16 – Curvas cumulativas de metano experimentais e curvas geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos nos dois ciclos do teste de PBM.

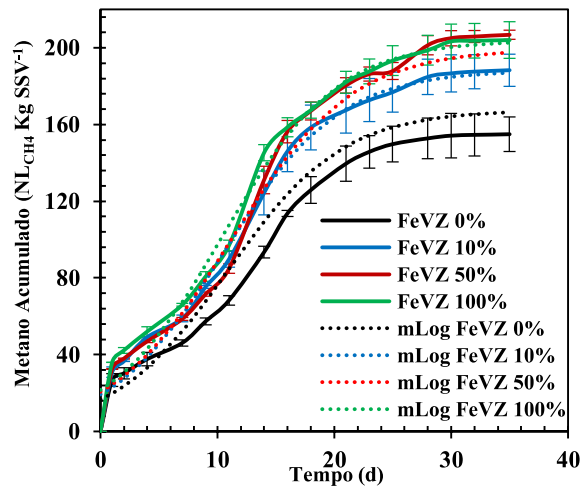
4A. CAG- 1º Ciclo



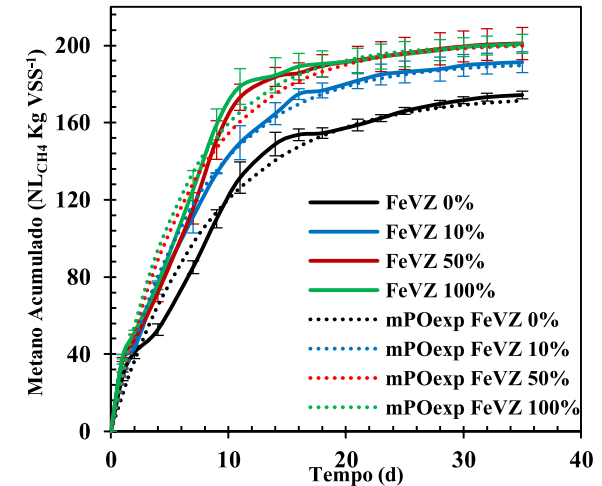
4B. CAG - 2º Ciclo



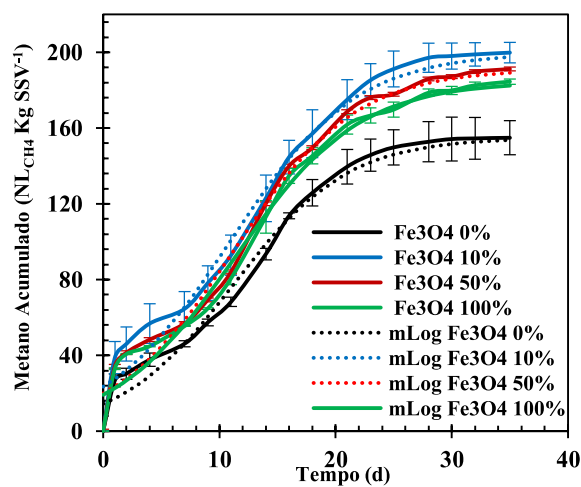
4C. FeVZ- 1º Ciclo



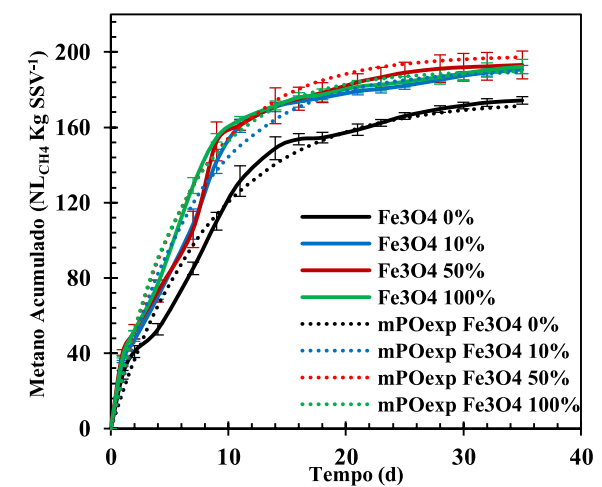
4D. FeVZ - 2º Ciclo



4E. Fe₃O₄- 1º Ciclo



4F. Fe₃O₄ - 2º Ciclo



Legenda: as linhas tracejadas expressam as curvas cumulativas de metano (CCMs) geradas pelo ajuste cinético ao modelo matemático mais adequado para cada tratamento estatístico em cada ciclo do teste de PBM. mLog: CCM gerada pelo modelo Logístico. mPOexp: CCM gerada pelo modelo Primeira-Ordem Exponencial. As barras de erro indicam o desvio padrão de cada amostra.

Fonte: O autor (2025).

Para o segundo ciclo, as CCMs apresentaram forma de L invertido, as quais são caracterizadas por uma elevada taxa de produção de CH₄ nos primeiros dias de contato da biomassa com o substrato e pela ausência ou por um baixo período de fase *lag* (**Figuras 16B, 16D e 16F**). Essa característica exponencial pode ser explicada pela adaptação microbiana prévia a degradação da ARS ocorrida no primeiro ciclo e pelo estímulo à sintrofia microbiológica ocasionada pelos materiais condutores (MCs), resultando na ausência de fase *lag* para todas as condições avaliadas. O modelo de Primeira Ordem-Exponencial foi o mais fidedigno em retratar a cinética de produção de CH₄ apresentando baixos valores de erro e elevados valores de R², possibilitando a extração confiável do parâmetro *k*. Enquanto isso, os resultados de μ e λ foram obtidos pelo modelo de Gompertz Modificado, já que o modelo de Primeira Ordem-Exponencial não estima esse parâmetro, que apresentou maior adequação do que o modelo Logístico (**Tabelas 14, 15 e 16**) (Lima *et al.*, 2018).

5.3.2 Desempenho do CAG

No primeiro ciclo de tratamento, a aplicação de carvão ativado granular (CAG - 0,8-1,7 mm) aumentou o PBM de 154,9 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ no controle para 192,8 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ em R_{10%} (0,4 gCAG L⁻¹). Entretanto, ocorreu a diminuição progressiva desse parâmetro com o aumento da dose de CAG, resultando em valores de PBM estatisticamente iguais para o controle e os reatores R_{100%} (4,0 gCAG L⁻¹) (**Tabela 9**). O mesmo ocorreu para os rendimentos de produção de CH₄ por DQO removida (Y₁) e aplicada (Y₂), os quais, em R_{10%}, foram elevados em 12,0% e 24,4% respectivamente, em relação ao controle, mas diminuíram com o aumento da concentração de CAG nos reatores. A taxa de contribuição de produção de CH₄ por massa adicionada de material condutor (Y_R) também diminuiu com o aumento da dose de CAG, reduzindo de 378,6 NmL_{CH₄} gCAG⁻¹ em R_{10%} para 12,5 NmL_{CH₄} gCAG⁻¹ em R_{100%}. Em contraponto, a eficiência de remoção de matéria orgânica (ER) progrediu paulatinamente com o aumento da dose de CAG, passando de 82,6% no controle para 91,8%, 94,9% e 93,4% em R_{10%}, R_{50%} e R_{100%}, respectivamente, correspondendo a um acréscimo máximo de 14,8%.

Esses resultados indicam que o CAG adsorveu matéria orgânica solúvel, levando a reduções de substrato para metanógenos em suspensão (não aderidos ao aditivo). Apesar disso, a adsorção de compostos orgânicos pelo CAG promove benefícios a DA, como a facilitação da utilização de substratos pelos microrganismos anaeróbios aderidos ao material adsorvente, o que acelera os processos de hidrólise, acidogênese e metanogênese e, conseqüentemente, reduz a fase *lag* do tratamento (Baek *et al.*, 2018). Além disso, o CAG também pode adsorver H₂

produzido por bactérias oxidantes, e, então, este pode ser consumido por arqueias presentes no biofilme, reduzindo a pressão parcial de H_2 (Kalantzis *et al.*, 2023).

Tabela 9 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de CAG (valores médios).

Parâmetros	1º Ciclo				Unidade
	R _c	R _{10%}	R _{50%}	R _{100%}	
	0,0 rCAG/SSV	0,1 rCAG/SSV	0,5 rCAG/SSV	1,0 rCAG/SSV	
	0,0 gCAG L ⁻¹	0,4 gCAG L ⁻¹	2,0 gCAG L ⁻¹	4,0 gCAG L ⁻¹	
PBM	154,9 ^a	192,7 ^b	186,6 ^{bc}	167,4 ^a	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
ER	82,6 ^a	91,8 ^b	94,9 ^d	93,4 ^c	%
Y ₁	0,848 ^a	0,949 ^a	0,890 ^a	0,811 ^a	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,338 ^a	0,378 ^a	0,354 ^a	0,323 ^a	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,701 ^a	0,872 ^b	0,844 ^{ab}	0,757 ^a	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,279 ^a	0,347 ^b	0,336 ^{ab}	0,302 ^a	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	378,6 ^a	63,4 ^b	12,5 ^c	NmL _{CH4} gCAG ⁻¹
λ	1,37 ^a	0,70 ^b	0,04 ^c	0,00 ^c	d
k	0,081 ^a	0,089 ^b	0,090 ^c	0,096 ^d	d ⁻¹
μ	7,87 ^a	10,31 ^b	9,83 ^b	9,12 ^{ab}	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	80,6 ^a	85,4 ^b	83,3 ^{ab}	82,1 ^a	%
CO ₂	19,4 ^a	14,6 ^b	16,7 ^{ab}	17,9 ^a	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%
Parâmetros	2º Ciclo				Unidade
	R _c	R _{10%}	R _{50%}	R _{100%}	
	0,0 rCAG/SSV	0,1 rCAG/SSV	0,5 rCAG/SSV	1,0 rCAG/SSV	
	0,0 gCAG L ⁻¹	0,4 gCAG L ⁻¹	2,0 gCAG L ⁻¹	4,0 gCAG L ⁻¹	
PBM	174,3 ^a	182,8 ^b	184,4 ^b	182,9 ^b	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
ER	92,2 ^a	94,1 ^b	96,1 ^c	98,5 ^d	%
Y ₁	0,827 ^a	0,851 ^b	0,839 ^{ab}	0,813 ^a	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,329 ^a	0,339 ^b	0,334 ^{ab}	0,324 ^a	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,763 ^a	0,800 ^b	0,807 ^b	0,800 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,304 ^a	0,319 ^b	0,322 ^b	0,319 ^b	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	85,0 ^a	20,3 ^b	8,6 ^c	NmL _{CH4} gCAG ⁻¹
λ	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	d
k	0,117 ^a	0,154 ^b	0,161 ^b	0,179 ^c	d ⁻¹
μ	12,57 ^a	17,30 ^b	18,53 ^b	20,57 ^c	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	85,2 ^a	85,2 ^a	86,6 ^b	86,8 ^b	%
CO ₂	14,8 ^a	14,8 ^a	13,4 ^b	13,2 ^b	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

Fonte: O autor (2025).

Altamirano-Corona *et al.* (2021), avaliando o impacto do CAG (1,0, 5,0 e 10,0 g L⁻¹) na DA de resíduos alimentares em experimentos conduzidos em reatores batelada de 500 mL de volume total e 360 mL de volume reacional mantidos a temperatura mesofílica de 36,5 ± 1 °C e pH de 7,5, também reportaram melhor desempenho com a menor dose de CAG, elevando em 2,8% o PBM (475,2 NL_{CH4} kgSV⁻¹ no controle para 488,6 NL_{CH4} kgSV⁻¹), sendo que as

doses média e alta (5,0 e 10,0 g L⁻¹) diminuíram o PBM em 11,0% e 13,2%, respectivamente, em relação ao controle. Os autores apontaram que o CAG poderia ter adsorvido CH₄ em sua superfície, reduzindo o PBM, e sugeriram que estudos fossem desenvolvidos visando analisar a afinidade do CAG com esse composto gasoso. Em consonância com essa hipótese, obteve-se que o aumento da dose de CAG promoveu uma diminuição contínua do teor de CH₄ no biogás, embora todos os reatores aditivados tenham apresentado crescimento no valor desse parâmetro em relação ao controle. Logo, o melhor desempenho foi da dose 0,4 gCAG L⁻¹, que aumentou 4,2% o teor de CH₄ no biogás (**Tabela 9**).

Em contraste com o presente trabalho e com os resultados obtidos por Altamirano-Corona *et al.* (2021), existem estudos que correlacionam positivamente um maior rendimento de CH₄ com o aumento da dose de CAG, como relatado por Yang *et al.* (2017), que obtiveram acréscimos de 1,4%, 2,6%, 14,6% e 17,4% na produção de CH₄ com a utilização de 0,5, 1,0, 2,0 e 5,0 gCAG L⁻¹, respectivamente, na digestão de lodo anaeróbio de uma estação de tratamento de águas residuárias. Yan *et al.* (2020), estudando a correlação entre a dosagem (2,0, 1,0, 0,5, 0,25 e 0,125 g L⁻¹) de carvão ativado em pó (CAP) e o desempenho da DA de lodo ativado residual pré-tratado por hidrólise térmica, relataram o crescimento progressivo do PBM com o aumento da dose de carvão. Assim, conclui-se que o substrato, o inóculo, a concentração e o tamanho de partícula do carvão são fatores intervenientes na metanização do substrato.

Nesse contexto, é notório o impacto positivo do CAG na otimização da cinética de produção de CH₄ (**Tabela 9**). Ao contrário dos parâmetros de rendimento, quanto maior dose de CAG maior o efeito benéfico do aditivo sobre os parâmetros cinéticos. O λ diminuiu de 1,37 d no controle para 0,70, 0,04 e 0,0 d em R_{10%}, R_{50%} e R_{100%}, respectivamente, e o k apresentou em R_{100%} o aumento máximo de 19,5%. O μ teve acréscimos de 16,0%, 24,9% e 31,0% em R_{100%}, R_{50%} e R_{10%}, respectivamente, em relação ao controle, seguindo a mesma tendência dos parâmetros de rendimento de diminuir com o aumento da dose de CAG.

Inúmeras pesquisas relatam o impacto positivo do CAG nos parâmetros cinéticos de metanização de águas residuárias, avaliando principalmente os parâmetros λ , o k e o μ . Em estudo semelhante, Orrantia *et al.* (2024), avaliaram em reatores batelada o impacto da suplementação de CAG em diferentes concentrações (5,0, 15,0, 25,0 g L⁻¹) no tratamento de ARS. O efluente de suinocultura utilizado no experimento passou por um pré-tratamento em que uma porção da amostra de água residuária foi filtrada com peneira de 425 μ m para obtenção da fração líquida (ARS_{FL}) e fração sólida (ARS_{FS}). A ARS_{FS} foi preparada ressuspensando os sólidos em água destilada e a amostra bruta (ARS_B) foi utilizada sem nenhum pré-tratamento. Os autores observaram a redução do tempo de fase *lag* na DA de todas as frações da ARS, mas

os melhores resultados foram obtidos com a fração líquida, em que o λ diminuiu de 3,2 d no controle para 2,1; 2,1 e 1,8 d para as dosagens de 5,0, 15,0 e 25,0 gCAG L⁻¹, respectivamente, representando uma redução de 43,7% no tempo de atraso. Enquanto Orrantia *et al.* (2024) avaliaram doses de carvão ativado maiores ou iguais 5 g L⁻¹, no presente experimento, foram investigadas doses inferiores a essas, as quais retornaram resultados substancialmente positivos.

No segundo ciclo, o mecanismo de adsorção do CAG ainda influenciou nos parâmetros de eficiência e de produção de CH₄. Apesar da obtenção de valores de PBM estatisticamente iguais, o Y₁, Y₂ novamente diminuíram com o aumento da dose de CAG, bem como a ER aumentou progressivamente, indicando remoção de matéria orgânica por adsorção e não por geração de CH₄. O Y_R também decaiu com o aumento da concentração do aditivo, e, em relação ao primeiro ciclo, a contribuição do material condutor (MC) no aumento do PBM foi ainda menor, reduzindo, por exemplo, de 378,6 mL_{CH₄} gCAG⁻¹ para 85,0 mL_{CH₄} gCAG⁻¹ em R_{10%} (**Tabela 9**). Diferentemente do primeiro ciclo, o teor de CH₄ aumentou com a elevação da dose de carvão, crescendo 1,7% e 1,9% em relação ao controle nos reatores R_{50%} e R_{100%}. A cinética de metanização da ARS foi otimizada com a ausência da fase *lag* ($\lambda = 0$), e o aumento de progressivo de k em 31,7%, 37,8% e 52,9% e de μ em 37,6%, 47,4% e 63,6% em relação ao controle com a adição de 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L⁻¹, respectivamente.

As propriedades físico-químicas do CAG relacionam-se aos potenciais mecanismos que viabilizaram o aumento e a aceleração da produção de CH₄ no tratamento anaeróbico da ARS. Por exemplo, a presença de grupos funcionais, como quinonas, hidroxilas e éteres, na superfície do CAG permitem a condução de elétrons via reações de oxidação-redução, tornando esse aditivo um mediador redox na transferência de elétrons interespecies (Y. Zhang *et al.*, 2020). Além disso, a transferência de elétrons mediada por CAG é mais eficaz em detrimento a via e-pili, pois a condutividade elétrica (CE) do CAG (3.000 $\mu\text{S cm}^{-1}$) é 100 a 1.000 vezes superior a CE dos e-pili (entre 2 e 20 $\mu\text{S cm}^{-1}$) (Kutlar *et al.*, 2022).

O CAG é um material poroso com grande área de superfície específica (ASE), forte adsorção e capacidade de adesão (L. Xiao *et al.*, 2022). A elevada ASE do CAG contribui para a retenção de biomassa e para a formação de biofilme em sua superfície, o que promove alterações na comunidade microbiana, como o enriquecimento de bactérias sintróficas e de arqueias metanogênicas (Kalantzis *et al.*, 2023). Além disso, a ASE permite que os microrganismos possam se fixar a qualquer ponto do CAG, sem a necessidade de fazerem contato direto célula a célula, facilitando a troca de elétrons de longa distância (Dai *et al.*, 2022). O CAG pode adsorver diversos compostos, como polissacarídeos (PS), proteínas (PN) e ácidos graxos voláteis (AGVs) e H₂, e facilitar o uso do substrato por microrganismos aderidos em sua

superfície, contribuindo para a redução do tempo de fase *lag* do tratamento anaeróbio, além de acelerar os processos de hidrólise e de acidogênese (Barua; Dhar, 2017; Jiang *et al.*, 2021; Muchen Sun *et al.*, 2022). O CAG também pode adsorver agentes inibitórios à metanogênese, como compostos fenólicos, antibióticos e nitrogênio amoniacal, mitigando os impactos adversos desses compostos aos microrganismos anaeróbios (Sun *et al.*, 2023).

Nesse contexto, Burboa-Charis e Alvarez, (2020), avaliaram o tratamento anaeróbio da ARS em ensaios de PBM conduzidos em reatores de vidro de 120 mL, com 60 mL de volume reacional. Lodo de cervejaria foi utilizado como inóculo e os reatores receberam 10 g L⁻¹ de CAG (425 a 600 µm) e 10 mg L⁻¹ de enrofloxacin (ERX). Os reatores que não receberam aditivo foram denominados de reatores controle. As incubações foram mantidas em um agitador a 40 °C e 130 rpm por 21 dias. Os autores reportaram que o CAG adsorveu 19,9% do antibiótico e, em relação ao reator controle, aumentou a ER em 15,9% (77,8% para 90,2%), elevou a produção de CH₄ em 37,3% (8,3 mL_{CH4} para 11,4 mL_{CH4}), bem como beneficiou a cinética metanogênica ao diminuir o λ de 5,0 para 4,5 d (-11,1%). Os pesquisadores também avaliaram outros materiais carbonáceos, como o feltro de grafite e o pano de carbono, mas o CAG retornou maiores rendimentos de produção de CH₄ e efeitos mais expressivos na redução de λ, embora apresentou menor desempenho na adsorção da ERX. Esses resultados indicam que, embora a adsorção de ERX no CAG possa ter diminuído os efeitos inibitórios às arqueias metanogênicas, a capacidade como adsorvente não foi o processo dominante que influenciou o aumento da produção de CH₄, sugerindo que sua função como condutor de elétrons para apoiar a sintrofia entre as bactérias fermentativas e as arqueias metanogênicas foi preponderante para os resultados obtidos. Com base nos estudos de Burboa-Charis e Alvarez, (2020), é possível que, no presente trabalho, o CAG tenha beneficiado a metanização da ARS pela adsorção de ERX. Esse antibiótico é possivelmente presente na ARS utilizada neste estudo (concentração não analisada), pois é comumente utilizado para o tratamento de infecções entéricas e respiratórias dos suínos criados na suinocultura em que o efluente foi coletado.

O CAG também influencia no enriquecimento de Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE) (Nabi *et al.*, 2024). A SPE é composta por secreções de alto peso molecular de microrganismos, além de produtos resultantes da lise celular e da hidrólise de macromoléculas, sendo os carboidratos (PS) e proteínas (PN) seus principais componentes. As principais funções da SPE são proteger os microrganismos contra estresses ambientais, conferir coesão ao biofilme e reduzir a distância entre os microrganismos, o que facilita a troca de substâncias e estimula a formação de um microconsórcio sinérgico (Wang *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2020). As SPE favorecem a regulação de atividades enzimáticas e de substâncias orgânicas

micromoleculares dentro e fora das células, além de poder conter abundantes substâncias eletroativas e grupos funcionais redox, como substâncias húmicas, quinonas e hidroquinonas, que desempenham papel crucial na transferência de elétrons devido às suas propriedades eletroquímicas (Sheng *et al.*, 2010).

Nesse cenário, Nabi *et al.* (2024), investigaram a influência de materiais carbonáceos na formação de SPE e na produção de CH₄ a partir da metanização da glicose (3 gDQO L⁻¹). O experimento foi realizado em reatores de vidro com 250 mL de volume total. Lodo sanitário foi utilizado como inóculo (6 gSV L⁻¹). O experimento compreendeu quatro ciclos, com cada ciclo durando três dias, resultando em uma duração experimental total de 12 dias. Foram avaliados CAG (5 g L⁻¹), CAP (5 g L⁻¹), grafite (4 g L⁻¹) e *biochar* (6 g L⁻¹). O CAG retornou maior teor de CH₄ no biogás. Os pesquisadores justificaram esse resultado pela capacidade do CAG em fornecer um habitat adequado para a colonização de microrganismos, facilitando o estabelecimento de TDEI, e ter enriquecido arqueias metanogênicas, principalmente *Methanobacterium*. No que concerne ao conteúdo de SPE, as SPE fracamente ligadas diminuíram em todos os reatores aditivados em comparação ao controle, mas as SPE fortemente ligadas aumentaram nos reatores modificados. O conteúdo total de SPE variou de acordo com o ciclo de tratamento e o CAG tendeu a reduzir as SPE nos três primeiros ciclos e depois elevar nos dois últimos ciclos. Ao final do experimento, o CAP apresentou maior concentração de SPE (232 mg L⁻¹), seguido pelo CAG (212 mg L⁻¹). O controle apresentou a menor concentração de SPE (100 mg L⁻¹). Os autores concluíram que os materiais carbonáceos podem beneficiar a DA ao aumentar o teor de SPE secretado pelos microrganismos.

O efeito positivo do CAG sobre a secreção de SPE por microrganismos anaeróbios ainda é controverso na literatura. Nesse contexto, Jin *et al.* (2022) avaliaram a função do CAG (200 mesh) na formação de SPE por meio do tratamento anaeróbio de lodo ativado residual. O substrato foi pré-tratado a uma temperatura de 80 °C por 30 min visando acelerar sua solubilização. Os ensaios de PBM foram realizados em reatores de vidro com 350 mL de volume reacional, operando sob temperatura mesofílica de 35 °C e agitação orbital de 105 rpm por 20 dias. A proporção entre lodo pré-tratado e lodo de inóculo foi definida como 4:1. O PBM diminuiu de 168,96 mL_{CH₄} gSSV⁻¹ no controle para 91,91 mL_{CH₄} gSSV⁻¹ nos reatores aditivados com 1 gCAG gSSV⁻¹. Os autores atribuíram esse resultado a adsorção de substratos solúveis, principalmente de PS e de PN, o que limitou a quantidade de matéria orgânica disponível para a produção de CH₄. Os pesquisadores também relataram que o CAG diminuiu a capacidade de transferência de elétrons das SPE em 52,4% em detrimento ao controle, mas verificaram que o aditivo aumentou a quantidade de citocromos do tipo c (OmcS) nas SPE, o que deveria

favorecer e acelerar os processos de transferência de elétrons, mas isso não foi observado. Os autores concluíram que as relações de correlação entre PBM e os conteúdos de OmcS foram fracas ou mesmo negativas. Além disso, o CAG adsorveu, indisponibilizou e diminuiu a secreção de substâncias redox, como tirosina, substâncias semelhantes a triptofano e substâncias húmicas, o que impactou negativamente nos processos de transferência de elétrons e, conseqüentemente, reduziu os rendimentos de produção de CH₄.

Jiang *et al.* (2021) desenvolveram estudos sobre o impacto de CAG (10 g L⁻¹, 12 mesh) na DA de lodo ativado residual pré-tratado por tratamento termoalcalino. Os autores relataram a diminuição do PBM devido à adsorção de matéria orgânica e, por meio de ensaios de adsorção, obtiveram que o CAG prefere adsorver PS e PN em detrimento a AGVs e a glicose. Apesar disso, substâncias inibitórias, como compostos furânicos e fenólicos, que foram geradas pelo pré-tratamento, foram reduzidas pelo CAG via adsorção, enfraquecendo o efeito inibitório à metanogênese por esses compostos tóxicos, o que promoveu aceleração da metanogênese, demonstrada pela diminuição do tempo de fase *lag* em todas as condições avaliadas com CAG.

Esse aditivo também pode beneficiar ou prejudicar a formação de SPE, dependendo das doses e das granulometrias do CAG aplicado, bem como das condições experimentais em que os ensaios de PBM são conduzidos, sendo necessário o desenvolvimento de mais estudos sobre esse tema, objetivando esclarecer a função do CAG na secreção de SPE. Seu impacto positivo sobre a cinética metanogênica está relacionada à adsorção de compostos inibitórios às arqueias metanogênicas e à sua capacidade de reter biomassa em sua superfície, o que promove a formação de agregados microbianos e facilita os processos de transferência de elétrons. Além disso, é necessário avaliar se a capacidade do CAG atuar como condutor de elétrons é mantida em maior tempo de tratamento, pois a adsorção de compostos inibitórios pode limitar a transferência de massa para o material (Burboa-Charis; Alvarez, 2020).

5.3.3 Desempenho do FeVZ

A inserção de ferro de valência zero (FeVZ - 450 µm) otimizou com sucesso o tratamento anaeróbio de ARS, aumentando a ER, o PBM e os rendimentos de produção Y₁ e Y₂ (**Tabela 10**). Quanto maior a dose aplicada de FeVZ, maior foi o aproveitamento energético do processo anaeróbio através da recuperação de CH₄ no biogás, já que o PBM passou de 154,9 L_{CH₄} kgSSV⁻¹ nos reatores controle (sem adição de FeVZ) para 206,8 L_{CH₄} kgSSV⁻¹ nos reatores que receberam 2,0 gFeVZ L⁻¹.

Tabela 10 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de FeVZ (valores médios).

Parâmetros	1º Ciclo				Unidade
	R _C	R _{10%}	R _{50%}	R _{100%}	
	0,0 rFeVZ/SSV 0,0 gFeVZ L ⁻¹	0,1 rFeVZ/SSV 0,4 gFeVZ L ⁻¹	0,5 rFeVZ/SSV 2,0 gFeVZ L ⁻¹	1,0 rFeVZ/SSV 4,0 gFeVZ L ⁻¹	
PBM	154,9 ^a	188,2 ^b	206,7 ^c	204,0 ^{bc}	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
ER	82,6 ^a	88,4 ^b	88,7 ^b	89,0 ^b	%
Y ₁	0,848 ^a	0,961 ^b	1,054 ^b	1,036 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,338 ^a	0,383 ^b	0,420 ^b	0,413 ^b	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,701 ^a	0,852 ^b	0,935 ^c	0,923 ^{bc}	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,279 ^a	0,339 ^b	0,373 ^c	0,368 ^{bc}	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	333,7 ^a	89,3 ^b	49,1 ^c	NmL _{CH4} gFeVZ ⁻¹
λ	1,37 ^a	0,84 ^b	0,83 ^b	0,66 ^c	d
k	0,081 ^a	0,084 ^a	0,082 ^a	0,085 ^a	d ⁻¹
μ	7,87 ^a	9,64 ^b	10,02 ^b	10,41 ^b	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	80,6 ^a	83,6 ^b	83,0 ^b	83,7 ^b	%
CO ₂	19,4 ^a	16,4 ^b	17,0 ^b	16,3 ^b	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%
2º Ciclo					
PBM	174,3 ^a	191,3 ^b	200,9 ^b	200,7 ^b	NL _{CH4} kgSSV ⁻¹
ER	92,2 ^a	93,3 ^b	94,3 ^{bc}	94,6 ^c	%
Y ₁	0,827 ^a	0,930 ^b	0,964 ^b	0,960 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,329 ^a	0,370 ^b	0,384 ^b	0,382 ^b	NL _{CH4} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,763 ^a	0,865 ^b	0,909 ^b	0,908 ^b	gDQO _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,304 ^a	0,345 ^b	0,362 ^b	0,362 ^b	NL _{CH4} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	170,0 ^a	53,4 ^b	26,5 ^c	NmL _{CH4} gFeVZ ⁻¹
λ	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	d
k	0,117 ^a	0,136 ^{ab}	0,152 ^{bc}	0,158 ^c	d ⁻¹
μ	12,57 ^a	15,93 ^b	18,64 ^{bc}	19,57 ^c	NL _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	85,2 ^a	86,3 ^a	94,5 ^b	96,7 ^c	%
CO ₂	14,8 ^a	13,7 ^a	5,5 ^b	3,3 ^b	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

Fonte: O autor (2025).

Contudo, o aumento da dose de 2,0 gFeVZ L⁻¹ para 4,0 gFeVZ L⁻¹ não elevou significativamente os valores dos parâmetros de eficiência e de rendimentos. Esse resultado também é corroborado pela diminuição de Y_R com o aumento da dose aplicada, passando de 333,7 mL_{CH4} gFeVZ⁻¹ em R_{10%} para 89,3 e 49,1 mL_{CH4} gFeVZ⁻¹ em R_{50%} e em R_{100%}, respectivamente (**Tabela 10**). Destaca-se que a menor dose avaliada (0,4 gFeVZ L⁻¹) já apresentou benefícios à DA, aumentando em 21,5% o PBM e em 7,0% a ER, além favorecer o processo cinético de geração de CH₄. Esses resultados indicam que todas as doses utilizadas desse aditivo foram suficientes para estimular a metanização da ARS, uma água residuária com

elevado teor de matéria orgânica particulada, mesmo em um ensaio metanogênico realizado com um inóculo não adaptado ao tratamento do substrato avaliado.

Em estudo semelhante, Wu *et al.* (2015) avaliaram o tratamento anaeróbico da ARS com a aplicação de diferentes concentrações de FeVZ e inóculo adaptado ao tratamento de dejetos de suínos, objetivando indicar uma faixa ideal de rFeVZ/SSV que maximizava a eficiência da metanogênese e minimizava os impactos negativos promovidos pelo FeVZ. O experimento foi conduzido em reatores batelada com 150 mL de volume total e 100 mL de volume reacional, operando em pH inicial igual a 7,0, agitação orbital de 200 rpm e temperatura de 30 °C por 30h. As concentrações avaliadas de FeVZ foram: 3,0, 7,0, 15,0, 25,0 e 50,0 g L⁻¹, correspondendo as razões FeVZ/SSV de 0,32, 0,74, 1,58, 2,63 e 5,26, respectivamente. Os autores obtiveram os melhores resultados na rFeVZ/SSV igual a 2,63, na qual a eficiência de remoção passou de 75,1% no controle para 89,2% e o PBM aumentou em aproximadamente 149%, passando de 54,5 mL_{CH4} no controle para 135,6 mL_{CH4}. A maior eficiência de contribuição no PBM por adição de FeVZ foi de 48,6 mL_{CH4} gFeVZ⁻¹, obtida na rFeVZ/SSV 0,74, sendo que as doses mais elevadas, assim como em nosso estudo, diminuíram a eficiência de contribuição por FeVZ. Os autores relataram que o PBM diminuiu com a aplicação de 50,0 gFeVZ L⁻¹ e relacionaram esse resultado com o aumento das espécies de minerais de ferro no lodo (advindos da oxidação do FeVZ), os quais dificultaram o metabolismo dos microrganismos e danificaram a estrutura celular, acumulando-se na superfície celular como precipitado ferroso ou encapsulando as células microbianas.

Enquanto Wu *et al.* (2015) avaliaram elevadas doses de FeVZ, obtendo até prejuízos à DA, a presente investigação buscou avaliar o efeito de menores concentrações desse aditivo no tratamento da ARS, com a hipótese de que baixas razões FeVZ/SSV são suficientes para melhorar o desempenho da metanização desse efluente em baixa carga orgânica. Com efeito, mesmo a maior razão FeVZ/SSV (1,0) avaliada não promoveu nenhum tipo de prejuízo à biomassa anaeróbia, fato evidenciado pela análise das comunidades microbianas, pelos índices de alfa-diversidade e pelos parâmetros de eficiência e cinética obtidos. Além disso, a utilização de baixas doses também dificulta a indução de efeitos negativos desse material nos rendimentos de CH₄, principalmente porque a elevada oxidação do FeVZ pode aumentar muito a pressão parcial de H₂ e, então, induzir toxicidade às arqueias por acúmulo de AGVs.

O FeVZ aumentou os rendimentos de produção de CH₄ (Y₁ e Y₂) e o teor de CH₄ no biogás. O melhor resultado foi obtido em R_{50%}, em que o Y₁ foi de 1,05 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹, valor superior em 24,3% ao resultado do controle (0,85 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹). Enquanto isso, o Y₂ passou de 0,70 gDQO_{CH4} gDQO_{apl}⁻¹ no controle para 0,94 gDQO_{CH4}

$\text{gDQO}_{\text{apl}}^{-1}$ em $R_{50\%}$, indicando maior utilização do substrato. O teor de CH_4 no biogás aumentou entre 3% e 4% nos reatores que receberam FeVZ. Esses resultados podem ser fundamentados nos benefícios que a adição de FeVZ promove à DA, como o enriquecimento de bactérias fermentativas e de arqueias metanogênicas mediante ao estímulo à produção e à atividade de enzimas acidogênicas, como acetato quinase, piruvato-ferredoxina oxidorreductase, fosfotransacetilase, butirato quinase e fosfotransbutirilase, e metanogênicas, como a hidrogenase redutora de F420 (HrF420) (He *et al.*, 2022).

Nesse sentido, Liu *et al.* (2012), avaliaram o impacto de pó de FeVZ (0,2 mm de diâmetro) no estágio de acidogênese para otimizar a formação de AGVs. Os autores conduziram o experimento em dois reatores acidogênicos, um recebeu 20 g L^{-1} de pó de FeVZ (R_{FeVZ}) e outro não recebeu nenhum aditivo (reator controle). Ambos tinham 2 L de volume reacional e operavam no modo de fluxo ascendente. Os reatores eram alimentados com água residuária sintética composta por sacarose (DQO afluente de 3.000 mg L^{-1}), como fonte de carbono, e quantidades adequadas de nitrogênio e fósforo para a obtenção da relação DQO:N:P de 200:5:1. Os reatores foram inoculados com $14,8 \text{ g L}^{-1}$ de lodo sanitário, em termos de sólidos suspensos totais (SST). O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi variado de 6h para 2h. Os autores obtiveram maior grau de acidificação (razão entre a DQO de AGVs produzidos pela DQO aplicada) no R_{FeVZ} em relação ao controle. Em TDH de 6h, o grau de acidificação em R_{FeVZ} foi de 42,1% e no controle foi apenas de 37,1%. Quando o TDH foi reduzido para 2h, o grau de acidificação reduziu significativamente para 22,3% no controle, enquanto permaneceu estável em R_{FeVZ} (41,4%). Liu *et al.* (2012) observaram que o efluente gerado no reator controle tinha maior parcela de DQO gerada por carboidratos, mas a DQO no efluente do reator aditivado era gerada principalmente por AGVs, indicando que a hidrólise e a acidogênese foram aceleradas. Os autores justificaram esse resultado pelo aumento da atividade da enzima piruvato-ferredoxina oxidorreductase (PFO). A atividade PFO em R_{FeVZ} foi determinada como sendo $0,05375 \pm 0,00113$ unidades mg-proteína^{-1} , enquanto, no controle foi apenas $0,00305 \pm 0,00034$ unidades mg-proteína^{-1} , significando que a atividade de PFO em R_{AGVS} foi cerca de 17 vezes superior à do controle. O ferro é um componente indispensável da enzima PFO que poderia ter uma influência direta na oxidação biológica, incluindo hidrólise e fermentação. A produção de Fe^{2+} ajudaria a PFO a manter alta atividade, acelerando a acidogênese.

Outra vantagem do FeVZ é sua elevada capacidade redutora ($E^0 = -440 \text{ mV}$). Em meio anaeróbico, o FeVZ sofre corrosão gerando H_2 exógeno (aquele que não é formado pela degradação da matéria orgânica durante a DA), o qual participa da transferência indireta de elétrons interespecies (TIEI) como um doador de elétrons para a redução de CO_2 a CH_4 durante

a metanogênese hidrogenotrófica (MH), resultando em rendimentos maiores do que os possibilitados apenas pela utilização do substrato (Ye *et al.*, 2021).

Nesse prisma, Vyrides *et al.* (2018), avaliaram o efeito do pH na transformação de CO₂ em CH₄ por lodo granular anaeróbio oriundo do tratamento de águas residuárias laticínios. O experimento foi conduzido em reatores de vidro com 125 mL de volume total e 60 mL de volume reacional, operando em regime de batelada sob agitação de 100 rpm e 30 °C por 11 dias. Os reatores foram inoculados com 2 gSV L⁻¹ e receberam 50 gFeVZ L⁻¹ em pó. Para criar condições anaeróbias, CO₂ foi introduzido em cada reator por 10 min para remover oxigênio. CO₂ foi a única fonte de carbono para os microrganismos anaeróbios. A pressão do *headspace* foi regulada inicialmente entre 1,5 e 1,6 atm e ao final do experimento encontrava-se entre 1,0 e 1,1 atm, devido a amostragem diária de 1 mL do *headspace* para análise de composição do biogás. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada pH analisado (5, 6 e 7), totalizando 9 reatores e utilizaram duas abordagens. Na primeira, o pH do meio reacional era monitorado diariamente e corrigido, por meio de ácido clorídrico (HCl) 2M ou por hidróxido de sódio (NaOH) 2M, para os valores pré-estabelecidos (5, 6 e 7). Na segunda abordagem, os valores de pH eram analisados, mas não ajustados. Para medir o pH, era removido 1 mL de volume reacional de cada reator e, quando necessário, era adicionado um volume adequado de meio basal para manter o volume de trabalho.

Vyrides *et al.* (2018) obtiveram maior acúmulo de CH₄ em pH 5 (cerca de 28 mLCH₄) e 6 (cerca de 30 mLCH₄) regulado diariamente e em pH 5 (cerca de 28 mLCH₄) sem qualquer regulação. Em pH 7, foram gerados aproximadamente 25 e 26 mLCH₄ nas condições de pH regulado e não regulado, respectivamente. A maior produção de CH₄ em pH 5 e 6 ocorreu devido a maior geração de H₂ nessas condições em detrimento ao pH 7, devido às condições mais favoráveis para a geração abiótica de H₂ em valores de pH mais baixos. Em pH 5 foram produzidos em torno de 23 mLH₂ nas duas abordagens avaliadas e em pH 6 foram gerados aproximadamente 24 mLH₂, quando pH era corrigido, e cerca de 18 mL quando pH não era ajustado. Enquanto isso, em pH 7, a produção máxima de H₂ foi cerca de 10 mL e 4 mL nas condições reguladas e não reguladas, respectivamente. Os autores concluíram que em valores iniciais de pH de 5 e 6, a geração de H₂ por FeVZ foi maior em comparação ao pH 7, mas não houve, em nenhuma condição avaliada, limitação de substrato para as arqueias metanogênicas e, à proporção em que o pH aumentava de 5 para 7 a atividade metanogênica aumentava devido o pH neutro ser mais favorável para o metabolismo de metanogênicos. Isso justificou as produções de CH₄ não serem tão inferiores em pH 7 em comparação ao pH 5 e 6, mesmo com a menor geração de H₂. Outros trabalhos também relatam o aumento da produção de CH₄ por

H₂ exógeno advindo da corrosão do FeVZ em testes metanogênicos realizados em pH neutro (D. Dong *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2015).

Além desses mecanismos que favorecem a DA, o FeVZ pode reduzir o potencial de oxidação-redução (POR) devido a sua forte propriedade redutora, criando um ambiente mais favorável para arqueias e para bactérias estritamente anaeróbias. Para microrganismos anaeróbios obrigatórios, um baixo POR é fundamental, pois o potencial mais alto pode reduzir completamente citocromos, impactando negativamente o transporte de elétrons extracelulares e o crescimento dos microrganismos (J. Zhang *et al.*, 2020). Conforme Wei *et al.* (2018), o POR ideal para arqueias é de aproximadamente -350 mV. Além disso, o POR também pode determinar o tipo de fermentação e, conseqüentemente, a composição de AGVs formados durante a DA. Em um POR maior que -278 mV, a fermentação do tipo propiônico (produção de propionato e acetato) é preponderante, enquanto em ambientes ácidos (pH < 4,5) com POR inferiores a -300 mV a fermentação do tipo acético (formação de acetato e etanol) é preferencial. Já a fermentação do tipo butírico (geração de butirato e acetato) é facilitada em ambientes levemente ácidos e neutros (pH > 6) com POR inferiores a -300 mV (Baek *et al.*, 2018). O propionato não pode ser utilizado diretamente pelos metanogênicos, sendo necessário sua degradação a acetato. Porém, a oxidação anaeróbia do propionato (OAP) é termodinamicamente desfavorável, o que pode gerar acúmulo desse ácido e limitar a produção de CH₄ (Wei *et al.*, 2018). Logo, o favorecimento das fermentações do tipo butirato e acetato em detrimento a fermentação do propionato, pela diminuição do POR provocada pela adição de FeVZ ao sistema de tratamento anaeróbio, pode levar a um aumento da produção de acetato, e conseqüentemente, de CH₄. Embora a oxidação anaeróbia do butirato (OAB) também seja termodinamicamente desfavorável nas Condições Padrão de Temperatura e Pressão (CPTP), sua energia livre de Gibbs (+48,1 kJ mol⁻¹) é menos positiva do que a requerida para a OAP (+76,1 kJ mol⁻¹) (Y. Liu *et al.*, 2012).

Nesse conjuntura, Liu *et al.* (2012), trabalho detalhado anteriormente, avaliaram a composição de AGVs formados na acidogênese da sacarose e concluíram que a dosagem de FeVZ reduziu a fermentação do tipo propiônico e aumentou significativamente a produção de acetato e butirato independentemente do TDH (6h, 4h e 2h) aplicado aos reatores acidogênicos. A porcentagem de propionato em R_{FeVZ} variou de 32 a 35%, enquanto no controle esse ácido correspondia a 49 a 56% dos AGVs formados sob diferentes TDH. Em R_{FeVZ}, as porcentagens médias de acetato (31%) e de butirato (35%) foram superiores aos do controle (22% de acetato e 26% de butirato). Os autores atribuíram esse resultado à elevada capacidade redutiva do FeVZ que promoveu a redução do POR de -111 e -227 mV no controle, faixa que favorecia a produção

de propionato, para a faixa de -282 e -326 mV em R_{FeVZ} , que beneficiava a produção de acetato e butirato, além de tornar o ambiente anaeróbico mais favorável para o metabolismo de microrganismos estritamente anaeróbios. Os efluentes de R_{FeVZ} e do reator controle foram utilizados para alimentar reatores metanogênicos, os quais tinham de 6 L de volume reacional e operavam em fluxo ascendente com TDH fixo de 18h. O reator que recebeu o efluente de R_{FeVZ} foi denominado de R_{M1} e que recebeu do controle de R_{M2} . O efluente de R_{FeVZ} que continha uma porcentagem menor de propionato e maior grau de acidificação foi mais favorável à metanogênese, retornando valores médios superiores de remoção de DQO (95 a 99%) e de produção de CH_4 ($0,31 L_{CH_4} gDQO_{remov.}^{-1}$ em detrimento a R_{M2} , o qual removeu 73 a 88% de DQO e produziu $0,26 L_{CH_4} gDQO_{remov.}^{-1}$). Outros trabalhos também reportaram o efeito positivo do FeVZ na acidogênese e na metanogênese devido a redução do POR (CHEN *et al.*, 2015; GOLKOWSKA; GREGER, 2013; XI *et al.*, 2014; ZHU *et al.*, 2014).

Com o aumento da dose de FeVZ, o λ diminuiu de 1,37 d para 0,66 d, indicando que o aditivo acelerou a adaptação microbiológica ao substrato (**Tabela 10**). Enquanto isso, apesar de o μ ter aumentado, passando de $7,9 NL_{CH_4} KgSSV^{-1} d^{-1}$ para $10,4 NL_{CH_4} KgSSV^{-1} d^{-1}$, a elevação da dose não promoveu diferença estatística significativa neste parâmetro cinético entre os reatores que receberam aditivo. O parâmetro k não apresentou diferença significativa entre os tratamentos estatísticos no primeiro ciclo. Observando apenas os rendimentos de produção, a ER e o PBM apresentaram melhores resultado em $R_{50\%}$. Entretanto, quando os parâmetros cinéticos são analisados, observa-se que a razão de 1,0 FeVZ/SSV apresentou benefícios substanciais na diminuição da λ e no aumento da μ , indicando que essa dose promoveu um maior estímulo à sintrofia microbiana. O aperfeiçoamento da cinética de metanização do substrato pode ser relacionada a capacidade do FeVZ em estimular à TIEI via H_2 exógeno e à TDEI mediante sua superfície condutiva (Zhu *et al.*, 2020).

Nesse cenário, Zhu *et al.* (2020) relataram que baixas concentrações de FeVZ poderiam favorecer a DA estimulando a TIEI, inclusive enriquecendo arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, mas não eram suficientes para ativar alguns mecanismos de TDEI e nem capazes de aumentar a abundância relativa de microrganismos sintróficos atuantes nesse processo. Esses autores avaliaram a aplicação de FeVZ (5,0, 10,0 e 20,0 g L^{-1}) na DA seca de resíduos alimentares, tendo lodo sanitário como inóculo. Todas as concentrações de FeVZ aumentaram o PBM e tornaram mais eficiente a remoção de PS e PN, principais componentes dos resíduos alimentares. Todavia, somente as doses de 10,0 e 20,0 gFeVZ L^{-1} apresentaram impactos significativos no aumento da secreção de PN nas SPE, que foram classificadas como exoenzimas eletroativas. Essas PN continham grupos amida e ligações H que poderiam

transferir elétrons e participar da transferência de elétrons de longo alcance, impactando positivamente no estabelecimento de TDEI. Os autores também relataram que a capacidade de transferência de elétrons (CTE) das SPE, que refletem as quantidades de grupos oxidativos e redutores nas SPE disponíveis para trocar elétrons, como frações de quinona e hidroquinona, aumentaram 1,4, 5,4 e 3,6 vezes para as doses 5,0, 10,0 e 20,0 g L⁻¹, respectivamente, em relação ao controle. Sob a menor dose de FeVZ (5,0 g L⁻¹), arqueias hidrogenotróficas (*Methanoculleus* e *Methanomassiliicoccus*) foram enriquecidas, fundamentando o aumento do PBM por meio de TIEI. No entanto, essa dose não foi suficiente para resistir a choques de carga orgânica. Enquanto isso, as biomassas que receberam as maiores doses de FeVZ tinham predominância de *Methanothrix*, indicando o aumento da contribuição de produção de CH₄ pela via acetoclástica e o estabelecimento de TDEI (entre *Syntrophomonas* e *Methanothrix*).

No segundo ciclo, houve uma melhora mais significativa nos indicadores do processo anaeróbio, principalmente nos parâmetros cinéticos. A ER, o teor de CH₄ no biogás e os parâmetros cinéticos μ e k foram elevados com o aumento da razão FeVZ/SSV (**Tabela 10**). Isto ocorreu porque o lodo já estava mais adaptado ao substrato e porque o FeVZ exercia papel fundamental nos processos de transferência de elétrons. Além disso, o λ foi ausente em todos os tratamentos. A menor dose de FeVZ também proveu efeito positivo na metanização da ARS, como o aumento de 12,4% no Y₁ e 13,4% no Y₂ em relação ao controle, mas apresentou fraco desempenho na melhoria dos parâmetros cinéticos, indicando que a aceleração da cinética metanogênica é dose-dependente de FeVZ. Com o lodo mais adaptado, o impacto benéfico do aumento da concentração de FeVZ foi menos significativo nos indicadores de rendimento (Y₁, Y₂ e Y_R), mas foi expressivo em tornar o biogás mais puro aumentando o teor de CH₄ em 10,9% e 13,5% em R_{50%} e R_{100%}, respectivamente, em relação ao controle. Esses resultados sugerem que no segundo ciclo o FeVZ continuava a ser oxidado, fornecendo H₂ à MH.

5.3.4 Desempenho da Fe₃O₄

O aumento máximo no PBM promovido pela nanomagnetita (Fe₃O₄, 50-100 nm) foi de 29,0%, elevando de 154,1 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ no controle para 199,8 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ em R_{10%} (**Tabela 11**). Destaca-se o excelente desempenho da menor dose aplicada em estimular o processo metanogênico e aumentar em Y₁, Y₂, ER e o teor de CH₄ no biogás em 20,2%, 29,0%, 7,3% e 2,6%, respectivamente. Além disso, apresentou elevado valor de Y_R (449,1 NmL_{CH₄} gFe₃O₄⁻¹), sendo a maior taxa de contribuição de material condutor na geração de CH₄ para o primeiro ciclo de tratamento, em que Y_R do CAG foi de 378,6 NmL_{CH₄} gCAG⁻¹ e o Y_R do FeVZ

foi 333,7 NmL_{CH₄} gFeVZ⁻¹ (Tabela 9 e 10). Os efeitos positivos da Fe₃O₄ na DA estão relacionados ao estímulo da sintrofia microbiana e o enriquecimento de microrganismos eletroativos participantes de TDEI. Além disso, conforme Wang *et al.* (2016), óxidos de ferro podem aumentar a produção de coenzima F420, fortalecendo a atividade metanogênica.

Tabela 11 – Rendimentos e parâmetros de eficiência e de cinética nos ensaios de PBM com adição de Fe₃O₄ (valores médios).

Parâmetros	1º Ciclo				Unidade
	R _C	R _{10%}	R _{50%}	R _{100%}	
	0,0 rFe ₃ O ₄ /SSV 0,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	0,1 rFe ₃ O ₄ /SSV 0,4 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	0,5 rFe ₃ O ₄ /SSV 2,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	1,0 rFe ₃ O ₄ /SSV 4,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	
PBM	154,9 ^a	199,8 ^b	191,2 ^b	184,5 ^c	NL _{CH₄} kgSSV ⁻¹
ER	82,6 ^a	88,7 ^b	89,0 ^b	88,9 ^c	%
Y ₁	0,848 ^a	1,019 ^b	0,972 ^b	0,941 ^c	gDQO _{CH₄} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,338 ^a	0,406 ^b	0,387 ^b	0,375 ^c	NL _{CH₄} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,701 ^a	0,904 ^b	0,865 ^b	0,835 ^c	gDQO _{CH₄} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,279 ^a	0,360 ^b	0,345 ^b	0,332 ^c	NL _{CH₄} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	449,1 ^a	72,6 ^b	29,6 ^c	NmL _{CH₄} gFe ₃ O ₄ ⁻¹
λ	1,37 ^a	0,08 ^b	0,73 ^c	0,73 ^c	d
k	0,081 ^a	0,081 ^a	0,079 ^a	0,078 ^a	d ⁻¹
μ	7,87 ^a	9,40 ^b	9,14 ^b	8,72 ^c	NL _{CH₄} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	80,6 ^a	82,7 ^b	81,1 ^a	79,0 ^c	%
CO ₂	19,4 ^a	17,3 ^b	18,9 ^a	21,0 ^c	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%
Parâmetros	2º Ciclo				Unidade
	R _C	R _{10%}	R _{50%}	R _{100%}	
	0,0 rFe ₃ O ₄ /SSV 0,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	0,1 rFe ₃ O ₄ /SSV 0,4 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	0,5 rFe ₃ O ₄ /SSV 2,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	1,0 rFe ₃ O ₄ /SSV 4,0 gFe ₃ O ₄ L ⁻¹	
PBM	174,3 ^a	190,7 ^b	193,2 ^b	192,3 ^b	NL _{CH₄} kgSSV ⁻¹
ER	92,2 ^a	93,5 ^b	94,3 ^b	95,5 ^d	%
Y ₁	0,827 ^a	0,892 ^b	0,896 ^b	0,881 ^b	gDQO _{CH₄} gDQO _{remov} ⁻¹
	0,329 ^a	0,355 ^b	0,357 ^b	0,351 ^b	NL _{CH₄} gDQO _{remov} ⁻¹
Y ₂	0,763 ^a	0,835 ^b	0,845 ^b	0,842 ^b	gDQO _{CH₄} gDQO _{apl} ⁻¹
	0,304 ^a	0,332 ^b	0,337 ^b	0,335 ^b	NL _{CH₄} gDQO _{apl} ⁻¹
Y _R	-	164,3 ^a	37,7 ^b	18,0 ^c	NmL _{CH₄} gFe ₃ O ₄ ⁻¹
λ	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	d
k	0,117 ^a	0,141 ^b	0,150 ^c	0,161 ^d	d ⁻¹
μ	12,57 ^a	16,66 ^b	18,38 ^{bc}	19,19 ^c	NL _{CH₄} gSSV ⁻¹ d ⁻¹
CH ₄	85,2 ^a	84,4 ^a	85,5 ^a	85,1 ^a	%
CO ₂	14,8 ^a	15,6 ^a	14,5 ^a	14,9 ^a	%
H ₂ S	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	%

Fonte: O autor (2025).

A Fe₃O₄ media a transferência de elétrons ao se aderir aos e-pili e aumentar a CE dessa proteína, dispensando a presença de citocromos do tipo C (Liu *et al.*, 2015). Além disso, Xu *et al.* (2019), defendem que a ciclagem dinâmica bioquímica entre Fe(III)(mineral)-Fe(II)-

Fe(III)(mineral) de óxidos de ferro semicondutores pode acelerar o fluxo de elétrons de bactérias sintróficas para arqueias metanogênicas, pois o potencial de oxidação-redução dos pares redox de óxidos de ferro é suficientemente baixo para conduzir a redução de CO_2 a CH_4 ($E^{0'} (\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}^{2+}) = -314 \text{ mV}$, $E^{0'} (\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}) = -287 \text{ mV}$, $E^{0'} (\text{CO}_2/\text{CH}_4) = -244 \text{ mV}$). Nesse sentido, as bactérias sintróficas oxidam compostos orgânicos e transferem elétrons extracelularmente para óxido de ferro (III) mineral que aceita os elétrons e é reduzido para óxido de ferro (II), o qual transfere elétrons para metanógenos para reduzir CO_2 a CH_4 . Nesse processo, o Fe(II) é oxidado novamente a Fe (III) mineral, assim o ciclo redox do ferro pode mediar efetivamente a TDEI. Por meio desses mecanismos de TDEI, a Fe_3O_4 acelerou a cinética metanogênica, promovendo a diminuição de λ em 94,2% em $R_{10\%}$ e em 46,5% nos reatores $R_{50\%}$ e $R_{100\%}$ e aumentando em 19,5%, 16,3% e 10,6% o μ nos reatores suplementados com 0,4, 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$. Não ocorreu impacto no k (**Tabela 11**).

É notório que o aumento da dose de Fe_3O_4 diminuiu progressivamente os valores médios dos parâmetros de rendimento de produção de CH_4 (PBM, Y_1 , Y_2 , μ) e aumentou λ em relação ao reator aditivado com 0,4 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$ (**Tabela 11**), indicando que doses mais elevadas desse aditivo podem ocasionar impactos adversos ao processo anaeróbico. Por exemplo, a concentração de CH_4 no biogás foi reduzido em 1,6% com a adição de 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$. Apesar disso, ressalta-se que todos os reatores que receberam essa nanopartícula apresentaram melhor desempenho na metanização da ARS em relação ao controle.

Em conformidade com esses resultados, outras pesquisas indicaram que doses elevadas de Fe_3O_4 impactaram negativamente a DA. Nesse contexto, Aguilar-Moreno *et al.* (2020), avaliando a aplicação de Fe_3O_4 ($4,2 \pm 0,7 \text{ nm}$) nas concentrações 20,0, 40,0 e 60,0 mg L^{-1} na DA mesofílica de cama de frango, resíduo composto por feno de capim, palha de arroz, serragem, sabugo de milho triturado, fezes, penas e restos de ração para aves, reportaram que a menor dose aplicada foi a que mais beneficiou o processo anaeróbico, aumentando o PBM em 73,9% em relação ao controle. Porém, as maiores doses diminuíram a taxa de produção de CH_4 e o PBM em relação a 20,0 $\text{mgFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, apesar de todos os reatores aditivados apresentaram melhor desempenho na DA em detrimento ao controle. Não foram apresentados ou discutidos fatores que possam ter induzido o menor desempenho das maiores doses, mas os autores afirmaram que os resultados positivos foram ocasionados devido à Fe_3O_4 agir como um material condutor e promover TDEI. Também foi sugerido que a Fe_3O_4 possa ter sido aderida à membrana celular das arqueias e atuado como uma proteína de transporte de elétrons para o meio intracelular, agindo semelhantemente à proteína metanofenazina. Altamirano-Corona *et al.* (2021), estudando o efeito da magnetita (425 μm) nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 g L^{-1}

na DA de resíduos alimentares também relataram que a menor dose utilizada apresentou melhor resposta no rendimento de CH_4 , gerando $618,3 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ gSV}^{-1}$, correspondendo a um acréscimo de 30,1% em relação ao controle que produziu $475,2 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ gSV}^{-1}$. Enquanto isso, os reatores com 0,5 e $1,0 \text{ g L}^{-1}$ apresentaram geração de 527,7 e $524,5 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ gSV}^{-1}$, respectivamente, valores inferiores ao obtido com a menor dose, mas superiores ao controle.

Os mecanismos ativados por nanopartículas condutoras que provocam efeitos adversos à DA ainda não estão bem esclarecidos na literatura, mas parecem ser dose-dependentes, ou seja, quanto maior a dose aplicada maior a probabilidade de ocorrência de impactos negativos na metanogênese. Wang *et al.* (2016), apontaram que nanopartículas metálicas podem ser adsorvidas pela membrana celular, ocasionando ruptura de membrana e, conseqüentemente, redução na produção de CH_4 . Em consonância, os estudos conduzidos por Fu *et al.* (2019), sobre o efeito de nanopartículas na metanogênese, esclareceram que uma grande quantidade de Fe_3O_4 passa através da membrana celular e entra no citoplasma, o que pode provocar desequilíbrio metabólico ou toxicidade às arqueias metanogênicas.

Contudo, esses efeitos negativos parecem ter se limitado ao primeiro ciclo, pois, no segundo ciclo, todas as doses aplicadas apresentaram impacto positivo na DA, embora tenham retornado valores estatisticamente iguais para os parâmetros de rendimento de CH_4 . O PBM passou de $174,3 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSSV}^{-1}$ para $193,1 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSSV}^{-1}$, correspondendo a um aumento de 10,8% (**Tabela 11**). Não houve diferença estatística significativa do teor de CH_4 nos reatores suplementados com Fe_3O_4 e o reator controle. Enquanto isso, o aumento da dose de Fe_3O_4 aprimorou a cinética de metanização da ARS, elevando o μ em 32,5%, 46,2% e 52,6% e o k em 20,4%, 28,1% e 37,7% nos reatores com 0,4, 2,0 e $4,0 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. Nesse ciclo, todos os tratamentos apresentaram ausência da fase de latência.

Em conformidade com esses resultados, outros estudos também demonstraram os efeitos positivos da Fe_3O_4 na cinética metanogênica, como Yin *et al.* (2017) que reportaram o aumento de μ em 12,2%, a diminuição de λ em 32,3% e a melhora na ER de matéria orgânica em 8,1% na DA de águas residuárias sintéticas em reatores anaeróbios operados em bateladas sequenciais (ASBRs) utilizando $10 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, tendo triptona como fonte de carbono. Enquanto isso, Altamirano-Corona *et al.* (2021) comunicaram a redução de λ de 6 para 4,3h e o aumento de μ de 71,9 para $84,6 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ com a adição de $0,1 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$ no tratamento de resíduos alimentares, uma concentração dez vezes inferior a aplicada por Yin *et al.* (2017).

5.3.5 Estabilidade dos Digestores Anaeróbios

A estabilidade dos digestores anaeróbios foi analisada por meio dos valores de pH, os quais são apresentados na **Tabela 17**. O pH manteve-se entre 7,5 e 8,0 em todos os reatores nos dois ciclos de tratamento da ARS, indicando que não houve acúmulo de ácidos orgânicos capaz de provocar a redução do pH a valores inadequados (iguais ou inferiores a 6,0) para o metabolismo das arqueias metanogênicas (Náthia-Neves *et al.*, 2018). Em geral, os aditivos não ocasionaram variações significativas nos valores de pH em relação ao controle, mas o FeVZ tendeu a alcalinizar os efluentes, devido à sua corrosão em meio anaeróbio consumir acidez (H^+) e disponibilizar hidroxilas (OH^-), contribuindo para elevar o pH para a faixa de 7,9 e 8,0.

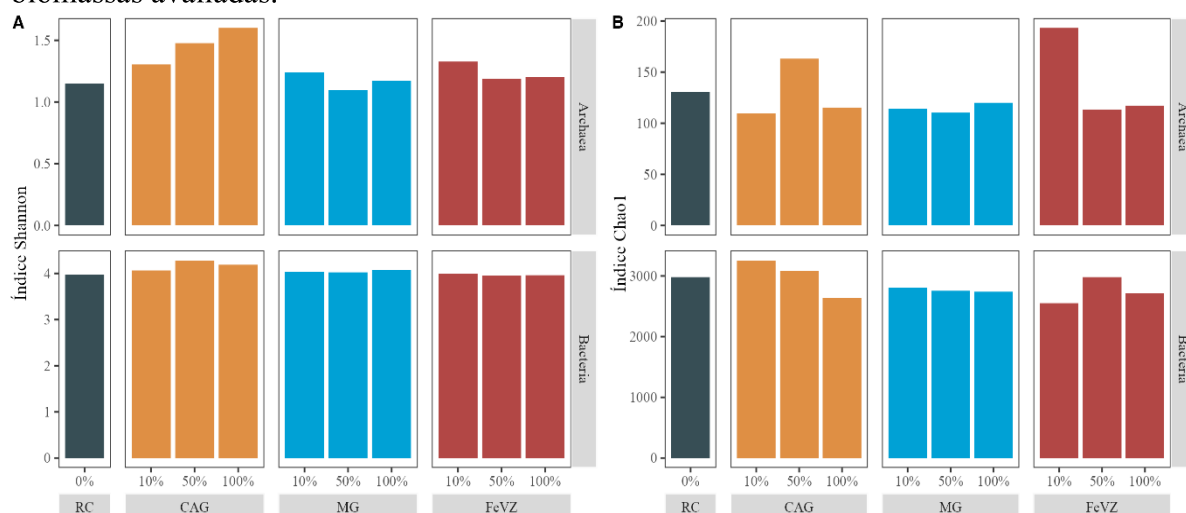
Apesar do nitrogênio amoniacal total (NAT) e de seus componentes, nitrogênio amoniacal livre (NAL) e amônio (NH_4^+), não terem sido monitorados, afirma-se que não houve toxicidade ou inibição à atividade metanogênica por acúmulo desses compostos nitrogenados, já que as concentrações médias iniciais, considerando todas as condições avaliadas no teste de PBM, foram inferiores aos valores comumente relatados como inibitórios. É comumente relatado que concentrações de NAT acima de 3.000 mg-N L^{-1} e de NAL acima de 150 mg-N L^{-1} podem inibir o processo de DA e deprimir a produção de CH_4 (Meng *et al.*, 2020).

No primeiro ciclo, as concentrações iniciais de NAT e NAL foram de $167,3 \pm 18,3\text{ mg-N L}^{-1}$ e $6,5 \pm 0,7\text{ mg-N L}^{-1}$, respectivamente, e no segundo ciclo, os valores médios iniciais de NAT foram $181,1 \pm 16,6\text{ mg-N L}^{-1}$ e de NAL foram $8,7 \pm 0,8\text{ mg-N L}^{-1}$. Logo, mesmo com a produção de nitrogênio amoniacal advindo da degradação de proteínas e aminoácidos durante o tratamento anaeróbio da ARS, as concentrações de NAT e NAL não chegariam valores inibitórios. Com base nesses resultados, conclui-se que os digestores anaeróbios funcionaram em ambiente propício à atividade metanogênica.

5.3.6 Análise das Comunidades Microbianas

Os índices de alfa-diversidade Shannon e Chao1 foram analisados para a compreensão das modificações na diversidade, uniformidade e riqueza das comunidades microbianas ocasionadas pela inserção de MCs no tratamento anaeróbio da ARS. Conforme Sun *et al.* (2021), quanto maior o índice de Shannon mais uniforme é a biomassa, e, quanto maior índice de Chao1, maior a riqueza de espécies. Um gráfico comparativo entre os valores dos índices de alfa-diversidade das dez biomassas avaliadas é apresentado na **Figura 17**.

Figura 17 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao1) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.



Fonte: O autor (2025).

A diversidade de bactérias não sofreu impacto significativo pela adição de FeVZ e de Fe₃O₄, independente da dose, mas o CAG promoveu um efeito mais expressivo do índice Shannon, indicando que os microrganismos estavam distribuídos de forma mais uniforme, sendo que o aumento da dose de CAG também influenciou positivamente no aumento da diversidade bacteriana. Enquanto isso, os três MCs tenderam a aumentar a diversificação e a uniformidade na comunidade de arqueias, sendo que o CAG teve efeito mais significativo. O maior impacto no aumento da diversidade e da uniformidade de bactérias nas biomassas que receberam CAG está relacionado a elevada capacidade desse material em reter biomassa em sua superfície (Yan *et al.*, 2018).

Em contraponto, os três MCs tenderam a diminuir a riqueza das espécies de bactérias e de arqueias, indicando uma seleção microbiológica correlacionada diretamente com os diferentes efeitos de cada aditivo sobre a digestão anaeróbia da ARS. Como exemplo, o CAG aumentou a abundância relativa de bactérias sintróficas (*Synergistota* e *Spirochaetota*), o FeVZ enriqueceu arqueias metanogênicas hidrogenotróficas - AMHs (*Methanolinea*), e a Fe₃O₄ estimulou o aumento populacional de arqueias metanogênicas acetoclásticas - AMAs (*Methanothrix*). Como exceção, o CAG tendeu a aumentar a riqueza de bactérias, mas esse efeito foi diminuído com o aumento da dose aplicada desse material. Assim, é possível concluir que o CAG, a Fe₃O₄ e o FeVZ diminuíram a riqueza e tenderam a aumentar a diversidade e uniformidade das comunidades microbianas.

Analisando a abundância de bactérias e de arqueias nas biomassas, nota-se que em comparação com o lodo de inóculo, a biomassa de controle (sem adição de MCs) apresentou

diminuição na abundância relativa de bactérias (73,4% no inóculo para 53,9% no controle) e, consequentemente, aumento na abundância de arqueias (26,6% no inóculo para 46,1% no controle), indicando aumento da atividade metanogênica. O CAG tendeu a aumentar a abundância relativa de bactérias, passando de 53,9% no controle para 55,8%, 50,5% e 58,1% nas doses 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L⁻¹. Enquanto isso, as doses mais elevadas de FeVZ aumentaram a abundância relativa de arqueias, passando de 46,1% no controle para 45,4%, 49,4% e 48,1% nas doses 0,4, 2,0 e 4,0 gFeVZ L⁻¹. Em oposto, a Fe₃O₄ promoveu, progressivamente, a diminuição da abundância relativa de arqueias (46,1% no controle para 47,7%, 43,8% e 42,6% nas doses 0,4, 2,0 e 4,0 gFe₃O₄ L⁻¹).

Ademais, as comunidades microbianas presentes na biomassa dos reatores de controle e nas biomassas que receberam aditivos apresentaram demasiada semelhança quanto à classificação taxonômica, sendo que as maiores alterações parecem ter sido provocadas pela especialização microbiológica à degradação do substrato (a comunidade microbiana do lodo de inóculo é consideravelmente mais distinta das que realizaram o tratamento da ARS com ou sem aditivo) e não pela adição de MCs.

5.3.6.1 Estrutura da Comunidade Bacteriana

Comparando a comunidade bacteriana do inóculo (lodo do tratamento de água residuária de cervejaria - ARC) e a do lodo do reator controle (lodo do tratamento de ARS), observa-se que os filos predominantes após o tratamento da ARS foram *Chloroflexi*, *Actinobacteriota*, *Nitrospirota*, *Firmicutes*, *Synergistota* e *Patescibacteria* e os filos que tiveram abundância relativa reduzida foram *Bacteroidota* (14,41% no inóculo e 2,64% no controle), *Proteobacteria* (8,91% no inóculo e 0,66% no controle) e *Caldatribacteriota* (2,64% no inóculo e 0,31% no controle) (**Figura 18A**). Essas modificações na microbiota estão em conformidade com a adaptação microbiológica à degradação do substrato, enquanto a ARC é um substrato rico em PS e PN dissolvidas (matéria orgânica solúvel), a ARS tem elevada concentração de matéria orgânica particulada advinda de resíduos de ração e tem elevados teores de PS, PN e lipídeos provenientes das fezes e urina dos suínos (Maria *et al.*, 2023).

A ARC é oriunda das operações envolvidas na cadeia de produção da cerveja, como filtração, descargas de equipamentos, lavagem de contêineres, limpeza de tanques, cubas, tubulações e pisos (MORAIS *et al.*, 2021a). A ARC contém grande quantidade de matéria orgânica solúvel, principalmente polissacarídeos, amido solúvel, proteínas, aminoácidos, etanol, ácidos graxos voláteis (AGVs), e substâncias suspensas, como lipídios, resíduos de

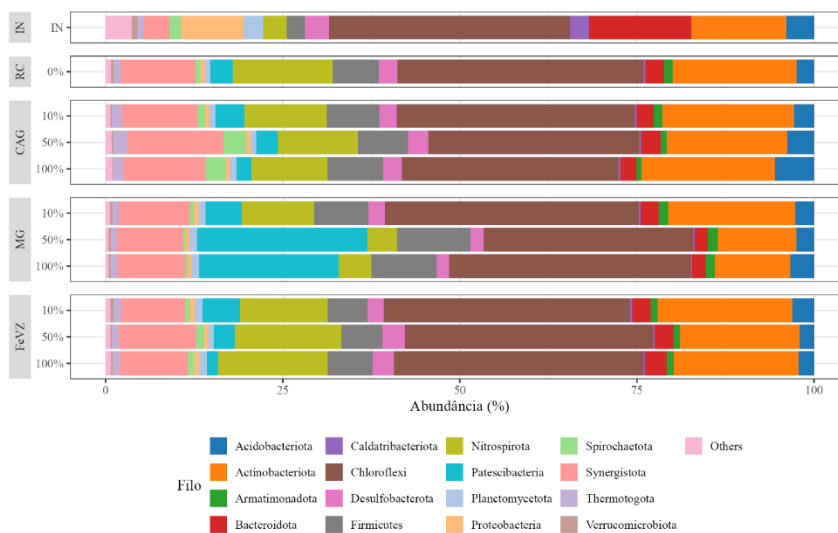
levedura, lúpulo e malte (Su *et al.*, 2023). Além disso, a ARC pode conter produtos de limpeza e desinfecção, que possuem nitrogênio e fósforo como seus constituintes (Simate *et al.*, 2011). Dependendo da matéria-prima, da quantidade de água utilizada para limpeza das instalações e dos equipamentos da cervejaria e dos agentes de limpeza utilizados, é gerado um efluente de cervejaria com as seguintes características: demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) entre 300 e 3.500 mg L⁻¹, demanda química de oxigênio (DQO) entre 800 e 7.000 mg L⁻¹, nitrogênio amoniacal entre 50 e 500 mg L⁻¹ e fósforo total entre 10 e 50 mg L⁻¹ (Soliman *et al.*, 2024). Enquanto isso, a ARS é caracterizada por possuir concentrações de matéria orgânica e de nutrientes muito superiores à ARC, podendo conter: demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) entre 6.500 e 7.200 mg L⁻¹, demanda química de oxigênio (DQO) entre 5.000 e 30.000 mg L⁻¹, nitrogênio total entre 800 e 6.000 mg L⁻¹, nitrogênio amoniacal entre 500 e 2.200 mg L⁻¹ e fósforo total entre 100 e 1.400 mg L⁻¹ (Ding *et al.*, 2017; Lourinho *et al.*, 2020; L. Shi *et al.*, 2024).

Em consonância com as características físico-químicas da ARC, é esperado que um lodo adaptado ao tratamento desse efluente seja abundante em bactérias dos filos *Bacteroidota*, *Proteobacteria* e *Caldatibacteriota*, as quais são fundamentais para a hidrólise e fermentação anaeróbia de polissacarídeos, como glicose, celulose, hemicelulose, resultando em AGVs de cadeia curta, principalmente acetato (CH₃COO⁻) e propionato, H₂ e CO₂ (Lv *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2024). Enquanto isso, a digestão anaeróbia da ARS requer uma atividade hidrolítica mais abrangente capaz de promover a degradação de polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Isso propiciou a redução da abundância relativa de bactérias dos filos *Bacteroidota*, *Proteobacteria* e *Caldatibacteriota*, o enriquecimento dos filos *Firmicutes* (2,57% no inóculo e 6,46% no controle), *Actinobacteriota* (13,48% no inóculo e 17,51% no controle) e *Synergistota* (3,71% no inóculo e 10,56% no controle), e a manutenção de uma elevada abundância relativa de *Chloroflexi* (correspondeu a pelo menos 30% da população total de bactérias em todas as biomassas avaliadas).

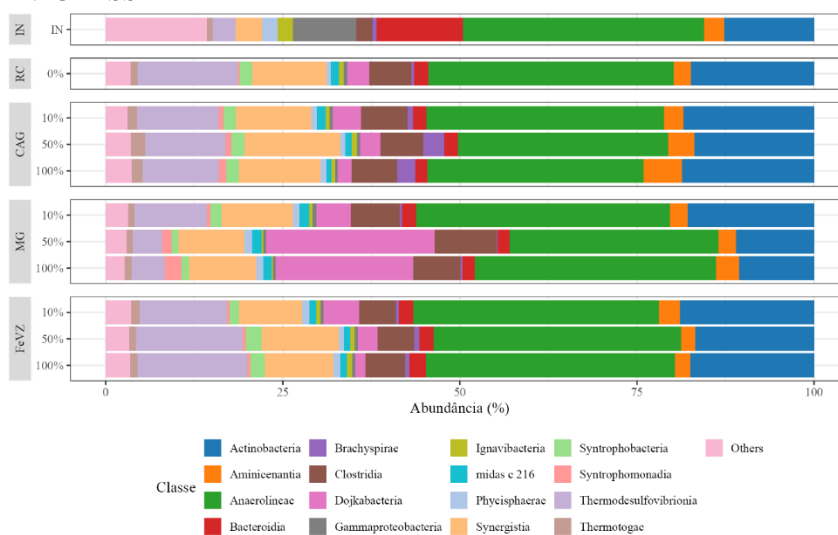
Conforme Xiao *et al.* (2021), o filo *Firmicutes* podem produzir uma variedade de enzimas relacionadas à degradação de produtos orgânicos complexos e são as bactérias dominantes na acidificação hidrolítica, geralmente aparecendo no sistema DA com alto teor de amônia. Com efeito, o aumento da abundância relativa desse filo indica adaptação microbiológica para tornar os processos de hidrólise e de acidificação mais eficientes. Isso é condizente com o tratamento anaeróbio da ARS, a qual possui elevado teor de matéria orgânica particulada, sendo rica em proteínas e lipídios.

Figura 18 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana ao nível de Filo, Classe e Gênero.

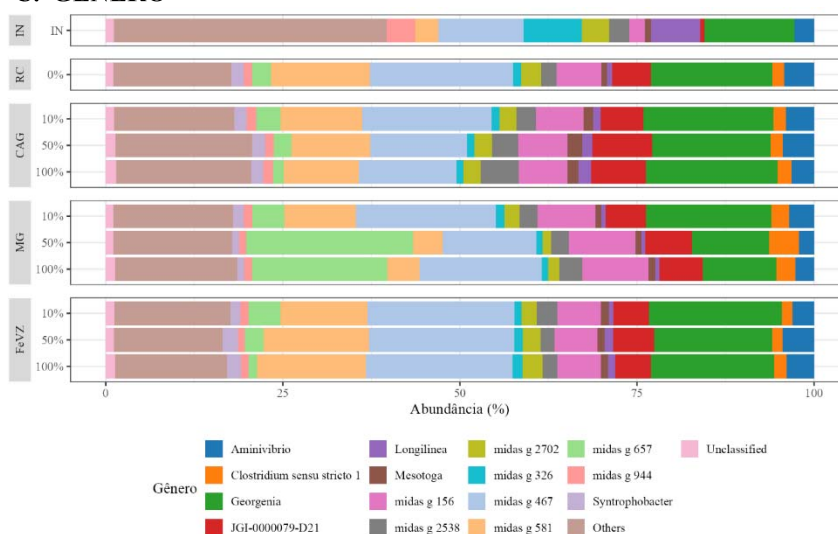
A. FILO



B. CLASSE



C. GÊNERO



Fonte: O autor (2025).

Nesse contexto, as características da ARC e da ARS também justificam a elevada abundância relativa do filo *Chloroflexi*. As bactérias pertencentes a esse filo são hidrolíticas-fermentativas e atuam na degradação de diversas proteínas e carboidratos. Além disso, promovem a granulação do lodo ao fornecerem uma estrutura filamentosa na qual os flocos são formados (Wang *et al.*, 2022). Wang *et al.* (2019), avaliando a DA de sacarose e etanol com suplementação de Fe_3O_4 , concluíram que *Chloroflexi* poderia atuar como parceiro doador de elétrons na TDEI. A eletroatividade desse filo foi sugerida inicialmente por Blanchet *et al.* (2014) que observaram que essas bactérias eram dominantes em biofilmes eletroativos de reatores eletroquímicos alimentados com CH_3COO^- . Os MCs não impactaram significativamente no crescimento desses microrganismos.

Acidobacteriota foi enriquecido na presença de CAG, em que, quanto maior a dose desse aditivo maior foi a abundância relativa desse filo, resultando no aumento de 2,47% no controle para 2,81%, 3,79% e 5,50% nos reatores com 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L^{-1} . A classe *Aminicenantia* do filo *Acidobacteriota* é capaz de fermentar carboidratos e proteínas e pode estabelecer interações sintróficas com *Methanosaeta* (*Methanothrix*) e *Methanosarcina* ao fornecer produtos oxidados, como H_2 e CH_3COO^- , para a geração de CH_4 (Xiang *et al.*, 2024, 2023). Como a *Methanosarcina* não foi observada nas biomassas avaliadas, é provável que as relações sintróficas dessas bactérias tenham ocorrido com as arqueias *Methanothrix*, a qual foi a arqueia mais abundante e predominante em todos as culturas.

O CAG foi o aditivo que mais enriqueceu bactérias sintróficas atuantes nos processos de acidogênese, acetogênese, oxidação sintrófica de acetato e oxidação sintrófica de propionato, muito provavelmente devido sua capacidade de adsorção de AGVs e posterior disponibilização para as bactérias sintróficas. Nesse contexto, analisou-se as abundâncias relativas das classes *Synergistia*, *Spirochaetia*, *Syntrophia*, *Syntrophobacteria*, *Syntrophorhabdia* e *Syntrophomonadia* (**Figura 18B**). A soma das abundâncias relativas dessas classes taxonômicas era de 13,4% no controle e passou para 13,8%, 17,0% e 15,0% nas culturas que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L^{-1} .

Synergistia foi mais enriquecida na presença de CAG, tendo sua abundância relativa aumentada de 10,6% no controle para 10,7%, 13,5% e 11,5% nas biomassas que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L^{-1} , respectivamente. De acordo com Hu *et al.* (2019), as bactérias do filo *Synergistota* são bactérias sintróficas capazes de converter aminoácidos e ácidos graxos voláteis de cadeia curta e longa em H_2 , CO_2 e CH_3COO^- . Também são bactérias sintróficas oxidantes de acetato (BSOA) que convertem esse ácido orgânico em H_2 e CO_2 , apoiando a metanogênese hidrogenotrófica (MH). As bactérias da classe *Spirochaetia* também

são BSOA e podem atuar na degradação de carboidratos, como glicose, galactose e sacarose, em AGVs de cadeia curta (ZHU *et al.*, 2023b). O CAG foi o único material a enriquecer, mesmo que discretamente, bactérias dessa classe taxonômica.

Já a Fe_3O_4 enriqueceu a classe taxonômica *Syntrophomonadia*, passando de 0,3% no controle para 0,5%, 1,3% e 2,4% nas biomassas que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. Conforme Wang *et al.* (2021), as bactérias pertencentes à classe *Syntrophomonadia* (filo *Firmicutes*) são microrganismos sintróficos que podem degradar AGVs em CH_3COO^- e H_2 . Essas bactérias possuem genes de síntese de e-pili e podem estabelecer TDEI com *Methanosarcina*. Além disso, harmonizam suas atividades com AMHs (*Methanobacterium* e *Methanofollis*) por meio de TIEI (Castilho *et al.*, 2022). Segundo Yuan *et al.* (2020), óxidos de ferro, principalmente Fe_3O_4 , podem enriquecer *Syntrophomonas* e arqueias parceiras de TDEI e TIEI, como *Methanothrix* e *Methanobacterium*, respectivamente. Outra classe que teve abundância aumentada pela Fe_3O_4 , mesmo que discretamente, foi a *Syntrophia*. Essas bactérias também participam de interações sintróficas com metanogênicos hidrogenotróficos, garantindo uma utilização eficiente de H_2 durante a fermentação, sendo extremamente importantes e correlacionadas à eficiência nos processos de transferência de elétrons, pois possuem genes que codificam e-pili e são altamente prováveis de estarem envolvidas em TDEI (Hou *et al.*, 2023b; Yajie Li *et al.*, 2024).

Enquanto isso, as maiores doses de FeVZ aumentaram de forma discreta a abundância relativa das classes *Syntrophobacteria* (de 1,7% no controle para 2,2% em $\text{R}_{50\%}$ e 2,0% em $\text{R}_{100\%}$), *Syntrophorhabdia* (de 0,27% no controle para 0,29% em $\text{R}_{50\%}$ e 0,34% em $\text{R}_{100\%}$) e *Syntrophomonadia* (de 0,28% no controle para 0,45% em $\text{R}_{50\%}$ e 0,47% em $\text{R}_{100\%}$). As duas primeiras classes são de bactérias sintróficas oxidantes de propionato (BSOP), pertencentes ao filo *Desulfobacterota*, que atuam de forma sintrófica com as arqueias metanogênicas (*Methanothrix*, *Methanobacterium*) ou com bactérias redutoras de sulfato (BRS) na degradação de compostos orgânicos em H_2 e CH_3COO^- (Ariesyady *et al.*, 2007). A atividade dessas bactérias depende estritamente da presença de microrganismos consumidores desses produtos devido à necessidade de regulação da pressão parcial de H_2 (Franchi *et al.*, 2018). O enriquecimento dessas duas classes taxonômicas está consoante à capacidade do FeVZ em aumentar a atividades de enzimas acidogênicas e metanogênicas. A degradação sintrófica do propionato em CH_3COO^- sugere um ambiente anaeróbico com baixa pressão parcial de H_2 ($< 10^{-4}$ atm) e indica maior disponibilização de substrato para as AMAs, elevando, assim, a taxa de utilização do substrato e a produção de CH_4 (Shi *et al.*, 2021). Liu *et al.* (2012), reportaram que o FeVZ aumentou a abundância relativa de bactérias sintróficas oxidantes de AGVs,

principalmente butirato (*Syntrophomonas* spp.) e de propionato (*Syntrophorhabdia wolinii* e *Syntrophorhabdia fumaroxidans*), em um reator acidogênico tratando sacarose e justificaram esse resultado com a ativação de enzimas acidogênicas promovidas pelo FeVZ.

A Fe_3O_4 enriqueceu expressivamente o filo *Patescibacteria*, o qual teve abundância relativa aumentada de 3,2% na biomassa controle para 5,1%, 24,0% e 19,7% nas culturas que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. O superfilo *Patescibacteria* ou também conhecido por Filo Candidato de Radiação (FCR) compreende microrganismos filogeneticamente e metabolicamente diversificados, caracterizados por seu tamanho ultrapequeno. Estes são constituídos por bactérias auxotróficas, ou seja, dependem de nutrientes produzidos por outros microrganismos, e que têm capacidade metabólica limitada, dependendo exclusivamente da fermentação (fosforilação em nível de substrato) para produção de energia, e possuindo estilo de vida simbiótico (relações potencialmente comensais, mutualísticas e parasitárias) com outros microrganismos (X. Liu *et al.*, 2024).

Estudos comprovaram o parasitismo de cepas do filo *Patescibacteria* (linhagem de nível familiar *Ca.Yanofskybacteria* pertencente à classe taxonômica *Parcubacteria*) em *Methanothrix*, mas não avaliaram o impacto dessa interação microbiológica sobre a metanogênese (KURODA *et al.*, 2022). Nesse contexto, observou-se uma correlação positiva de enriquecimento de *Patescibacteria* e *Methanothrix* com o aumento da dosagem de Fe_3O_4 , mas não foram obtidos resultados que suportem a indicação de relação simbiótica ou parasitária por esses microrganismos, apesar do um impacto negativo na metanogênese ocasionado pelas maiores doses desse aditivo no primeiro ciclo de tratamento da ARS. Além disso, a abundância relativa de bactérias pertencentes à classe *Parcubacteria* foi irrisória em todas as culturas avaliadas. Em contraponto, os microrganismos da classe *Dojkabacteria*, pertencentes ao filo *Patescibacteria*, foram os mais enriquecidos pela Fe_3O_4 . Conforme Jiang *et al.* (2022) e Li *et al.* (2021), essas bactérias estão associadas à degradação de carboidratos, sendo tolerantes às condições ambientais adversas e são enriquecidas em meios ricos em ferro, sugerindo que esses microrganismos atuam em alguma etapa do ciclo redox do ferro.

Thermodesulfovibrionia foi enriquecida na presença de FeVZ, aumentando de abundância de 14,1% no controle para 15,5% na biomassa que recebeu 4,0 gFeVZ L^{-1} . Essas bactérias pertencem ao filo *Nitrospirota* e são BRS que codificam vias respiratórias completas para atuar na redução dissimilatória de nitrato (X. Chen *et al.*, 2022; Umezawa *et al.*, 2021). Conforme Zhao *et al.* (2023), a *Thermodesulfovibrionia* pode utilizar H_2 e carbono orgânico, como lactato, piruvato e formiato, para reduzir sulfato (SO_4^{2-}) a sulfeto (S^{2-}), que poderia combinar-se com metais e formar sulfetos metálicos, como sulfeto de cádmio (CdS) e sulfeto

de ferro(II) (FeS), promovendo a remoção de metais de solos e de águas por meio de precipitação. Esse mecanismo pode ter contribuído para que nos reatores suplementados com FeVZ não fosse identificado a presença de H₂S no biogás, sendo que no biogás dos demais reatores foram obtidos traços inquantificáveis de H₂S.

Os gêneros mais abundantes em todas as biomassas foram: *Mesotoga*, *Longilinea*, *JGI-0000079-D21*, *Clostridium sensu stricto 1*, *Georgenia* (**Figura 18C**). O CAG aumentou a abundância relativa do gênero *Mesotoga* de 0,8% no controle para 1,3%, 2,1% e 1,5% em 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L⁻¹, respectivamente. Essas bactérias pertencem ao filo *Thermotogota* e são microrganismos fermentativos que podem degradar compostos orgânicos complexos, principalmente carboidratos, para produzir CH₃COO⁻, S²⁻ e CO₂ (Lee *et al.*, 2017). Conforme Li *et al.* (2023), *Mesotoga* são BSOA que oxidam CH₃COO⁻ em CO₂ e atuam em parceria com *Methanobacterium* no processo de TIEI via H₂ como mediador redox, apoiando a produção de CH₄ por meio de MH.

De acordo com Zhang *et al.* (2023), *Longilinea* pertence ao filo *Chloroflexi* e é uma bactéria hidrolítica filamentosa que pode converter carboidratos em AGVs e H₂, sendo relacionada ao estabelecimento de sintrofia com metanogênicos hidrogenotróficos. Yang *et al.* (2023), investigando em efluentes da indústria farmacêutica o efeito de óxido de ferro lantânio (LaFeO₃) na remoção de carbamazepina, um antidepressivo de difícil biodegradação em meio aquoso, reportaram que *Longilinea* agiu como um microrganismo exoeletrogênico, oxidando matéria orgânica em CH₃COO⁻, H₂ e CO₂ enquanto gerava elétrons, que fluíam via LaFeO₃ para *Methanothrix*, a qual aceitava os elétrons e usava os produtos oxidados para formar CH₄. Xia *et al.* (2016) apontaram que *Longilinea* contém gene pilA altamente expresso que poderia regular o crescimento de e-pili, os quais formaram nanofios condutores para estabelecer TDEI com metanogênicos sem assistência externa. Portanto, esse gênero de bactérias deve ter atuado fortemente em processos de transferência de elétrons. O CAG enriqueceu o gênero *Longilinea* de 0,7% no controle para 1,1%, 1,4% e 1,8% em 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L⁻¹, respectivamente.

JGI-0000079-D21 é um gênero pertencente a classe *Synergistia* e teve abundância relativa aumentada de 5,4% no controle para 6,1%, 8,4% e 7,8% em 0,4, 2,0 e 4,0 gCAG L⁻¹, respectivamente. Essas bactérias são capazes de converter AGVs em CH₃COO⁻ e H₂, estando relacionado à hidrólise e acidificação e tem potencial para degradar compostos inibitórios, como fenóis e compostos N-heterocíclicos (LI *et al.*, 2022; ZHU *et al.*, 2023a). Estudos indicam que essas bactérias são eletroativas e seu enriquecimento foi obtido em sistemas eletroquímicos, indicando seu potencial para transferência de elétrons extracelulares (Qi *et al.*, 2022). Além

disso, esses microrganismos foram favorecidos na presença de pano de carbono (Zeng *et al.*, 2024) e de CAG (Zhao *et al.*, 2017), sugerindo participação de TDEI via MCs carbonáceos.

A Fe_3O_4 foi o aditivo que mais enriqueceu o gênero *Clostridium sensu stricto 1* (filo *Firmicutes*), o qual teve abundância relativa aumentada de 1,6% no controle para 2,5%, 4,2% e 2,7% nas biomassas aditivadas com 0,4, 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, respectivamente (**Figura 18C**). Consoante Feng *et al.* (2023), o gênero *Clostridium spp.* estabelece relação sintrófica com metanogênicos para facilitar a produção de CH_4 . Além disso, *Clostridium spp.* são bactérias redutoras de ferro (BRF) que são enriquecidas na presença de Fe_3O_4 , as quais atuam na hidrólise de substratos e na transferência de elétrons extracelulares para os óxidos insolúveis de Fe^{3+} por e-pili, promovendo a redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} (Peng *et al.*, 2018). Para o FeVZ, o único gênero enriquecido foi o *midas g 581*, pertencente à classe *Thermodesulfovibrionia*.

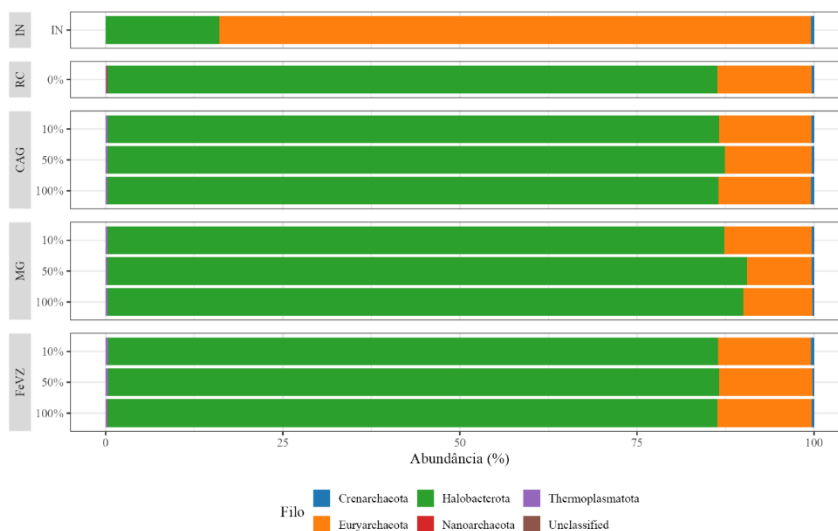
Outro gênero taxonômico importante nas biomassas avaliadas foi *Georgenia*, correspondendo a pelo menos 10% do total de bactérias nas amostras analisadas. Essas bactérias pertencentes ao filo *Actinobacteriota* são responsáveis pela degradação de proteínas (Liang *et al.*, 2023). Wang *et al.* (2024), avaliando a DA de chorume de aterro sanitário, reportaram que o gênero *Georgenia* tem elevada tolerância a ambientes adversos e desempenha um papel fundamental na hidrólise de matéria orgânica, facilitando, assim, a degradação de compostos orgânicos tóxicos presentes em chorume de aterros sanitários. Além disso, os autores observaram uma correlação positiva significativa entre *Georgenia* e *Methanothrix*, indicando que a *Georgenia* não apenas fornece substratos, mas também criou um ambiente favorável para metanogênicos e, conseqüentemente, promoveu uma melhora na taxa de DA e aumentou a estabilidade geral do reator. Observando a **Figura 18C**, conclui-se que o enriquecimento de *Georgenia* não parece ter relação com a aplicação dos MCs, mas, sim, devido à adaptação microbiológica para degradação do substrato.

5.3.6.2 Estrutura da Comunidade Arqueal

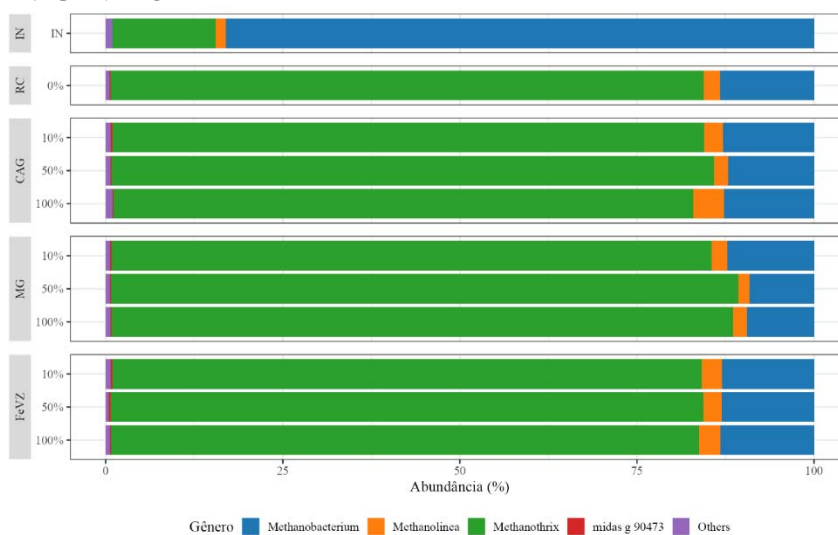
Com o tratamento da ARS ocorreu a diminuição da abundância relativa de arqueias do filo *Euryarchaeota* e o aumento de arqueias pertencentes ao filo *Halobacterota*, principalmente devido ao enriquecimento do gênero *Methanothrix*, o qual pertence à classe *Methanosarcinia* (**Figura 19**). *Methanothrix* são arqueias acetoclásticas que formam CH_4 pela descarboxilação de CH_3COO^- , mas podem realizar redução de CO_2 a CH_4 quando atuam como microrganismos endoeletrogênicos, recebendo elétrons de bactérias exoeletrogênicas, no processo de TDEI (Feng *et al.*, 2023).

Figura 19 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal ao nível de Filo, Gênero e Espécie.

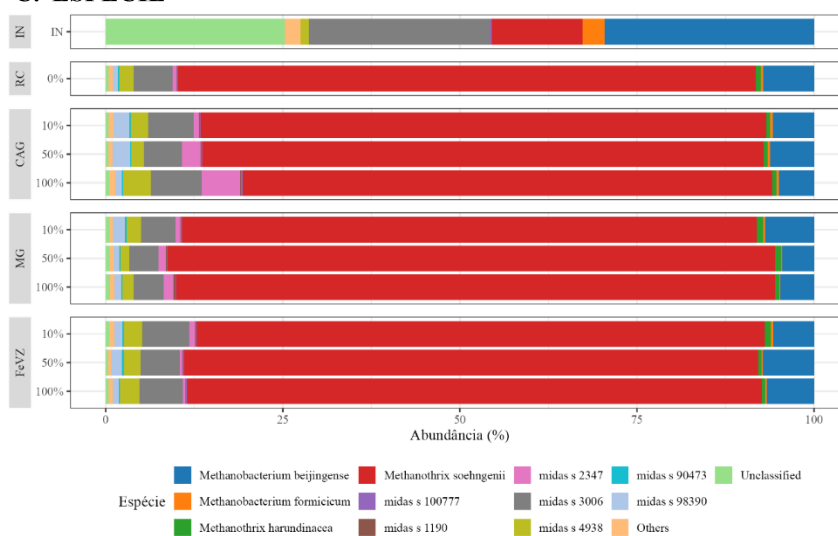
A. FILO



B. GÊNERO



C. ESPÉCIE



Fonte: O autor (2025).

Apesar de todas as culturas apresentarem elevada abundância do gênero *Methanothrix*, correspondendo a pelo menos 82% da população total de arqueias, observa-se que a Fe_3O_4 promoveu o enriquecimento desses metanogênicos, aumentando a abundância relativa de 83,7% no controle para 84,7%, 88,6% e 87,5% nas biomassas que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 $\text{gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. A espécie taxonômica *Methanothrix soehngenii* foi dominante nas biomassas avaliadas. Segundo Ma *et al.* (2021), a Fe_3O_4 aumenta a abundância de bactérias acetogênicas e, de forma correlacionada, enriquece arqueias *Methanothrix*, as quais podem aceitar elétrons diretamente de MCs ou de bactérias que respiram metais. Como discutido anteriormente, existe correlação positiva entre o enriquecimento de *Methanothrix* e de bactérias do filo *Patescibacteria*, sendo necessário o desenvolvimento de estudos visando avaliar os impactos dessa relação simbiótica sobre a DA de resíduos orgânicos, principalmente no que tange à produção de CH_4 .

Logo, as arqueias *Methanothrix* devem ter participado ativamente de mecanismos de transferência de elétrons via aditivos condutores. Com base na análise de abundância taxonômica e do efeito dos aditivos nas biomassas avaliadas sugere-se que as bactérias sintróficas das classes taxonômicas *Synergistia*, *Spirochaetia*, *Syntrophobacteria*, *Syntrophorhabdia*, *Syntrophomonadia*, *Syntrophia*, *Clostridia* e as pertencentes aos gêneros *Clostridium sensu stricto 1*, *Mesotoga*, *Longilinea* e *JGI-0000079-D21* são os potenciais parceiros de TDEI das arqueias *Methanothrix soehngenii*.

O FeVZ promoveu o aumento, embora discreto, da abundância relativa das arqueias do gênero *Methanolinea*, passando de 2,3% no controle para 2,8%, 2,6% e 3,0% nas biomassas aditivadas com 0,4, 2,0 e 4,0 gFeVZ L^{-1} , respectivamente (**Figura 19B**). Segundo Feng *et al.* (2023), o FeVZ em digestores anaeróbios está relacionado ao enriquecimento de *Methanobacterium*, *Methanolinea* e *Methanothrix*. Isso ocorre devido a capacidade do FeVZ de liberar H_2 quando oxidado em meio anaeróbico. Esse efeito é amplamente relatado na literatura técnica e parece ser independente da dose de FeVZ adicionada. Entretanto, quando as doses de FeVZ aplicadas são elevadas (ainda não há consenso sobre a concentração ou razão de massa entre FeVZ e SSV), ocorre o enriquecimento de bactérias homoacetogênicas da família *Clostridiaceae*. Tal aspecto parece ser uma estratégia inteligente para manter a pressão parcial de H_2 adequada enquanto há o fornecimento de substrato (CH_3COO^-) para AMAs, em destaque a *Methanothrix*, aumentando a utilização do substrato e, conseqüentemente, as taxas de produção de CH_4 (D. Dong *et al.*, 2019). Logo, devido às baixas concentrações de FeVZ empregadas, não foram observados maior enriquecimento de bactérias homoacetogênicas e nem de arqueias acetoclásticas nos reatores que receberam FeVZ em comparação aos outros

MCs avaliados. Contudo, o FeVZ deve ter mediado TDEI entre *Methanothrix* e bactérias fermentativas por sua superfície condutiva.

Conforme Feng *et al.* (2023), os gêneros de arqueias mais abundantes em reatores suplementados com CAG são *Methanothrix*, *Methanosarcina* e *Methanolinea*. Todavia, não foi observada nenhuma tendência de aumento ou diminuição na abundância relativa dos principais gêneros de arqueias pela influência do CAG, independentemente da dose avaliada. As principais espécies taxonômicas identificadas foram *Methanobacterium beijingense*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanothrix harundinacea* e *Methanothrix soehngenii*, sendo que esta última foi a mais abundante em todos os reatores (**Figura 19C**).

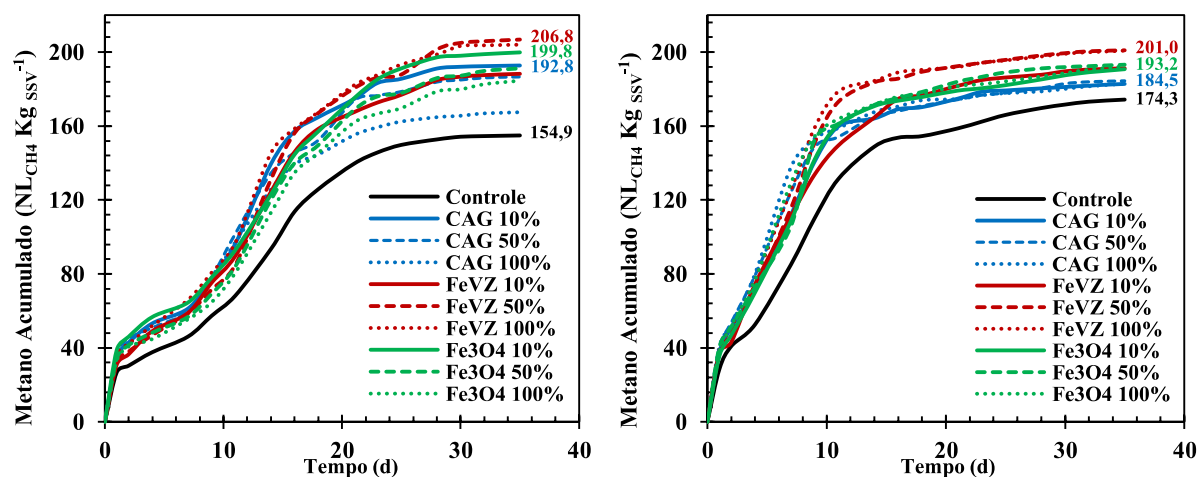
5.3.7 Análise Comparativa do Efeito dos Materiais Condutores

O efeito positivo dos aditivos sobre a cinética de metanização da ARS e sobre a produção de CH₄ pode ser visualizado na **Figura 20**, na qual são apresentadas as CCMs geradas em todas as condições do teste de PBM, e na **Tabela 12**, onde consta um resumo do impacto dos MCs nas principais variáveis-resposta avaliadas, em que as faixas apresentadas se referem ao efeito da aplicação das três doses de MCs em relação ao controle. Os valores de λ para o segundo ciclo foram subtraídos da **Tabela 12**, pois, em todas as configurações experimentais esse parâmetro foi igual a zero, indicando a ausência da fase *lag*. Na **Figura 20**, foram destacados os maiores valores de PBM gerados a partir de cada aditivo, sendo possível observar que a maior dose aplicada não foi essencialmente a que gerou maior volume de CH₄.

Figura 20 – Curvas cumulativas de metano do teste PBM.

12A. CCMs do 1º Ciclo

12B. CCMs do 2º Ciclo



Fonte: O autor (2025).

Tabela 12 – Impacto dos aditivos nas principais variáveis-resposta do teste de PBM.

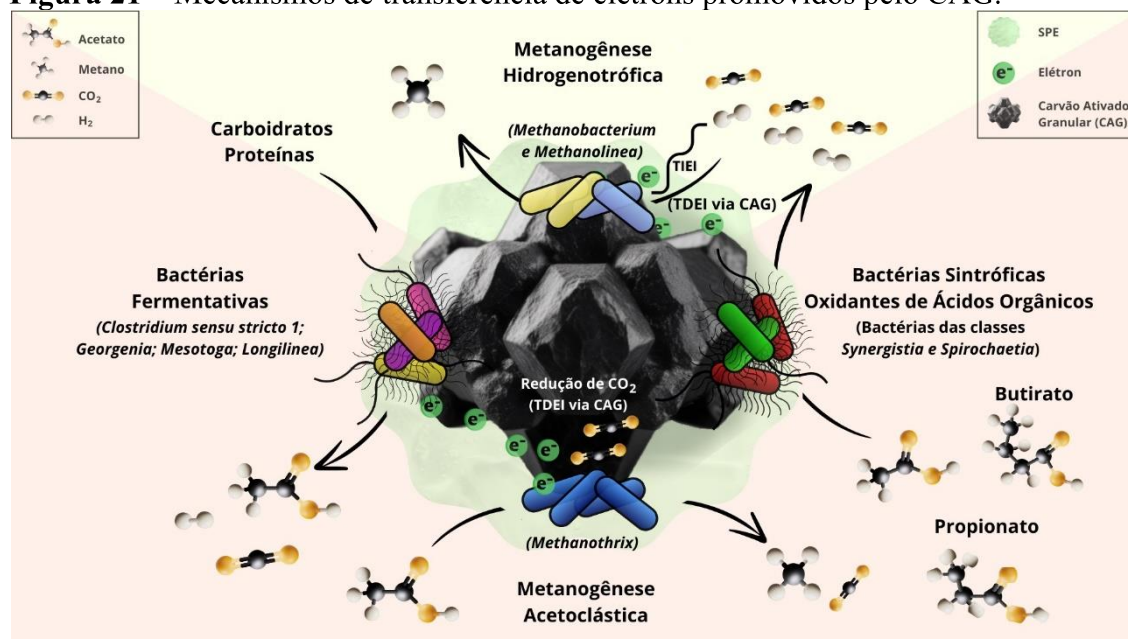
1º Ciclo de Tratamento				
Variável-Resposta	Valores	CAG	FeVZ	Fe ₃ O ₄
PBM	154,9 NL _{CH₄} KgSSV ⁻¹	+ 8,1% a +24,4%	+21,5% a +33,5%	+19,1% a +29,0%
μ	7,9 NL _{CH₄} KgSSV ⁻¹ d ⁻¹	+16,0% a +31,1%	+22,6% a +33,0%	+10,9% a +19,5%
k	0,081 d ⁻¹	+10,6% a +19,5%	-3,9% a +5,4%	-3,8% a +1,1%
λ	1,37 d	-48,5% a -100%	-38,6% a -51,3%	-46,5% a -94,2%
CH ₄	81,0 %	+2,0% a +4,2%	+3,1% a +3,8%	-1,6% a +2,6%
2º Ciclo de Tratamento				
Variável-Resposta	Valores	CAG	FeVZ	Fe ₃ O ₄
PBM	174,3 NL _{CH₄} KgSSV ⁻¹	+4,9% a +5,8%	+9,8% a +15,2%	+9,4% a +10,8%
μ	12,6 NL _{CH₄} KgSSV ⁻¹ d ⁻¹	+37,6% a +63,6%	+26,7% a +55,6%	+32,5% a +52,6%
k	0,120 d ⁻¹	+31,7% a +52,9%	+16,2% a +34,8%	+20,4% a +37,7%
CH ₄	85,2 %	+0,03% a +1,9%	+1,3% a +13,5%	-0,3% a +0,98%

Fonte: O autor (2025).

Comparando o efeito dos MCs, conclui-se que o CAG foi o material que mais beneficiou a cinética de produção de CH₄, diminuindo expressivamente o tempo de fase *lag* desde o primeiro ciclo de tratamento, até mesmo indicando ausência dessa etapa nas biomassas que receberam 4 gCAG L⁻¹ (**Tabela 9**). Isso ocorreu devido à capacidade do CAG em reter biomassa, adsorver matéria orgânica e compostos inibitórios e estimular TDEI. Considerando o segundo ciclo de tratamento, esse material foi o que mais aumentou o μ e o k, elevando esses parâmetros em 63,6% e 52,9%, respectivamente, em relação ao controle (**Tabela 12**). No primeiro ciclo, quanto maior a dose de CAG menor o PBM, devido à adsorção de matéria orgânica, enquanto para o segundo ciclo, devido à menor capacidade de adsorção do CAG, não houve diferença estatística significativa entre as doses avaliadas para os valores médios de PBM, embora todos os valores tenham sido superiores ao controle (**Figura 20 e Tabela 12**). A maior dose (1,0 rCAG/SSV) foi a ideal para otimizar a cinética de metanização da ARS.

O CAG enriqueceu BSOA, como *Mesotoga*, *Longilinea*, *JGI-0000079-D21* e bactérias das classes taxonômicas *Synergistia* e *Spirochaetia*, aumentando a quantidade de substrato disponível para arqueias hidrogenotróficas. A otimização da cinética metanogênica e o enriquecimento de BSOA indicaram o fortalecimento de sintrofia microbiana e o estabelecimento de TDEI. Os mecanismos de transferência de elétrons promovidos pelo CAG e os microrganismos que foram enriquecidos por esse aditivo são ilustrados na **Figura 21**.

Figura 21 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pelo CAG.

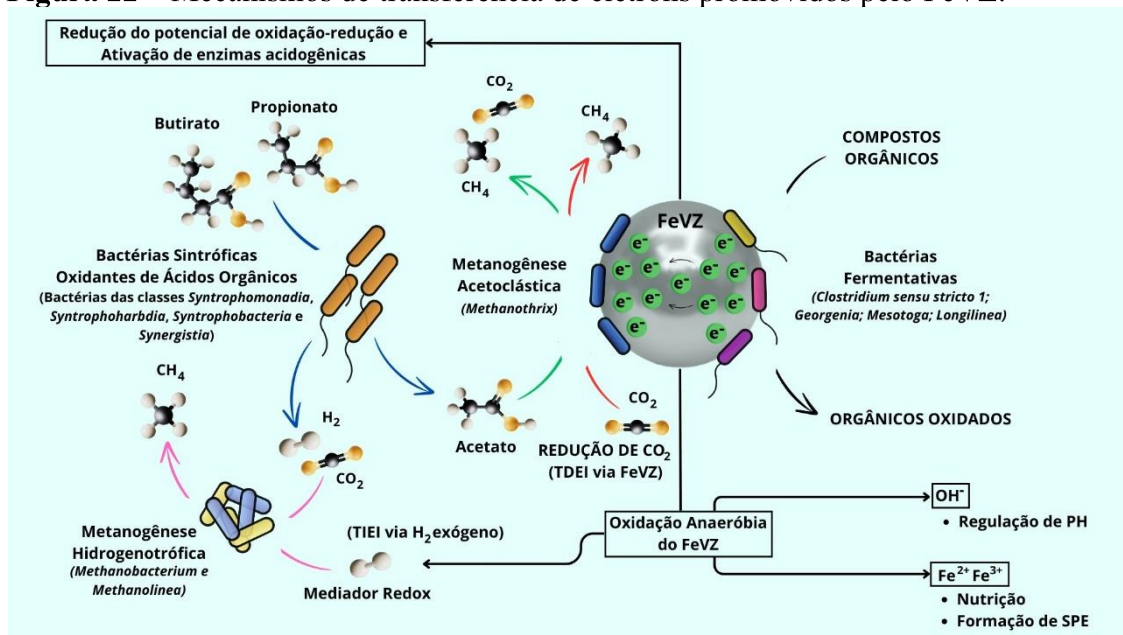


Fonte: O autor (2025).

O FeVZ foi o material que mais elevou o PBM, aumentando esse parâmetro em 33,5% e em 15,2% em relação ao controle no primeiro e no segundo ciclo de tratamento, respectivamente (**Tabela 12**). Também promoveu purificação do biogás ao elevar o teor de CH_4 de 85,2% no controle para 86,3%, 94,5% e 96,7% nos reatores que receberam 0,4, 2,0 e 4,0 gFeVZ L^{-1} , respectivamente, correspondendo a aumentos de 1,3%, 10,9% e 13,5%. O aperfeiçoamento cinético foi dose-dependente de FeVZ, ou seja, quanto maior a concentração desse aditivo mais rápida foi a metanização da ARS (**Figura 20 e Tabela 12**). Logo, a maior dosagem de FeVZ (1,0 rFeVZ/SSV) foi a ideal para otimizar o processo anaeróbio.

O FeVZ atuou no fortalecimento da MH, liberando H_2 exógeno no meio anaeróbio, e aumentou a abundância relativa de BSOP, como as bactérias das classes *Syntrophobacteria* e *Syntrophorhabdia*, e outras bactérias sintróficas oxidantes de AGVs, como as pertencentes a classe *Syntrophomonadia*, aumentando a disponibilização de CH_3COO^- para as arqueias metanogênicas, contribuindo a elevação do PBM e dos rendimentos de produção. Além disso, esse material enriqueceu as arqueias hidrogenotróficas do gênero *Methanolinea*, a qual deve ter utilizado o H_2 exógeno via TIEI para aumentar a taxa de redução de CO_2 a CH_4 e deve ter mantido relações sintróficas com as BSOP e demais bactérias fermentativas. Portanto, o FeVZ agiu apoiando a TIEI via H_2 e deve ter participado de processos de TDEI entre bactérias fermentadoras e arqueias metanogênicas, via condução de elétrons por sua superfície. Os mecanismos de transferência de elétrons e os microrganismos enriquecidos por esse material são representados na **Figura 22**.

Figura 22 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pelo FeVZ.

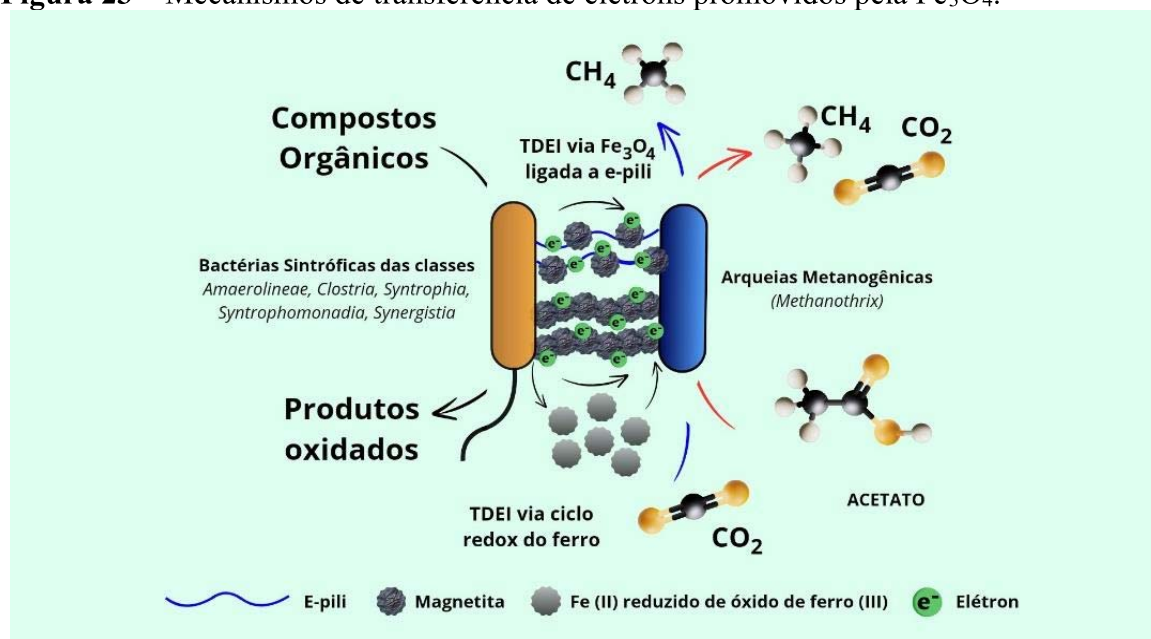


Fonte: O autor (2025).

O principal efeito da Fe_3O_4 foi o beneficiamento da cinética metanogênica com o aumento da dose aplicada no segundo ciclo de tratamento. Esse aditivo aumentou o μ e o k em 52,6% e 37,7%, respectivamente, em relação ao controle (**Tabela 12**). Doses superiores a $0,4 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$ não produzem efeitos benéficos adicionais ao PBM, mas impactam na velocidade em que o CH_4 é produzido (**Figura 20**). A Fe_3O_4 não apresentou resultados satisfatórios quanto ao aumento do teor de CH_4 no biogás. No primeiro ciclo ocorreu a diminuição desse parâmetro, com o aumento da dose, enquanto no segundo ciclo, não houve diferença estatística significativa do teor de CH_4 nos reatores suplementados com Fe_3O_4 e o reator controle. Assim, esse aditivo foi o que menos impactou na produção de um biogás mais puro, rico em CH_4 .

A Fe_3O_4 enriqueceu bactérias sintróficas oxidantes de AGVs, como as pertencentes a classes taxonômicas *Syntrophomonadia*, *Syntrophia* e *Clostridia*. Essas bactérias e as das classes *Anaerolineae* e *Synergistia*, as mais abundantes nas culturas anaeróbias, devem ter estabelecido TDEI via Fe_3O_4 com metanogênicos, principalmente arqueias do gênero *Methanotrix*, a qual teve abundância expressivamente aumentada na presença de Fe_3O_4 . Os processos de TDEI estimulados pela Fe_3O_4 e os microrganismos envolvidos são resumidos na **Figura 23**.

Figura 23 – Mecanismos de transferência de elétrons promovidos pela Fe_3O_4 .



Fonte: O autor (2025).

5.4 Conclusão

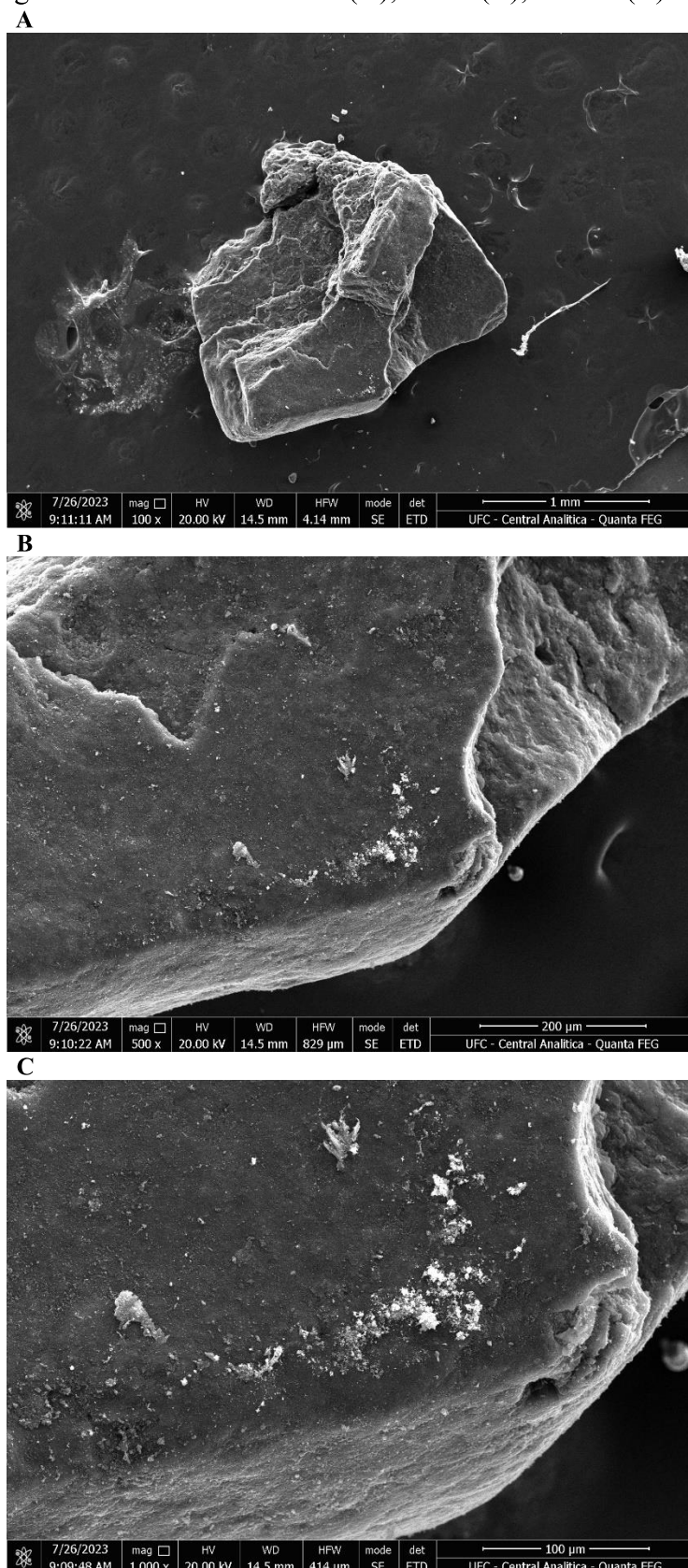
Este trabalho avaliou o efeito da aplicação de 0,4, 2,0 e 4,0 g L⁻¹ de carvão ativado granular (CAG), de ferro de valência zero (FeVZ) e de nanomagnetita (Fe₃O₄) na metanização da água residuária de suinocultura (ARS). O CAG foi o material que mais beneficiou a cinética de produção de metano (CH₄), sendo que mesmo a menor dose avaliada foi capaz de elevar o Potencial Bioquímico de Metano (PBM) e impactar positivamente a cinética metanogênica, reduzindo a fase *lag* expressivamente desde o primeiro ciclo de tratamento, indicando, assim, o fortalecimento da atividade sintrófica microbiana e o estabelecimento de processos de transferência direta de elétrons interespecies (TDEI). O FeVZ forneceu e estimulou o consumo de hidrogênio (H₂) via metanogênese hidrogenotrófica, apoiando a transferência indireta de elétrons interespecies (TIEI), sendo também o material que mais aumentou o PBM e o teor de CH₄ no biogás. Enquanto isso, o aumento da dose de Fe₃O₄ beneficiou os parâmetros cinéticos de geração de CH₄. Entretanto, doses superiores a 0,4 gFe₃O₄ L⁻¹ não produziram impactos positivos adicionais ao PBM. Em relação à dinâmica populacional microbiana, verifica-se que o CAG enriqueceu bactérias sintróficas oxidantes de acetato, o FeVZ promoveu o crescimento de bactérias sintróficas oxidantes de propionato e a Fe₃O₄ aumentou a abundância relativa de bactérias sintróficas oxidantes de ácidos graxos voláteis (AGVs). Em relação as arqueias metanogênicas, o FeVZ enriqueceu *Methanolinea*, um gênero hidrogenotrófico, e a Fe₃O₄ aumentou significativamente a abundância de arqueias acetoclásticas do gênero *Methanothrix*, possivelmente tendo sido a principal arqueia a estabelecer TDEI com bactérias sintróficas.

Conclui-se que a adição de aditivos condutores de elétrons em concentrações relativamente baixas em comparação com outros estudos da literatura técnica e limitados a concentração de sólidos suspensos voláteis presente nos reatores foi suficiente para otimizar o tratamento anaeróbio da ARS realizado por um inóculo não adaptado ao substrato avaliado, aumentando o PBM e aperfeiçoando a cinética de metanização.

Como sugestão para vindouros trabalhos têm-se a avaliação do efeito desses materiais na DA de diferentes águas residuárias agroindustriais em reatores batelada e em reatores com alimentação em fluxo contínuo que permitam a imobilização, segregação e recuperação dos materiais, operando em baixas e elevadas cargas orgânicas e em temperaturas mesofílicas e termofílicas. Outra lacuna científica a ser explorada seria a investigação do impacto desses aditivos em experimentos acidogênicos, visando a produção e a recuperação de H₂ e de AGVs de elevado valor agregado, como ácido caproico e ácido caprílico, os quais são compostos fundamentais e valiosos para diversos segmentos industriais.

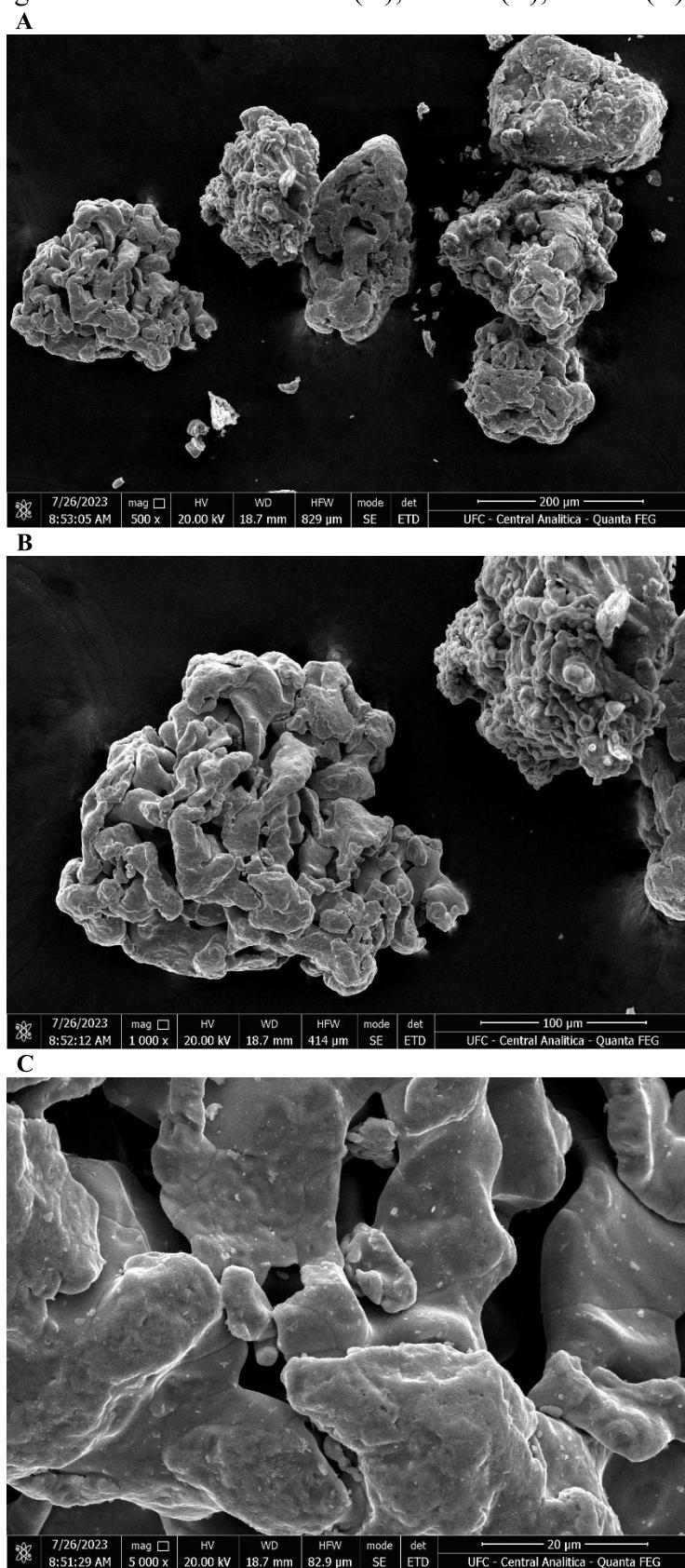
5.5 Material Suplementar

Figura 24 – Micrografia MEV do CAG x 100 (A); x 500 (B); x 1000 (C).



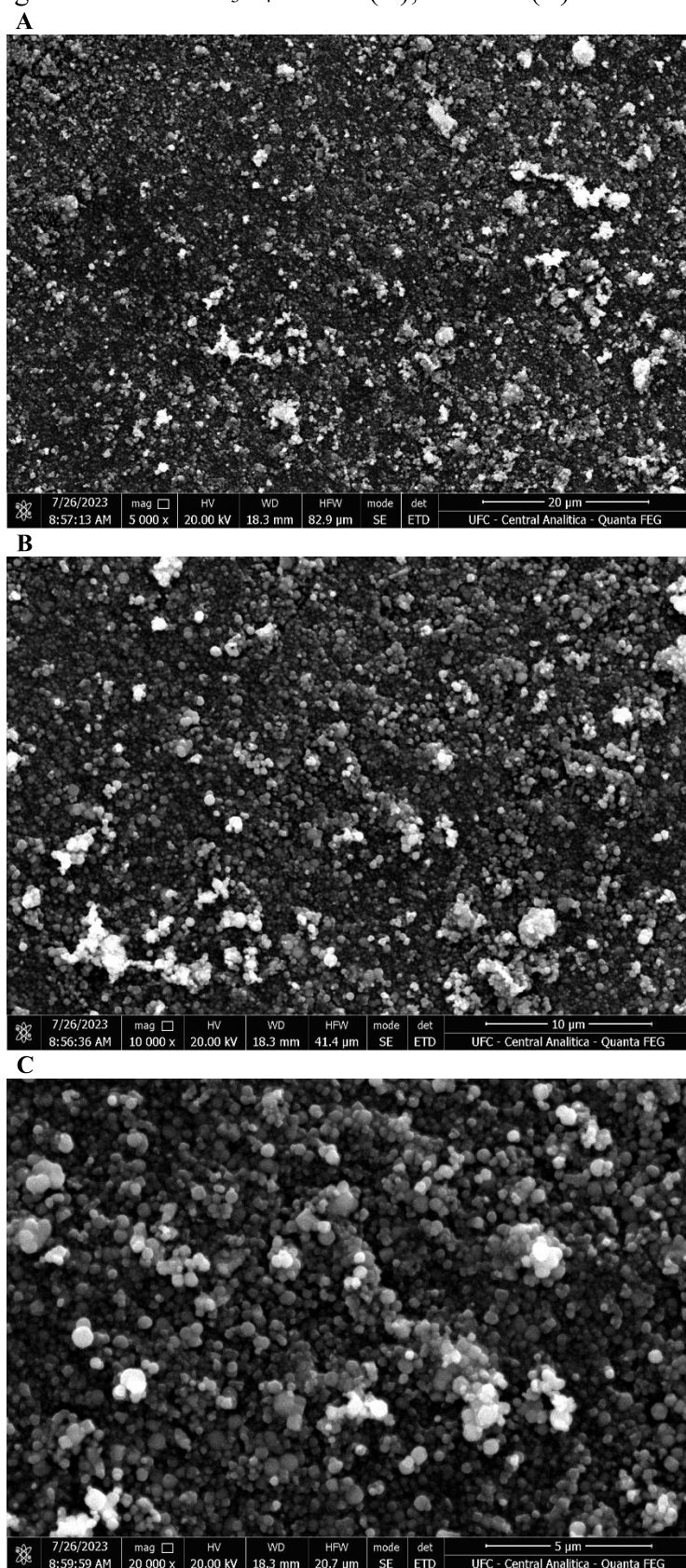
Fonte: O autor (2025).

Figura 25 – Micrografia MEV do FeVZ x 500 (A); x 1000 (B); x 5000 (C).



Fonte: O autor (2025).

Figura 26 – Micrografia MEV da Fe_3O_4 x 5000 (A); x 10000 (B) e x 20000 (C).



Fonte: O autor (2025).

Tabela 13 – Equações de rendimentos e fórmulas dos modelos matemáticos de produção.

Rendimentos	Equação
$ER = \frac{DQO_{REMOVIDA}}{DQO_{APLICADA}}$	Eq. 5.S1
$Y1_{CH4} = \frac{DQO_{REMOVIDA}}{DQO_{CH4}}$	Eq. 5.S2
$Y2_{CH4} = \frac{DQO_{REMOVIDA}}{DQO_{APLICADA}}$	Eq. 5.S3
$Y_R = \frac{V_{CH4R} - V_{CH4C}}{M_{MC}}$	Eq. 5.S4
Modelo de Primeira Ordem-Exponencial	
$M_t = M[1 - \exp(-kt)]$	Eq. 5.S5
Modelo de Gompertz Modificado	
$M_t = M \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu}{M} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$	Eq. 5.S6
Modelo Logístico	
$M_t = \frac{M}{1 + \exp \left[\frac{4 \mu (\lambda - t)}{M} + 2 \right]}$	Eq. 5.S7

Legenda: ER: eficiência de remoção; DQO_{REMOVIDA}: massa de DQO removida do sistema; DQO_{APLICADA}: massa de DQO total aplicada no reator; DQO_{CH4}: massa de DQO removida por produção de metano; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; Y₂: rendimento de produção de metano por DQO aplicada; V_{CH4R}: volume de CH₄ produzido nos reatores com aditivos; V_{CH4C}: volume de CH₄ produzido nos reatores controle (sem aditivos); M_{MC}: massa de material condutor adicionada; Y_R: rendimento de produção de CH₄ por massa de material condutor adicionada; M_t: metano acumulado; M: volume total de metano gerado; k: constante de velocidade produção de metano de primeira-ordem; t: tempo de digestão; e: número de Euler; λ: tempo da fase lag; μ: taxa máxima de produção de metano.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 14 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com CAG.

1º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	CAG 0%	CAG 10%	CAG 50%	CAG 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,940	0,945	0,950	0,956
	NRMSE	8,40	8,01	7,49	6,93
	AIC	91,94	95,05	91,67	85,32
Gompertz Modificado	R ²	0,975	0,975	0,976	0,976
	NRMSE	5,37	5,39	5,16	5,13
	AIC	78,75	83,59	81,01	77,14
Logístico	R ²	0,987	0,985	0,985	0,984
	NRMSE	3,91	4,21	4,15	4,21
	AIC	67,94	75,15	73,60	70,43
2º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	CAG 0%	CAG 10%	CAG 50%	CAG 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,989	0,991	0,993	0,992
	NRMSE	3,40	2,99	2,49	2,84
	AIC	62,45	59,76	53,83	57,99
Gompertz Modificado	R ²	0,989	0,985	0,978	0,983
	NRMSE	3,47	3,83	4,56	4,08
	AIC	65,21	70,13	76,40	72,34
Logístico	R ²	0,982	0,981	0,970	0,976
	NRMSE	4,35	4,37	5,32	4,82
	AIC	72,87	74,64	81,63	77,98

Fonte: O autor (2025).

Tabela 15 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com FeVZ.

1º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	FeVZ 0%	FeVZ 10%	FeVZ 50%	FeVZ 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,940	0,951	0,943	0,950
	NRMSE	8,40	7,48	7,99	7,53
	AIC	91,94	91,92	96,18	94,89
Gompertz Modificado	R ²	0,975	0,982	0,977	0,980
	NRMSE	5,37	4,59	5,06	4,79
	AIC	78,75	77,35	82,63	81,54
Logístico	R ²	0,987	0,989	0,987	0,987
	NRMSE	3,91	3,55	3,87	3,82
	AIC	67,94	68,64	73,47	73,86
2º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	FeVZ 0%	FeVZ 10%	FeVZ 50%	FeVZ 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,989	0,995	0,988	0,989
	NRMSE	3,40	2,21	3,51	3,32
	AIC	62,45	51,02	68,41	66,46
Gompertz Modificado	R ²	0,989	0,988	0,991	0,990
	NRMSE	3,47	3,483	3,11	3,24
	AIC	65,21	68,48	66,31	67,64
Logístico	R ²	0,982	0,981	0,987	0,986
	NRMSE	4,35	4,42	3,73	3,83
	AIC	72,87	76,61	72,48	73,38

Fonte: O autor (2025).

Tabela 16 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM com Fe₃O₄.

1º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	Fe ₃ O ₄ 0%	Fe ₃ O ₄ 10%	Fe ₃ O ₄ 50%	Fe ₃ O ₄ 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,940	0,941	0,940	0,940
	NRMSE	8,40	8,00	8,20	8,17
	AIC	91,94	96,26	95,55	94,23
Gompertz Modificado	R ²	0,975	0,972	0,975	0,975
	NRMSE	5,37	5,58	5,26	5,23
	AIC	78,75	85,98	82,49	81,06
Logístico	R ²	0,987	0,983	0,986	0,986
	NRMSE	3,91	4,31	3,95	3,96
	AIC	67,94	77,16	72,74	71,58
2º Ciclo de Tratamento					
Modelo	Parâmetros	Fe ₃ O ₄ 0%	Fe ₃ O ₄ 10%	Fe ₃ O ₄ 50%	Fe ₃ O ₄ 100%
Primeira Ordem Exponencial	R ²	0,989	0,991	0,992	0,993
	NRMSE	3,40	3,09	2,87	2,64
	AIC	62,45	62,35	61,21	56,85
Gompertz Modificado	R ²	0,989	0,986	0,984	0,985
	NRMSE	3,47	3,74	4,05	3,84
	AIC	65,21	70,79	74,83	71,69
Logístico	R ²	0,982	0,980	0,977	0,78
	NRMSE	4,35	4,47	4,79	4,67
	AIC	72,87	76,90	80,53	78,28

Fonte: O autor (2025).

Tabela 17 – Valores de pH iniciais e finais para cada ciclo de tratamento da ARS.

Reatores		pH	
		Inicial	Final
		1º ciclo de tratamento	
Controle	R _C	7,5	7,8
CAG	R _{10%}	7,5	7,8
	R _{50%}	7,5	7,9
	R _{100%}	7,5	7,9
FeVZ	R _{10%}	7,5	7,9
	R _{50%}	7,5	7,9
	R _{100%}	7,5	8,0
Fe ₃ O ₄	R _{10%}	7,5	7,8
	R _{50%}	7,5	7,8
	R _{100%}	7,5	7,8
Reatores		2º ciclo de tratamento	
Controle	R _C	7,6	7,8
CAG	R _{10%}	7,6	7,7
	R _{50%}	7,6	7,7
	R _{100%}	7,6	7,7
FeVZ	R _{10%}	7,6	7,9
	R _{50%}	7,6	7,9
	R _{100%}	7,6	7,9
Fe ₃ O ₄	R _{10%}	7,6	7,7
	R _{50%}	7,6	7,7
	R _{100%}	7,6	7,7

Legenda: R_C: reator controle; R_{10%}: reatores com 0,4 g L⁻¹ de aditivos; R_{50%}: reatores com 2,0 g L⁻¹ de aditivos; R_{100%}: reatores com 4,0 g L⁻¹ de aditivos; CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄: nanomagnetita.

Fonte: O autor (2025).

6 INFLUÊNCIA DE MATERIAIS CONDUTORES, DA RAZÃO SUBSTRATO INÓCULO E DA TEMPERATURA NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

RESUMO

Apesar da digestão anaeróbia mesofílica (DAM) ser convencional para o tratamento de resíduos orgânicos, a digestão anaeróbia termofílica (DAT) apresenta vantagens, como destruição de patógenos, taxas de hidrólise e fermentação mais elevadas e menor requisição de volume operacional, o que a torna uma estratégia interessante para a degradação de compostos orgânicos complexos, como águas residuárias com elevados teores de matéria orgânica particulada. Nesse contexto, aditivos condutores podem auxiliar a vencer obstáculos característicos de sistemas termofílicos, como o acúmulo de hidrogênio (H_2) e de ácidos graxos voláteis (AGVs). Perante o exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar a influência da aplicação de carvão ativado granular (CAG), ferro de valência zero (FeVZ), nanomagnetita (Fe_3O_4) e das associações entre esses aditivos (Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG) na DAM e na DAT da água residuária de suinocultura (ARS) em condições de baixa e de elevada carga orgânica, regulada pelo parâmetro razão substrato inóculo (RSI). O estudo consistiu em testes de potencial bioquímico de metano (PBM) realizados em reatores de vidro com 100 mL de volume reacional. A DAM foi conduzida a $37 \pm 0,1^\circ C$ e a DAT em $55 \pm 0,1^\circ C$. Os reatores foram inoculados com lodo mesofílico ou lodo termofílico a 4 gSSV L^{-1} e alimentados com ARS nas concentrações de $2,0 \text{ gDQO L}^{-1}$ e de $8,0 \text{ gDQO L}^{-1}$, gerando RSI de $0,50 \pm 0,1 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ e de $2,0 \pm 0,1 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, respectivamente. Os aditivos foram aplicados a 2 g L^{-1} ($0,5 \text{ g gSSV}^{-1}$), o que correspondeu a 50% do teor de SSV inseridos aos reatores. Na DAM em RSI 0,5, o CAG apresentou maior êxito em otimizar a cinética de metanização, elevando em 29,9% a velocidade de produção de CH_4 (k) e reduzindo o tempo necessário para a síntese de 80% do PBM (tempo de digestão técnica, T80) em 15,9%. Enquanto isso, o FeVZ foi o material que mais aumentou o PBM (+19,4%), a taxa máxima de produção de metano (μ , +40,5%) e o teor de CH_4 no biogás (+22,1%). Em RSI 2,0, o CAG destacou-se dentre os demais materiais, promovendo acréscimos de 11%, 10,2% e 26,3% no PBM, k e μ , respectivamente, além de reduzir o T80 em 7,0%. Nos ensaios termofílicos em RSI 0,5, o FeVZ aumentou o PBM, o rendimento de produção de CH_4 (Y_1), o teor de CH_4 e o μ em 22,6%, 23,6%, 20,0% e 35,5%, nessa ordem. Enquanto isso, o CAG e as combinações propiciaram melhor desempenho cinético. Na DAT em RSI 2,0, a Fe_3O_4 , o FeVZ e as combinações Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG

obtiveram melhor desempenho. A Fe_3O_4 , por exemplo, elevou o PBM (+32,2%), o Y_1 (+30,1%), o teor de CH_4 (+1,9%), o μ (+38,9%) e reduziu o T80 em 4,3%. *Methanotherix soehngenii* dominou a DAM e *Methanolinea tarda* e *Methanosarcina thermophila* prevaleceram na DAT. Foi sugerida a ocorrência de uma modificação da rota principal de produção de CH_4 de metanogênese acetoclástica na DAM para metanogênese hidrogenotrófica na DAT. A metanogênese metilotrófica, associada a presença *Candidatus Methanomethylicus*, foi estimulada na DAT. Conclui-se que a *performance* dos digestores foi aperfeiçoada pela aplicação dos aditivos condutores de elétrons. Em todos os cenários, a DAM foi mais eficiente do que a DAT, apontando à necessidade de mais estudos que visem otimizar o tratamento da ARS em condições termofílicas.

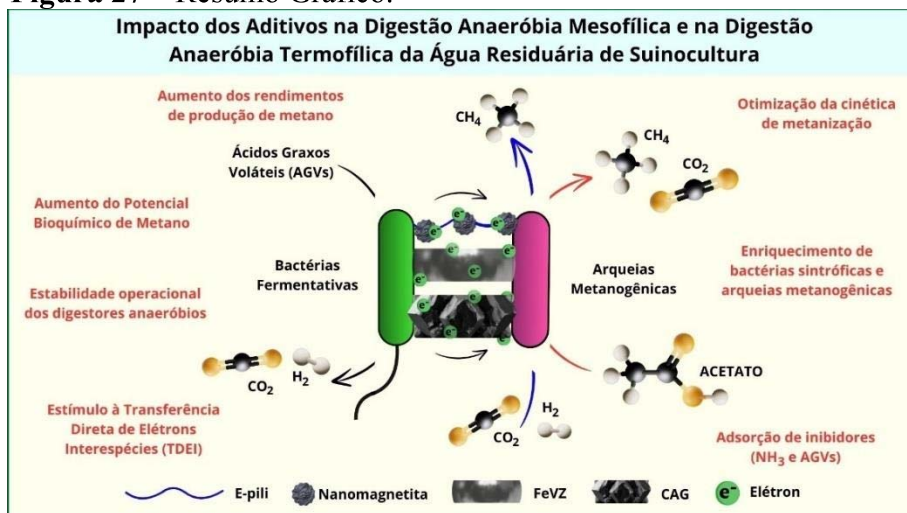
PALAVRAS-CHAVE: Aditivos condutores de elétrons; Água residuária de suinocultura; Digestão anaeróbia mesofílica; Digestão anaeróbia termofílica; Razão substrato inóculo.

PONTOS DE DESTAQUE

- A DAM teve melhor *performance* do que a DAT;
- CAG e suas associações aperfeiçoaram a cinética de metanização;
- FeVZ e Fe_3O_4 elevaram a produção de metano dos digestores anaeróbios;
- Metanogênese acetoclástica dominou a DAM;
- Metanogênese hidrogenotrófica preponderou na DAT;
- Metanogênese metilotrófica foi estimulada na DAT.

RESUMO GRÁFICO

Figura 27 – Resumo Gráfico.



Fonte: O autor (2025).

6.1 Introdução

A digestão anaeróbia (DA) é um bioprocesso que concilia o tratamento de resíduos orgânicos com a recuperação de bioenergia, na forma de biogás (Alam; Dhar, 2023). A DA é composta por quatro fases principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Inicialmente, bactérias fermentativas hidrolíticas quebram biopolímeros orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídeos) em matéria orgânica simples (açúcares, aminoácidos e peptídeos). Posteriormente, na acidogênese, esses compostos são convertidos a ácidos graxos voláteis (AGVs), principalmente ácido acético, propiônico e butírico, por bactérias fermentativas. Na acetogênese, os ácidos orgânicos são oxidados a ácido acético, hidrogênio (H_2), formiato ($HCOO^-$) e dióxido de carbono (CO_2) por bactérias sintróficas acetogênicas. Esses produtos são utilizados por arqueias metanogênicas para a produção de biogás, composto principalmente por metano (CH_4), CO_2 e sulfeto de hidrogênio (H_2S), durante a última fase da DA, denominada de metanogênese (Yildirim; Ozkaya, 2023). O teor de CH_4 no biogás está comumente na faixa de 50 a 60%, correspondente a um valor energético de 6 kWh m^{-3} nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), o que torna o biogás um recurso valioso para aplicações energéticas. Dentre elas está a geração de energia térmica, mecânica ou elétrica através de sua queima e a produção de biometano, obtido a partir da purificação do biogás, que pode ser utilizado como combustível veicular ou para alimentar motogeradores em redes elétricas (Baek *et al.*, 2018). Além disso, a produção de biogás via DA é uma estratégia eficaz para a obtenção de energia renovável, o que contribuiu para diminuir a dependência de combustíveis fósseis, reduzindo o lançamento de gases de efeito estufa (Lin *et al.*, 2018a).

A DA pode ocorrer em condições psicrófilas (10 a 20 °C), mesófilas (25 a 45°C), termófilas, (50 a 60°C) e hipertermófilas (70 a 80 °C), sendo a DA mesofílica (DAM) a mais utilizada em sistemas de tratamento de resíduos orgânicos devido proporcionar melhor estabilidade operacional, menor custo energético e ser a ideal para o crescimento das arqueias metanogênicas (Singh *et al.*, 2023). Porém, a DA termofílica (DAT) apresenta vantagens em detrimento a DAM, pois favorece a destruição de patógenos presentes no substrato e no inóculo, pode gerar um biogás com elevados teores de CH_4 e acelera os processos fermentativos, tornando as taxas das reações mais rápidas (2 ou até 3 vezes maiores em comparação com a DAM), o que favorece uma maior solubilidade de compostos orgânicos, diminui o tempo de detenção hidráulica (TDH) e, conseqüentemente, reduz o volume útil necessário para o tratamento dos resíduos (ALMEIDA STREITWIESER, 2017; GE; JENSEN; BATSTONE, 2011). Além disso, a DAT é eficaz em atenuar genes de resistência a antibióticos (GRAs) no

lodo digerido, produzindo biossólidos que geralmente são livres de patógenos e podem ser utilizados para aplicações agrícolas, sem restrições (Labatut *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2019). Por esses motivos, a DAT está sendo amplamente avaliada para a degradação de compostos orgânicos complexos, como águas residuárias com elevados teores de matéria orgânica particulada, dejetos de animais e restos alimentares.

Um sistema anaeróbio termofílico é considerado menos estável em comparação ao mesofílico, pois a alta taxa de fermentação da matéria orgânica na DAT pode ocasionar uma desarmonia na produção de ácidos orgânicos e H_2 por bactérias fermentativas e acetogênicas, e no consumo desses produtos por arqueias metanogênicas, ocasionando acúmulo de AGVs seguido pela acidificação do reator (queda brusca do pH para valores iguais ou inferiores a 5,0) (Appels *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2017). Esse processo promove a inibição da produção de CH_4 , pois as arqueias metanogênicas atuam de forma adequada em ambientes com pH entre 6,0 e 8,0 e têm metabolismo ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4 (Náthia-Neves *et al.*, 2018).

Além disso, a quebra acelerada de proteínas pode acarretar em um rápido aumento da concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT), o qual, em elevadas concentrações, pode inibir a atividade e o crescimento dos microrganismos anaeróbios (Ryue *et al.*, 2020). O NAT é composto por nitrogênio amoniacal livre (NAL) e pelo íon amônio (NH_4^+). O NAL é a espécie mais preocupante, pois tem a capacidade de se difundir passivamente na membrana celular microbiana, acarretando em desequilíbrio de prótons e deficiência de potássio (Liu *et al.*, 2019). Somando-se a isso, elevadas concentrações de NAL também podem levar ao acúmulo de AGVs, diminuir o pH e provocar a falha do digestor (Yenigün; Demirel, 2013). Entretanto, concentrações de NAL de até 200 mg L⁻¹ são benéficas para o metabolismo da microbiota termofílica, agindo como um tampão natural para resistir à acidificação do acúmulo de ácidos orgânicos nos digestores (Sung; Liu, 2003; Yuan; Zhu, 2016). Concentrações de NAL entre 300 e 800 mg L⁻¹, de NH_4^+ entre 1.500 e 3.000 mg L⁻¹ e de NAT entre 1.500 e 11.000 mg L⁻¹ são comumente relatados como inibitórios ao processo de DA (Rocamora *et al.*, 2020). Vários fatores influenciam na resistência de digestores ao NAT, como a aclimação do inóculo, a fonte, o tipo e a atividade metanogênica do inóculo (H. Tian *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2018).

Esses problemas relacionados à estabilidade operacional de digestores anaeróbios submetidos a temperaturas termofílicas intensificam-se sob operações com altas taxas de carga orgânica, nas quais a acumulação de produtos inibitórios à metanogênese (AGVs, H_2 e nitrogênio amoniacal) é facilitada (Jang *et al.*, 2018). Nesse contexto, a razão substrato inóculo (RSI) é um parâmetro fundamental em sistemas anaeróbios, principalmente em reatores operando em regime batelada, pois permite regular a quantidade de alimento (carga orgânica)

fornecido em relação à quantidade de microrganismos presentes nos digestores (de Sousa e Silva *et al.*, 2024). A aplicação de uma elevada carga orgânica (alta RSI) pode abalar a sintrofia entre os microrganismos anaeróbios, acidificar irreversivelmente o reator e inibir a metanogênese por desequilíbrios metabólicos ocasionados por excesso de NAL. Em contraponto, uma baixa RSI pode prejudicar a indução de enzimas necessárias para a DA e dificultar a obtenção da produção máxima de CH_4 (Li *et al.*, 2022). Logo, para dificultar a ocorrência de perturbações operacionais em digestores anaeróbios submetidos a elevadas cargas orgânica, é necessário a utilização de uma biomassa com alta afinidade ao substrato tratado e com elevada atividade metanogênica (Ryue *et al.*, 2020). A instabilidade operacional, o elevado requisito de energia, a sensibilidade dos microrganismos termofílicos a variações de condições ambientais, como alterações no pH e na temperatura, o extenso período de aclimação microbiana e de inicialização de digestores termofílicos são as principais desvantagens e empecilhos para a consolidação da aplicação da DAT em sistemas de tratamento de resíduos e efluentes orgânicos em escala real (Kushkevych *et al.*, 2020).

Uma técnica emergente para superar as perturbações de processo na DAT e elevar a taxa de produção de CH_4 é a aplicação de mediadores redox insolúveis (MRIs), também designados como materiais condutores (MCs) de elétrons (Alam; Dhar, 2023). Esses aditivos podem aumentar a sintrofia microbiana, promover a transferência direta de elétrons interespecies (TDEI) e aliviar o acúmulo de AGVs e de nitrogênio amoniacal, evitando, assim, os problemas de instabilidade de digestores anaeróbios termofílicos (Kumar *et al.*, 2021). A TDEI é um bioprocesso em que elétrons advindos da oxidação da matéria orgânica realizada por microrganismos doadores de elétrons (bactérias fermentativas) são transferidos mediante conectores bioelétricos, como proteínas eletricamente condutoras fixadas na membrana celular, a exemplo citocromos do tipo c (OmcS) e pili eletricamente condutores (e-pili), para microrganismos aceptores de elétrons (arqueias metanogênicas) (Baek *et al.*, 2018). Nesse contexto, os MCs atuam como condutores abióticos eficazes para a transferência externa de elétrons entre bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas, podendo substituir ou se associar aos conectores bioelétricos para aumentar a taxa de transferência de elétrons (Park *et al.*, 2018). Segundo Lovley (2017), a TDEI é mais vantajosa sob aspectos energéticos do que a transferência indireta de elétrons interespecies (TIEI) realizada por mediadores redox solubilizados (MRSs), como o H_2 e o formiato (HCOO^-), pois não envolve reações redox enzimáticas que consomem energia para formar esses transportadores de elétrons.

Conforme Kutlar *et al.* (2022), os MCs comumente avaliados quanto aos seus potenciais de aperfeiçoar a DAT são o carvão ativado granular (CAG), a nanomagnetita (Fe_3O_4)

e o ferro de valência zero (FeVZ). O CAG é um material poroso com elevada área superficial que possui grupos funcionais em sua superfície, como quinonas, lactonas, carboxilas, hidroxilas e éteres, que viabilizam a mobilidade de elétrons por meio de reações de oxidação-redução (Van Der Zee *et al.*, 2003). Essas características favorecem a fixação microbiana, a formação de biogrânulos, a adsorção de compostos inibitórios à metanogênese, como o NAL, e o estímulo à TDEI (Lin *et al.*, 2018a). Enquanto isso, o FeVZ possui elétrons livres que se movem em sua rede cristalina, característica inerente a ligação metálica, o que confere a esse material elevada condutividade elétrica e favorece a ocorrência de TDEI por sua superfície condutora. Além disso, esse material atua na ativação de enzimas acidogênicas e metanogênicas e age como um doador de elétrons, liberando H_2 , que beneficia a metanogênese hidrogenotrófica (Zhang *et al.*, 2011). Já a Fe_3O_4 pode ligar-se aos e-pili, elevando a capacidade condutora dessas proteínas e, consequentemente, aumentando a taxa de transferência de elétrons (Liu *et al.*, 2015). A Fe_3O_4 é constituída por óxidos de ferro (FeO e Fe_2O_3) que participam de reações de oxidação-redução e mediam a transferência extracelular de elétrons. Em geral, os MCs fortalecem a sintrofia microbiana, aceleram a degradação do substrato e aumentam a geração de CH_4 (Wu *et al.*, 2023). Por esses motivos, estimular a TDEI via MCs é uma estratégia inovadora para elevar o desempenho de digestores anaeróbios termofílicos.

No entanto, o impacto desses materiais na DAT de resíduos e efluentes orgânicos ainda é pouco discutido na literatura técnica, sendo escassas informações quanto às suas contribuições reais na cinética de metanização de diferentes substratos, nas alterações das comunidades microbianas e na capacidade de estabilizar processos anaeróbios submetidos a elevadas taxas de carregamento orgânico. Nesse contexto, torna-se atraente a investigação do efeito desses materiais no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura (ARS) sob condições mesofílicas e termofílicas quanto à cinética de metanização e à produção de CH_4 . A ARS é um efluente agrícola que possui elevadas concentrações de matéria orgânica complexa, sólidos suspensos e nutrientes, possuindo elevado potencial poluidor, podendo contaminar o solo e recursos hídricos caso disposto no meio ambiente sem tratamento adequado (Lourinho *et al.*, 2020; Morais *et al.*, 2021c). Estima-se que a pegada hídrica média da produção de carne suína seja de 3.000 a 9.000 L de água por quilo de carne, o que indica uma geração expressiva de ARS (Sáez *et al.*, 2017). Somando-se a isso, a geração de ARS continuará aumentando devido ao crescimento esperado na produção de carne suína até 2050 (Bouwman *et al.*, 2013). A correta gestão ambiental da ARS é imprescindível para a mitigar os impactos ambientais gerados pela suinocultura e pela alta demanda global por proteínas animais (Domingues *et al.*, 2021).

Conforme Luque *et al.* (2024), a ARS é caracterizada por valores de pH entre 6,7 e 8,9, turbidez entre 360 e 4.350 NTU, demanda química de oxigênio (DQO) entre 910 e 19.380 mg L⁻¹, demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) entre 2.000 e 30.000 mg L⁻¹, nitrogênio total (NT) entre 200 e 2.055 mg L⁻¹, nitrogênio amoniacal entre 110 e 2.200 mg L⁻¹ e fósforo total (FT) entre 10 e 918 mg L⁻¹. As elevadas concentrações de NAL e nitrogênio amoniacal na ARS, provenientes da decomposição de proteínas e ureia, podem inibir a atividade metanogênica, resultando no acúmulo de AGVs e baixo rendimento de biogás (Alves Lourenço *et al.*, 2025). O alto conteúdo orgânico na ARS também se deve à presença de compostos formadores de cor, como ácido fúlvico, ácido húmico, melanoidina, e compostos cromóforos, aqueles que apresentam grupos orgânicos, geralmente insaturados, como C=C, C=O, -NO₂, capazes de absorver radiação eletromagnética nas regiões ultravioleta e visível (Yoon *et al.*, 2014). Ademais, a ARS possui elevada carga microbiológica (*Escherichia coli* e *Salmonella sp.*) e contém compostos refratários, como metais pesados, antibióticos e hormônios (C. Li *et al.*, 2023). Essas características físico-químicas da ARS, principalmente as elevadas concentrações de matéria orgânica particulada e de gorduras, induzem a uma lenta metanização desse substrato, tornando a DA pouco eficiente sob aspectos cinéticos (Moraes *et al.*, 2021b).

Nesse cenário, a DAT pode acelerar e intensificar os processos hidrolíticos, aumentando a disponibilidade de matéria orgânica para microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos, elevando, assim, o potencial bioquímico de metano (PBM) da ARS. Enquanto isso, os MCs podem contribuir para tornar a DAT da ARS mais estável, mesmo em sistemas de tratamento com elevada carga orgânica (alta RSI). Nesse contexto, o CAG tem capacidade de adsorver compostos inibitórios à atividade metanogênica que comumente acumulam-se em digestores termofílicos, como NAL e AGVs. Além disso, os aditivos podem estimular a TDEI, acelerando a cinética de metanização do substrato, e são capazes de enriquecer os microrganismos anaeróbios, contribuindo para a utilização e consequente redução da concentração de ácido acético e de equivalentes redutores, como H₂ e o HCOO⁻, reduzindo a possibilidade de ocorrência de instabilidade operacional por acúmulo de ácidos orgânicos.

Perante o exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar a influência da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero, nanomagnetita e das associações entre esses aditivos na digestão anaeróbia mesofílica e termofílica da água residuária de suinocultura em condições de baixa e de elevada carga orgânica, regulada pelo parâmetro razão substrato inóculo, avaliando a estabilidade dos digestores, a eficiência da produção de metano, a cinética de metanização, a uniformidade e a riqueza das comunidades microbianas e as alterações nas estruturas das comunidades de bactérias e de arqueias.

6.2 Materiais e Métodos

6.2.1 Substrato e Inóculo

A água residuária de suinocultura (ARS) utilizada como substrato foi obtida em um criatório de suínos localizado no Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal do Ceará (UFC) em Fortaleza, Ceará, Brasil. Um peneiramento (malha quadrada de abertura de 2 mm) foi aplicado na ARS visando remover sólidos grosseiros. A ARS foi armazenada sob refrigeração a 4 °C para diminuir a ação dos microrganismos na biodegradação natural da matéria orgânica e para evitar mudanças significativas da tipologia da ARS.

Como inóculos foram utilizados um lodo mesofílico (LM) e um lodo termofílico (LT), originados pela adaptação de um lodo de cervejaria (LC) ao tratamento de glicose. O cultivo dessas biomassas foi realizado em dois reatores anaeróbios (1,44 L de volume reacional), de escala laboratorial, um operando a temperatura ambiente, cerca de 28 °C, e o outro a temperatura termofílica de 55°C. O regime de alimentação dos reatores foi de fluxo contínuo, com carga orgânica volumétrica (COV) de 2,5 gDQO L⁻¹ d⁻¹ e tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12h. O tempo operacional foi de 200 dias. O LC foi coletado de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) que compunha uma Estação de Tratamento de Efluentes Industriais (ETEI) localizada no município de Pacatuba, Ceará, Brasil, e operava em condições mesofílicas no tratamento de efluente de cervejaria. A caracterização dos inóculos quanto à concentração de sólidos e à Atividade Metanogênica Específica (AME) pode ser observada na **Tabela 18**. A metodologia e as equações (**Equações 6.S1 a 6.S3**) empregadas para a obtenção dos valores de AME são apresentadas no **Material Suplementar**.

Tabela 18 – Caracterização dos inóculos utilizados nos ensaios metanogênicos.

Parâmetros	Lodo de Cervejaria (LC)	Lodo Mesofílico (LM)	Lodo Termofílico (LT)	Unidades
ST	86,7 ± 1,5	49,8 ± 1,3	45,7 ± 4,5	g L ⁻¹
STV	69,8 ± 1,5	42,0 ± 1,4	37,2 ± 3,8	g L ⁻¹
STF	16,9 ± 0,3	7,8 ± 0,4	8,5 ± 0,7	g L ⁻¹
SSV	68,7 ± 1,4	41,7 ± 1,3	36,9 ± 3,8	g L ⁻¹
SSV/ST	79,0	83,7	80,8	%
AME	0,263 ± 0,01	0,759 ± 0,01	0,665 ± 0,10	gDQO _{CH4} gSSV ⁻¹ d ⁻¹

Legenda: ST: sólidos totais; STV: sólidos totais voláteis; STF: sólidos toais fixos; SSV: sólidos suspensos voláteis; AME: atividade metanogênica específica.

Fonte: O autor (2025).

6.2.2 Aditivos

Como aditivos aos testes de PBM, foram utilizados materiais condutores (MCs) de elétrons, como a nanomagnetita (Fe_3O_4), o ferro de valência zero (FeVZ) e o carvão ativado granular (CAG), e um material não condutor, o dióxido de silício (SiO_2). A Fe_3O_4 (Sigma-Aldrich®, EUA) tinha 97% de pureza, tamanho de partículas de 50-100 nm, área superficial de $6-8 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e densidade aparente de $4,8-5,1 \text{ g cm}^{-3}$. O FeVZ (Sigma-Aldrich®, EUA) tinha partículas de até 450 μm e pureza maior ou igual 99%. O CAG foi adquirido da Sigma-Aldrich (DARCO®, EUA) e apresentava as seguintes características: tamanho de partículas de 0,8-1,7 mm, densidade aparente de $1,8-2,4 \text{ g cm}^{-3}$, a área superficial de $650 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e nível de impurezas menor ou igual que 0,4% (cinzas). O SiO_2 granular foi adquirido de Sigma-Aldrich® (Supelco, Alemanha) e tinha partículas de 0,1 a 0,3 mm e pureza maior ou igual 96%. O SiO_2 foi empregado visando comparar o impacto à metanogênese de um material que atua apenas como núcleo de agregação de microrganismos com materiais que estimulam processos de transferência de elétrons.

6.2.3 Teste de Potencial Bioquímico de Metano

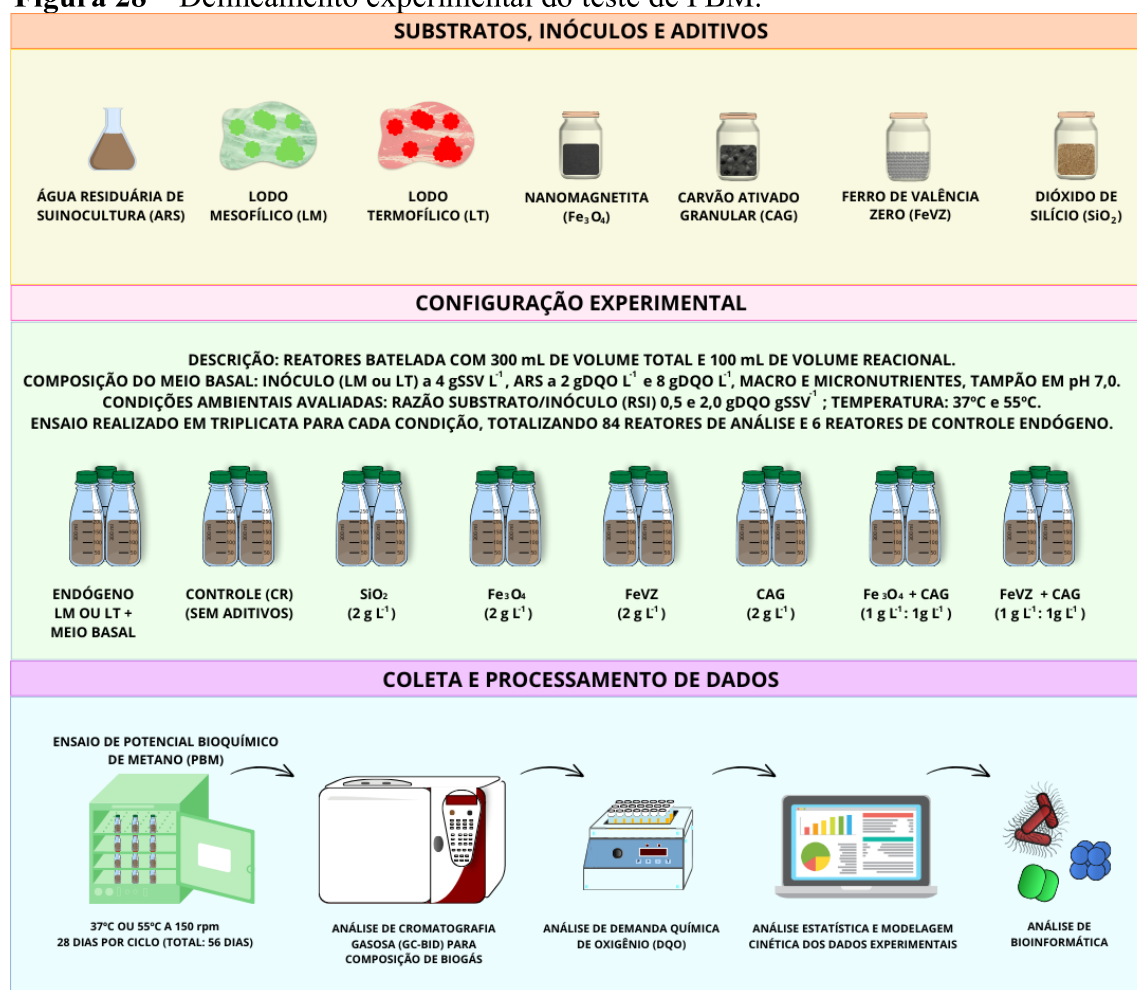
O teste de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foi conduzido em frascos de vidro com 300 mL de volume total, sendo 100 mL de volume útil e 200 mL de *headspace*. O experimento foi conduzido sob regime de batelada alimentada com dois ciclos operacionais idênticos, cada um com tempo experimental de 28 dias, totalizando 56 dias de ensaio. Ao fim do primeiro ciclo, o sobrenadante dos reatores era removido e uma nova alimentação idêntica a primeira era inserida. O volume útil e o volume de *headspace* foram iguais nos dois ciclos. O primeiro ciclo foi realizado visando uma adaptação microbiológica das culturas microbianas ao substrato e às condições operacionais do experimento, como temperatura, carga orgânica e aditivos, enquanto o segundo ciclo foi considerado o teste de PBM. Com efeito, o presente estudo discutiu os resultados do segundo ciclo operacional.

Foi avaliado o impacto da razão substrato inóculo (RSI 0,5 e 2,0) e da aplicação de aditivos (CAG, FeVZ, Fe_3O_4 e SiO_2) na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) ($37 \pm 0,1^\circ\text{C}$, LM como inóculo) e termofílica (DAT) ($55 \pm 0,1^\circ\text{C}$, LT como inóculo) da ARS. Os reatores foram inoculados com LM ou LT a 4 gSSV L^{-1} e alimentados com ARS nas concentrações de $2,0 \text{ gDQO L}^{-1}$ e de $8,0 \text{ gDQO L}^{-1}$, gerando RSI de $0,50 \pm 0,1 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ e de $2,0 \pm 0,1 \text{ gDQO} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, respectivamente. Os materiais condutores (CAG, FeVZ e Fe_3O_4) e o material

não condutor (SiO_2) foram aplicados a 2 g L^{-1} ($0,5 \text{ g gSSV}^{-1}$), o que correspondeu a 50% do teor de SSV inseridos aos reatores. O meio basal (macro e micronutrientes) adicionado foi formulado conforme Morais *et al.*, (2021c). O pH inicial foi corrigido para 7,0 com NaOH 1 N e, posteriormente, bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi adicionado como tampão na proporção de 1 g de tampão para cada 1 g de DQO L^{-1} . Os reatores foram lacrados com borrachas butílicas e tampas plásticas e, em seguida, o *headspace* dos reatores foi purgado com nitrogênio gasoso (N_2) por 2 minutos, a fim de formar um ambiente anaeróbio. Por fim, os reatores foram mantidos por 28 dias, por ciclo, em uma incubadora (MA-420, Marconi LTDA, Brasil) sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura adequada ao ensaio mesofílico ($37 \pm 0,1^\circ\text{C}$) e termofílico ($55 \pm 0,1^\circ\text{C}$) (Filer *et al.*, 2019; Mshandete *et al.*, 2004).

O teste de PBM foi realizado com sete grupos para cada condição experimental, sendo assim designados: 1) reator controle – R_C : Inóculo + ARS, 2) reator SiO_2 – R_{SiO_2} : Inóculo + ARS + $2,0 \text{ gSiO}_2 \text{ L}^{-1}$, 3) reator Fe_3O_4 – $\text{R}_{\text{Fe}_3\text{O}_4}$: Inóculo + ARS + $2,0 \text{ gFe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$, 4) reator CAG - R_{CAG} : Inóculo + ARS + $2,0 \text{ gCAG L}^{-1}$, 5) reator FeVZ - R_{FeVZ} : Inóculo + ARS + $2,0 \text{ gFeVZ L}^{-1}$, 6) reator Fe_3O_4 +CAG - $\text{R}_{\text{Fe}_3\text{O}_4+}$: Inóculo + ARS + $1,0 \text{ g Fe}_3\text{O}_4 \text{ L}^{-1}$ + $1,0 \text{ gCAG L}^{-1}$, 7) reator FeVZ+CAG - $\text{R}_{\text{FeVZ}+}$: Inóculo + ARS + $1,0 \text{ gFeVZ L}^{-1}$ + $1,0 \text{ gCAG L}^{-1}$. As associações entre os aditivos (Fe_3O_4 +CAG, FeVZ+CAG) foram realizadas objetivando analisar o impacto da aplicação conjunta de aditivos que beneficiam a digestão anaeróbia por diferentes mecanismos. Cada material presente nas associações foi aplicado a 1 g L^{-1} , totalizando 2 g L^{-1} de aditivos, gerando a mesma concentração de MCs aplicada nos demais grupos experimentais. O experimento foi conduzido em triplicata, totalizando 21 reatores por condição avaliada. Esse arranjo experimental foi replicado para as condições de RSI de 0,5 e 2,0 sob condições mesofílicas e termofílicas, resultando na montagem de 84 reatores (**Figura 28**).

Para avaliar a produção residual de CH_4 devido à degradação de matéria orgânica residual contida nos inóculos, foram montados reatores de controle endógeno, os quais continham apenas o inóculo a ser avaliado, o meio basal e o tampão, ou seja, sem fonte de carbono proveniente de substrato. Foram incubados 3 reatores de controle endógeno para cada lodo empregado (LM e LT), somando 6 reatores. O PBM foi determinado subtraindo a produção de CH_4 dos reatores de controle endógenos pela produção bruta de CH_4 dos reatores de trabalho (Holliger *et al.*, 2016).

Figura 28 – Delineamento experimental do teste de PBM.

Fonte: O autor (2025).

6.2.4 Processamento de Dados e Estudo Cinético

As principais variáveis de resposta referentes aos ensaios de PBM foram: Potencial Bioquímico de Metano (PBM, $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSSV}^{-1}$); eficiência de remoção de DQO (ER, %); rendimentos de produção de CH_4 por DQO removida (Y_1 , $\text{gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gDQO}_{\text{remov}}^{-1}$), aplicada (Y_2 , $\text{gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gDQO}_{\text{apl}}^{-1}$) e por massa de aditivo (Y_R , $\text{Nm}_{\text{LCH}_4} \text{ gAD}^{-1}$); composição de biogás (CH_4 , CO_2 e H_2S , %); velocidade de produção de CH_4 (k , d^{-1}), taxa máxima de produção de CH_4 (μ , $\text{NL}_{\text{CH}_4} \text{ KgSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e tempo de digestão técnica referente a síntese de 80% do PBM (T80, d). Os valores de pH e de nitrogênio amoniacal foram avaliados para analisar a estabilidade (bom funcionamento) dos digestores anaeróbios. As alterações nas comunidades microbianas ocasionadas pela influência dos diferentes aditivos e cargas aplicadas foram analisadas com o propósito de identificar os principais microrganismos atuantes na degradação anaeróbia da ARS e sugerir os potenciais parceiros, bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas, de transferência direta de elétrons interespecíficas (TDEI).

Para o tratamento estatístico dos dados, foi utilizado o *software* SISVAR (Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brasil) (Ferreira, 2019; FERREIRA, 2008). A análise de variância (one-way ANOVA) foi realizada com nível de confiança de 95% e probabilidade de 5% ($p < 0,05$). As médias foram comparadas pelo Teste de Scott & Knott, e seus valores foram apresentados seguidos por letras do tratamento estatístico, onde letras iguais reportam sem diferença significativa para $p < 0,05$. A vantagem do Teste de Scott & Knott em relação ao Teste de Tukey é proveniente do fato de que nenhuma média pode pertencer a mais de um agrupamento, ou seja, o teste determina a constituição de grupos disjuntos, sempre que for encontrada significância estatística na ANOVA, possibilitando, assim, robustez estatística e clareza nos resultados (Scott; Knott, 1974). A análise de variância e o teste de médias foram realizados abrangendo os valores dos parâmetros dos ensaios mesofílicos e termofílicos, possibilitando a comparação dos resultados.

As equações aplicadas para os cálculos dos rendimentos de produção de CH₄ e as fórmulas dos modelos matemáticos (Primeira Ordem-Exponencial, Gompertz-Modificado, Logístico e Transference) utilizados para extrair os valores dos parâmetros cinéticos são apresentados nas **Equações 6.S4 a 6.S11** presentes na **Tabela 25** do Material Suplementar. A aplicação desses modelos de produção já está consolidada na literatura técnica, mostrando eficácia para simular a produção de CH₄ em microbiomas anaeróbios (Rincón *et al.*, 2013). Análises de regressão não linear de mínimos quadrados foram realizadas utilizando a ferramenta Solver do *software* Microsoft Office Excel 2019, visando o ajuste das equações não lineares dos modelos selecionados aos dados experimentais de acúmulo de CH₄ no tempo. Esse método ajusta valores das variáveis do modelo visando minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre os valores previstos e os medidos (Etuwe *et al.*, 2016; Ware; Power, 2017). Para determinar a correlação entre os valores experimentais e preditos pelos modelos, foi calculado o coeficiente de determinação (R^2). A seleção do modelo que descreve melhor a cinética de metanização do substrato foi realizada usando as seguintes funções de erro: erro quadrático médio normalizado (NRMSE) e Critério de Informação de Akaike (AIC) (Lima *et al.*, 2018; Membere; Sallis, 2018). Quanto menor o valor dos erros, maior a adequação dos dados estimados pelo modelo cinético aos dados experimentais. As fórmulas utilizadas para calcular R^2 , NRMSE e AIC são apresentadas nas **Equações 6.S12 a 6.S14** do Material Suplementar.

6.2.5 Métodos Analíticos

A estabilidade operacional dos digestores foi analisada pelos valores iniciais e finais de pH, determinados em um pHmetro DM-20 (Digimed Analítica LTDA, Brasil), e pelas concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT) e suas frações, nitrogênio amoniacal livre (NAL) e íon amônio (NH_4^+), obtidas em um destilador de nitrogênio MA-036 (Marconi, Brasil). Para o cálculo dos parâmetros de eficiência e de rendimento de produção de CH_4 , foram realizadas análises de demanda química de oxigênio (DQO) total, particulada e solúvel ao início e ao final do experimento. As análises físico-químicas foram realizadas conforme o *Standard Methods for the Examination of Water; Wastewater* (APHA, 2017).

A quantificação da produção volumétrica de biogás foi realizada nos dias 0, 1, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, e 28 do experimento, por meio do registro da pressão acumulada no *headspace* de cada reator, utilizando um transdutor de pressão manométrica (Warne LTDA, Brasil). Uma amostra de 1 mL de biogás de cada reator foi analisada por cromatografia gasosa para determinar a composição do biogás (CH_4 , CO_2 , H_2S , N_2) (Morais *et al.*, 2021a). Nos experimentos em RSI 0,5 a composição de biogás foi analisada apenas ao final do teste de PBM, considerando, assim, que a proporção de CH_4 gerada em relação aos demais gases constituintes do biogás foi constante em todo o período experimental. Contudo, nos ensaios conduzidos em RSI 2,0 a análise de composição do biogás foi realizada sempre que a pressão interna dos reatores estava perto de exceder a pressão máxima registrada (999 mbar) pelo transdutor de pressão manométrica. Após a coleta da amostra e análise qualitativa do biogás, os *headspaces* dos reatores eram esvaziados para possibilitar o monitoramento da pressão de biogás e o estudo cinético de produção de CH_4 . As amostras de biogás foram coletadas usando seringas herméticas (SampleLock, Hamilton Company, EUA).

A composição do biogás foi analisada por cromatografia gasosa com detecção por descarga por ionização de barreira dielétrica (GC-BID, *gas chromatography-barrier ionization discharge*) (GC BID-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Japão), equipada com uma coluna GS GASPRO (60 m x 0,32 mm) (Agilent Technologies Inc., EUA). As temperaturas do forno, injetor e detector foram 250, 50 e 100 °C, respectivamente. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste em um fluxo de 2 mL min⁻¹, e o tempo de execução do método foi de 9 min (de Sousa e Silva *et al.*, 2024). A pressão interna do reator foi convertida em volume de CH_4 usando as Condições Normais de Temperatura e Pressão (CNTP) como referência [$P_{\text{ref}} = 1 \text{ atm}$ (1.013,25 mbar) e $T_{\text{ref}} = 273 \text{ K}$ (0°C)]. Assim, foi utilizado a porcentagem de CH_4 no biogás, a pressão registrada no manômetro (mbar) e um fator de conversão (mL $_{\text{CH}_4}$ mbar⁻¹) para obter o volume

gerado de CH₄ (Morais *et al.*, 2021a). As equações utilizadas para esses cálculos são apresentadas nas **Equações 4.S15 a 6.S17** do Material Suplementar.

A produção dos ácidos graxos voláteis (AGVs) foi mensurada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*), utilizando cromatógrafo HPLC LC-2050C 3D (Shimadzu Corporation, Japão), equipado com coluna SUPELCOGEL™ 8H (30 cm x 7,8 mm) (Merck Supelco, Alemanha) e pré-coluna SUPELCOGEL™ 8H (5 cm x 4,6 mm) (Merck Supelco, Alemanha), a 55° C, com H₂SO₄ 10 mM em água deionizada como eluente (fluxo isocrático de 1,0 mL min⁻¹) e Detector Arranjo de Diodo (*Diode Array Detector*, Shimadzu Corporation, Japão) a 45 °C. O tempo de execução do método foi de 32 min. Essa metodologia foi elaborada pela adaptação do método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes de reatores anaeróbios reportado por Rodrigues Cerqueira *et al.* (2011). Os AGVs quantificados pelo método são: ácido fórmico (CH₂O₂), ácido acético (C₂H₄O₂), ácido propiônico (C₃H₆O₂), ácido isobutírico (iso-C₄H₈O₂), ácido butírico (C₄H₈O₂), ácido isovalérico (iso-C₅H₁₀O₂) e ácido valérico (C₅H₁₀O₂). Para as análises cromatográficas e para as análises de DQO solúvel, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro com poro de 0,45 µm (EMD Millipore, EUA).

6.2.6 Sequenciamento Genético e Bioinformática

Foi utilizado PowerSoil® (MoBio Laboratories Inc., EUA) para a extração do DNA das amostras colhidas dos reatores. Foram analisadas 28 amostras, correspondentes a cada condição avaliada. Assim, cada triplicata gerou 1 amostra de biomassa. O Laboratório de Epidemiologia Molecular de Competência Analítica (*Analytical Competence Molecular Epidemiology Laboratory* – ACME Lab) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) em Ceará, Brasil foi responsável pelas análises de sequenciamento genético e processamento dos dados. A biblioteca de *amplicons* para a região V4 e V5 do gene 16S rRNA foi preparada conforme descrito por Illumina (2013) usando primers específicos da região (515F/806R). Esferas de purificação Agencourt AMPure XP - PCR (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA) foram utilizadas para limpar os produtos da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), os quais foram, posteriormente, quantificados com o kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em um Qubit Fluorômetro 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). O sequenciamento foi realizado via MiSeq 300-Cycle Reagent Kit v2 com um MiSeq Desktop Sequencer (Illumina).

As leituras de sequenciamento foram tratadas via DADA2 v1.28.0 (Callahan *et al.*, 2016). A classificação taxonômica das variantes de sequenciamento de *amplicons* (ASVs) foi

realizada com base na versão 5.1 do banco de dados MiDAS de microrganismos de lodo ativado e digestores anaeróbios (Dueholm *et al.*, 2024), usando o método assignTaxonomia do DADA2. O índice de diversidade alfa foi gerado com o comando `estimativa_richness` do pacote Phyloseq v1.44.0 (McMurdie; Holmes, 2013). As abundâncias absolutas das funções foram previstas com PICRUSt2 (Douglas *et al.*, 2020), que realiza um posicionamento filogenético dos ASVs montados em uma árvore de referência que contém 20.000 genes do banco de dados de Genomas Microbianos Integrados (IMG) (Markowitz *et al.*, 2012), utilizando as ferramentas HMMER (<http://www.hmmerr.org>), EPA-ng (Barbera *et al.*, 2019) e GAPPa (Czech; Stamatakis, 2019). Após a colocação filogenética, o PICRUSt2 prevê números de cópias individuais da família de genes para cada ASV usando o pacote Castor R (Louca; Doebeli, 2018).

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Performance dos Digestores Anaeróbios em RSI 0,5

O desempenho dos digestores mesofílicos e termofílicos foi aperfeiçoado pela aplicação dos materiais condutores (MCs) de elétrons. Os aditivos elevaram o teor de CH₄ no biogás, o potencial bioquímico de metano (PBM), os rendimentos de produção de CH₄ por DQO removida (Y₁), aplicada (Y₂) e por massa de aditivo adicionada (Y_R), a eficiência de remoção (ER) e otimizaram a cinética de metanização do substrato, aumentando a velocidade de produção (*k*) e a taxa máxima de produção (*μ*) de CH₄ e reduzindo o tempo de digestão técnica (T80) em detrimento ao controle (**Tabela 19**).

Tabela 19 – Rendimentos de produção de metano, parâmetros cinéticos e composições de biogás referentes aos ensaios mesofílicos e termofílicos realizados em razão substrato inóculo (RSI) 0,5 (valores médios).

Parâmetros	Digestão Anaeróbia Mesofílica						
	R _C	R _{SiO2}	R _{Fe3O4}	R _{CAG}	R _{FeVZ}	R _{Fe3O4+}	R _{FeVZ+}
PBM	196,4 ^a	203,3 ^a	210,5 ^b	195,7 ^a	234,5 ^d	200,8 ^a	219,5 ^c
ER	97,7 ^a	96,4 ^b	96,8 ^b	99,6 ^c	98,1 ^b	99,6 ^c	99,3 ^c
Y ₁	0,817 ^a	0,856 ^b	0,883 ^c	0,798 ^a	0,981 ^d	0,819 ^a	0,898 ^c
Y ₂	0,798 ^a	0,826 ^b	0,855 ^b	0,795 ^a	0,956 ^c	0,816 ^a	0,892 ^d
Y _R	-	13,79 ^a	28,10 ^b	-1,54 ^a	76,23 ^d	8,70 ^a	46,10 ^c
T80	4,4 ^a	4,4 ^a	3,7 ^b	3,7 ^b	3,8 ^b	3,7 ^b	3,7 ^b
<i>k</i>	0,359 ^a	0,386 ^a	0,446 ^b	0,467 ^c	0,423 ^b	0,486 ^c	0,446 ^b
<i>μ</i>	70,59 ^a	78,46 ^b	93,95 ^c	91,43 ^c	99,17 ^c	97,60 ^c	97,85 ^c
CH ₄	81,9 ^a	82,8 ^a	83,5 ^a	84,3 ^a	100,0 ^b	84,4 ^a	100,0 ^b
CO ₂	18,1 ^a	17,2 ^a	16,5 ^a	15,7 ^a	0,0 ^b	15,6 ^a	0,0 ^b

Parâmetros	Digestão Anaeróbia Termofílica						
	R _C	R _{SiO2}	R _{Fe3O4}	R _{CAG}	R _{FeVZ}	R _{Fe3O4+}	R _{FeVZ+}
PBM	199,0 ^a	207,1 ^b	220,2 ^c	215,8 ^c	244,1 ^e	210,0 ^b	223,9 ^c
ER	89,5 ^d	85,7 ^c	88,8 ^f	91,6 ^g	88,3 ^f	89,9 ^d	92,0 ^g
Y ₁	0,854 ^b	0,928 ^e	0,952 ^e	0,901 ^c	1,055 ^f	0,895 ^c	0,934 ^e
Y ₂	0,764 ^a	0,795 ^a	0,845 ^b	0,828 ^b	0,937 ^e	0,806 ^a	0,863 ^b
Y _R	-	16,20 ^a	42,32 ^e	33,52 ^b	90,04 ^d	21,85 ^b	49,66 ^c
T80	7,0 ^c	6,4 ^d	7,4 ^e	6,9 ^c	8,1 ^e	6,6 ^d	6,3 ^d
<i>k</i>	0,239 ^d	0,271 ^d	0,256 ^d	0,257 ^d	0,237 ^d	0,250 ^d	0,272 ^d
<i>μ</i>	46,72 ^d	59,58 ^e	59,79 ^e	59,91 ^e	63,60 ^e	53,75 ^f	63,43 ^e
CH ₄	75,3 ^c	75,7 ^c	80,3 ^d	79,5 ^d	90,4 ^e	75,6 ^c	82,1 ^a
CO ₂	24,7 ^c	24,3 ^c	19,7 ^d	20,5 ^d	9,6 ^c	24,4 ^c	17,9 ^a

Legenda: PBM: potencial bioquímico de metano (NL_{CH₄} kgSSV⁻¹); PPB: potencial de produção de biogás (NL_{biogás} kgSSV⁻¹); ER: eficiência de remoção de matéria orgânica (%); Y₁: rendimento de produção de CH₄ por DQO removida (gDQO_{CH₄} gDQO_{remov}⁻¹); Y₂: rendimento de produção de CH₄ por DQO aplicada (gDQO_{CH₄} gDQO_{apl}⁻¹); Y_R: rendimento de produção de CH₄ por massa de aditivo adicionada (NmL_{CH₄} gAD⁻¹); T80: tempo de digestão técnica referente ao tempo de produção de 80% do PBM (d); *k*: velocidade de produção de CH₄ (d⁻¹); *μ*: taxa máxima de produção de CH₄ (NL_{CH₄} KgSSV⁻¹ d⁻¹); CH₄: teor de metano no biogás (%); CO₂: teor de dióxido de carbono no biogás (%). Letras iguais significam que não há diferença significativa (*p* < 0,05) para o mesmo parâmetro. A análise de variância e o teste de médias foram realizados abrangendo os valores dos parâmetros dos ensaios mesofílicos e termofílicos, possibilitando a comparação dos resultados.

Fonte: O autor (2025).

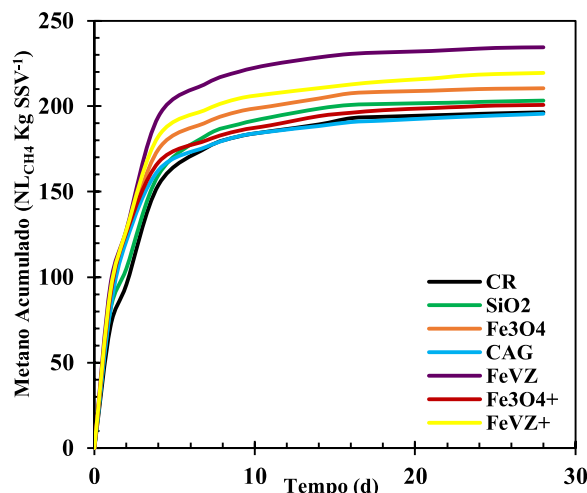
6.3.1.1 Cinética de Metanização em RSI 0,5

As curvas cumulativas de metano (CCMs) apresentaram forma de L invertido, as quais indicam rápida produção de CH₄, elevada afinidade microbiológica ao substrato, ausência ou curto tempo de inicialização de geração de CH₄ (fase *lag*, λ), elevada biodegradabilidade anaeróbia do substrato e a não ocorrência de inibição da metanogênese (WARE; POWER, 2017) (**Figura 29A e 29B**). Esse resultado é sustentado pelo período prévio de adaptação da biomassa ao substrato e às condições operacionais do experimento. O modelo Transference foi o mais adequado para o ajuste cinético, apresentando valores de R² iguais ou superiores a 0,990 para as CCMs mesofílicas e 0,950 para as CCMs termofílicas e baixos valores de AIC quando comparado aos outros modelos matemáticos utilizados (**Tabela 26**). Por esse modelo foi possível extrair os valores de μ . O modelo Primeira Ordem Exponencial também apresentou elevada aderência, possibilitando a obtenção de k . As curvas geradas pelos ajustes cinéticos são apresentadas nas **Figura 29C e 29D**. Devido à rápida produção de CH₄, o ajuste cinético, independentemente do modelo aplicado, indicou ausência de fase *lag* ($\lambda = 0$) em todas as condições avaliadas em RSI 0,5. Por isso, esse parâmetro foi suprimido da **Tabela 19**.

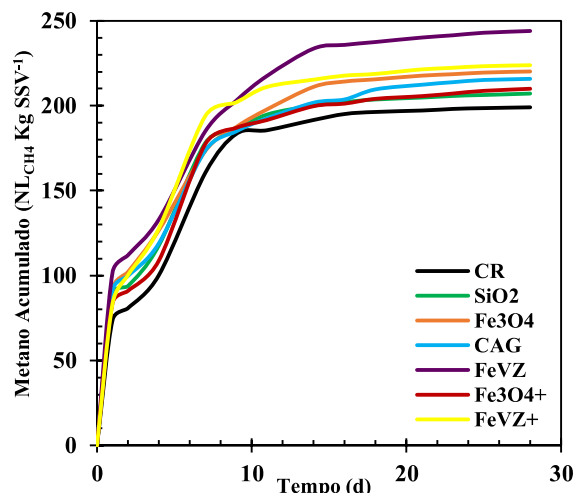
A digestão anaeróbia mesofílica (DAM) apresentou cinética aprimorada (maior valor de k , de μ e menor valor de T80) em relação a digestão anaeróbia termofílica (DAT), o que é visível pelas CCMs (**Figura 29**). Nesse cenário, o k (0,359 d⁻¹) e o μ (70,59 NL_{CH₄} Kg_{SSV}⁻¹ d⁻¹) do controle mesofílico foram 50,8% e 55,8%, respectivamente, superiores aos valores desses parâmetros cinéticos no controle termofílico ($k = 0,239$ d⁻¹ e $\mu = 46,72$ NL_{CH₄} Kg_{SSV}⁻¹ d⁻¹). Além disso, apesar da ausência de fase de latência em todos os digestores, a metanização mesofílica da ARS foi mais acelerada do que a termofílica, atingindo 80% de formação de CH₄ em menos tempo (**Figura 29**). O T80 corresponde ao tempo em que 80% do volume total de CH₄ foi produzido e é utilizado para avaliar a eficiência da cinética de biometanização de substratos orgânicos e para estimar o tempo de detenção hidráulica (TDH) de reatores anaeróbios sob fluxo contínuo de alimentação (Córdoba *et al.*, 2018). Os reatores mesofílicos tiveram T80 na faixa de 3,7 a 4,4 dias, enquanto os termofílicos precisaram de 6,3 a 8,1 dias para formar 80% do PBM (**Tabela 19**). O melhor desempenho cinético dos digestores mesofílicos está relacionado com a maior atividade metanogênica específica (AME) do inóculo mesofílico (AME = 0,759 ± 0,01 gDQO_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹) em comparação com a do inóculo termofílico (AME = 0,665 ± 0,10 gDQO_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹).

Figura 29 – CCMs experimentais e geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos do teste de PBM mesofílico e termofílico em RSI 0,5 (curva média).

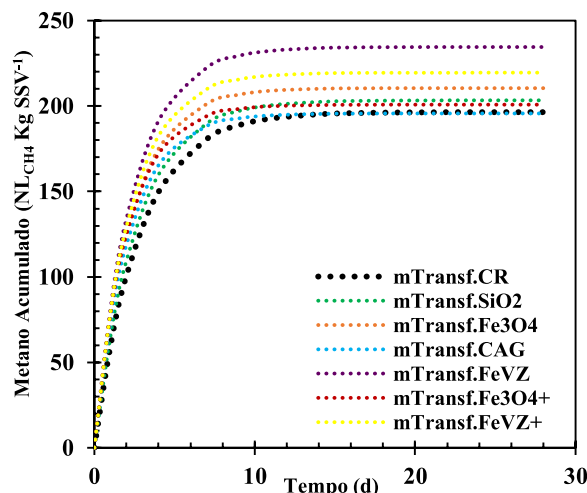
6.3A. CCMs do ensaio mesofílico.



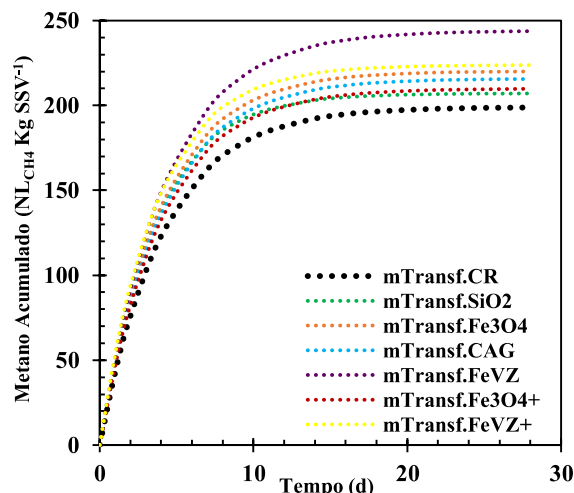
6.3B. CCMs do ensaio termofílico.



6.3C. Ajuste cinético do ensaio mesofílico.



6.3D. Ajuste cinético do ensaio termofílico.



Legenda: CCMs: curvas cumulativas de metano; PBM: potencial bioquímico de metano; RSI: razão substrato inóculo (RSI). As linhas sólidas representam as CCMs geradas a partir dos dados experimentais. As linhas tracejadas expressam as CCMs geradas pelo ajuste cinético ao modelo matemático mais adequado para cada tratamento estatístico do teste de PBM. mTransf: CCM gerada pelo modelo Transference. CR: controle; SiO₂: dióxido de silício; Fe₃O₄: nanomagnetita; CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄+: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; FeVZ+: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular. As barras de erro que indicam o desvio padrão foram suprimidas para beneficiar a visualização das CCMs médias.

Fonte: O autor (2025).

Na DAM, os reatores aditivados com carvão ativado granular (CAG) e com a associação de nanomagnetita (Fe₃O₄) e CAG (Fe₃O₄+CAG) foram os que apresentaram maiores valores de k em relação ao controle (29,9% e 35,3%, respectivamente). Enquanto isso, os digestores com a combinação de ferro de valência zero (FeVZ) e CAG (FeVZ+CAG) e os com FeVZ aumentaram o μ em 38,6% e 40,5%, nessa ordem, em relação ao controle. Na DAT, os aditivos elevaram os valores médios de k , mas a análise de variância não indicou diferença estatística significativa. Consequentemente, o teste de médias agrupou todos os valores em um

mesmo grupo estatístico (**Tabela 19**). Apesar disso, os digestores que receberam CAG e as associações apresentaram, em média, valor de k superior ao controle. Todos os materiais elevaram o valor de μ , com destaque para o FeVZ e para a combinação FeVZ+CAG. Esses aditivos aumentaram o valor de μ de $46,72 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ no controle para $63,60 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $63,43 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, correspondendo a acréscimos de 35,5% e 35,8%, respectivamente.

É notório que a aplicação de CAG e de suas associações foram as condições que mais impactaram positivamente a cinética de metanização, elevando a velocidade de produção de CH_4 e diminuindo o T80 nos digestores mesofílicos e termofílicos (**Tabela 19**). Nesse caso, o CAG reduziu o T80 de $4,4 \pm 0,4$ dias no controle mesofílico para $3,70 \pm 0,1$ dias e as combinações Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG diminuíram o T80 de $7,0 \pm 0,2$ dias no controle termofílico para $6,6 \pm 0,2$ dias e $6,3 \pm 0,5$ dias, respectivamente. Isso ocorreu devido ao CAG possuir elevada porosidade e área superficial, propriedades que conferem a esse material elevada capacidade de adsorção e adesão. Assim, o CAG pode reter microrganismos em sua superfície, contribuindo para a formação de biofilme e para o enriquecimento de bactérias sintróficas e de arqueias metanogênicas, além de adsorver matéria orgânica e facilitar seu consumo, acelerando a produção de CH_4 (Kalantzis *et al.*, 2023). O CAG tem a capacidade de conduzir elétrons por sua superfície mediante reações de oxidação-redução, facilitando o estabelecimento de transferência direta de elétrons interespecies (TDEI) entre bactérias fermentativa e arqueias metanogênicas, substituindo a função de proteínas condutoras de elétrons, como os citocromos do tipo c (OmcS) e os pili eletricamente condutores (e-pili) (Cavalcante *et al.*, 2021).

Enquanto isso, o FeVZ foi o mais proeminente em aumentar os valores de μ . Isso está relacionado a elevada capacidade desse aditivo em estimular a TDEI e atuar por diversos mecanismos no bom funcionamento de digestores anaeróbios (Chen *et al.*, 2020). Contudo, alguns estudos indicam que a presença de ferro organicamente ligado à biomassa anaeróbia pode prolongar fase *lag* e o início da produção de CH_4 (Shen *et al.*, 2021). Isso ocorre porque os íons de ferro gerados pela corrosão do FeVZ podem depositar-se sobre a membrana celular dos microrganismos anaeróbios e dificultar os processos de hidrólise, acidificação e transferência de nutrientes para o meio intracelular (Xu *et al.*, 2017). Esse motivo pode justificar o maior T80 nos reatores aditivados com FeVZ (**Tabela 19**).

Nesse contexto, Dai *et al.* (2022) também reportaram benefícios do efeito sinérgico de CAG (8 mesh) e de FeVZ (100 mesh). Os autores avaliaram a DAM de águas residuárias farmacêuticas em reatores batelada com 80 mL de volume útil mantidos a 37 °C e 120 rpm por

35 dias. Foram avaliados 20 g L⁻¹ de FeVZ, 20 g L⁻¹ de CAG e uma mistura de 20 g L⁻¹ de FeVZ mais 20 g L⁻¹ de CAG. A aplicação conjunta dos aditivos proporcionou os melhores resultados para o processo anaeróbio, reduzindo a λ em 15,8%, elevando o μ em 171,8% e aumentando o Y_1 de 271,7 mL_{CH₄} gDQO⁻¹ no controle para 301,1 mL_{CH₄} gDQO⁻¹, o que correspondia a um acréscimo de 10,8%. Assim como no presente trabalho, Dai *et al.* (2022), atribuíram os resultados obtidos pela capacidade do FeVZ e do CAG em atuar como canais eletrônicos para regular a sincronização elétrica entre acidificação hidrolítica e processos metanogênicos, além de estimular TDEI e diversificar as rotas metanogênicas ao enriquecer arqueias hidrogenotróficas e metilotróficas. O efeito dos aditivos sobre as comunidades de bactérias e de arqueias é detalhado na **seção 6.3.4**.

6.3.1.2 Rendimentos de Produção de Metano em RSI 0,5

A DAM apresentou maior ER do que a DAT (**Tabela 19**). Isso ocorreu devido a uma parcela da matéria orgânica ter permanecido como ácido acético (entre 8,4 e 52,3 mg L⁻¹) e ácido butírico (entre 2,4 e 6,2 mg L⁻¹) nos digestores termofílicos ao final do teste de PBM. Enquanto isso, não foi detectado AGVs de cadeia curta no efluente dos digestores mesofílicos. Esse resultado indica que, apesar da fermentação acelerada na DAT, as biomassas mesofílicas apresentaram maior potencial de realizar oxidação sintrófica de AGVs.

Analisando a influência dos aditivos nos parâmetros de produção de CH₄ e remoção de matéria orgânica da DAM da ARS, obteve-se que os reatores aditivados com FeVZ e com a associação FeVZ+CAG apresentaram os maiores valores de PBM, Y_1 , Y_2 e Y_R (**Tabela 19**). A aplicação de FeVZ elevou o PBM de 196,4 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹ no controle para 234,5 NL_{CH₄} kgSSV⁻¹, correspondendo a um aumento de 19,4%. Ainda comparando com o controle, esse aditivo elevou o Y_1 em 20,1% e o teor de CH₄ no biogás em 22,1%. Destaca-se que o FeVZ purificou o biogás, o qual foi composto por 100% de CH₄ e traços de CO₂. Isso foi possibilitado pela elevada capacidade redutora do FeVZ, o qual em meio anaeróbio sofre oxidação, gerando H₂, OH⁻ e Fe²⁺. O H₂ exógeno (aquele que não foi sintetizado a partir da DA do substrato) atua como um *booster* para a metanogênese hidrogenotrófica (MH), estimulando o consumo de CO₂ para a síntese de CH₄ e, consequentemente, elevando os rendimentos de produção (Ye *et al.*, 2021). Além disso, o FeVZ promove a produção e a ativação de enzimas acidogênicas, como acetato quinase, piruvato-ferredoxina oxidorreductase, fosfotransacetilase, butirato quinase e fosfotransbutirilase, e metanogênicas, como a hidrogenase redutora de F420 (HrF420), o que contribui para oxidação sintrófica de propionato e butirato, aumentando a

quantidade de substratos (acetato e H_2) para as arqueias metanogênicas (He *et al.*, 2022). O FeVZ também apresentou o maior Y_R ($76,23 \text{ NmL}_{CH_4} \text{ gFeVZ}^{-1}$), reforçando sua capacidade em aprimorar a DAM da ARS. Os digestores que receberam 2 gCAG L^{-1} apresentaram elevada ER (99,6%), mas teor de CH_4 no biogás (84,3%) semelhante aos outros digestores, com exceção dos que receberam FeVZ, mas retornaram valores baixos de PBM ($234,5 \text{ NL}_{CH_4} \text{ kgSSV}^{-1}$), de Y_1 ($0,798 \text{ gDQO}_{CH_4} \text{ gDQO}_{remov}^{-1}$) e de Y_2 ($0,795 \text{ gDQO}_{CH_4} \text{ gDQO}_{apl}^{-1}$), indicando que o CAG adsorveu matéria orgânica e que uma parcela desta se tornou indisponível aos microrganismos anaeróbios, limitando a produção de CH_4 .

Na DAT, o impacto dos aditivos sobre os parâmetros de rendimento foi mais notório. O PBM do controle ($199,0 \text{ NL}_{CH_4} \text{ kgSSV}^{-1}$) foi elevado em 4,1%, 10,6%, 8,4%, 22,6%, 5,5% e 12,5% nos digestores que receberam SiO_2 , Fe_3O_4 , CAG, FeVZ, Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG, respectivamente. Assim como na DAM, o FeVZ foi o material que mais beneficiou o processo, apresentando os maiores valores de Y_1 ($1,055 \text{ gDQO}_{CH_4} \text{ gDQO}_{remov}^{-1}$), Y_2 ($0,937 \text{ gDQO}_{CH_4} \text{ gDQO}_{apl}^{-1}$) e de teor de CH_4 (90,4%), correspondendo a acréscimos em detrimento ao controle de 23,6%, 22,6% e 20,0%. Além disso, esse material apresentou o maior Y_R ($90,04 \text{ NmL}_{CH_4} \text{ gFeVZ}^{-1}$) dos ensaios realizados em RSI 0,5.

O efeito positivo do FeVZ na metanização de resíduos orgânicos também foi relatado em outros estudos. Por exemplo, Li *et al.* (2023b), analisaram o impacto do FeVZ ($150 \mu\text{m}$) na DAT de lodo ativado residual. O estudo foi conduzido em reatores de vidro de 200 mL de volume reacional mantidos em incubação por 32 dias a 55°C no banho-maria. As doses de FeVZ avaliadas foram: 0, 25, 100 e 250 mg gST^{-1} , as quais elevaram a produção de CH_4 em 0,8 ($5,16 \text{ mL gST}^{-1}$), 11,9 ($34,10 \text{ mL gST}^{-1}$) e 12,0 ($34,43 \text{ mL gST}^{-1}$) vezes, respectivamente, em detrimento ao controle. Além disso, as doses mais altas aumentaram o consumo de AGVs e fortaleceram a atividade de enzimas envolvidas em vias metanogênicas, como formilmetanofurano desidrogenase e coenzima F420 hidrogenase. O Fe^{2+} advindo da oxidação do FeVZ enriqueceu microrganismos funcionais envolvidos na DAT, como *Methanothermobacter*, a qual teve abundância relativa aumentada em 22,8% em comparação com a biomassa do controle. O enriquecimento dessa arqueia metanogênica termofílica pela influência do FeVZ também foi observado no presente trabalho (seção 6.3.4).

Assim como na DAM, o CAG adsorveu e indisponibilizou matéria orgânica nos ensaios termofílicos, pois apresentou maior ER (91,6%), mas não o maior valor de PBM ($215,8 \text{ NL}_{CH_4} \text{ kgSSV}^{-1}$). Contudo, diferentemente dos ensaios mesofílicos, o CAG contribuiu na produção volumétrica de CH_4 , com Y_R igual a $33,52 \text{ NmL}_{CH_4} \text{ gCAG}^{-1}$, enquanto na DAM o valor médio desse parâmetro foi $-1,54 \text{ NmL}_{CH_4} \text{ gCAG}^{-1}$ (Tabela 19). Assim como neste

trabalho, Tiwari *et al.* (2021), reportaram benefícios da adição de CAG (2-5 mm). Os autores avaliaram a codigestão anaeróbia termofílica de casca de trigo e lodo de esgoto. O ensaio de PBM foi realizado em reatores de vidro de 1L, os quais foram mantidos a 55 °C com agitação orbital de 100 rpm por 51 dias. Foram avaliadas cinco doses de aditivo, sendo elas 10, 20, 30, 40 e 50 g L⁻¹ de inóculo. A dose ótima foi de 20 g L⁻¹, a qual tornou o processo anaeróbio mais estável, mantendo o pH entre 6,5 e 8,0, e elevou o rendimento de biogás (273 mL gVS⁻¹) em 22% em relação ao controle. Doses superiores a 20 g L⁻¹ reduziram a produção de biogás para valores inferiores ao controle. Isso foi justificado pelo fato de que elevadas doses de CAG podem ocasionar toxicidade de carbono aos microrganismos anaeróbios, induzindo a estresse oxidativo e, conseqüentemente, a redução da atividade metabólica. Em contraponto, o presente trabalho demonstrou que uma menor dose de CAG (2 g L⁻¹) já é suficiente para influenciar positivamente a metanização de substratos orgânicos ricos em matéria orgânica particulada, como a ARS, minimizando os riscos de toxicidade aos microrganismos anaeróbios.

Realça-se que a Fe₃O₄ teve um efeito mais promissor na DAT do que na DAM. Em condições termofílicas, esse aditivo elevou em 10,6%, 11,5% e 6,6% o PBM, o Y₁ e o teor de CH₄, respectivamente, em relação ao controle, ao passo que em condições mesofílicas os acréscimos nesses parâmetros foram 7,2%, 8,1% e 2,0%, nessa sequência. A Fe₃O₄ é um material comumente utilizado para aprimorar a DA de resíduos orgânicos devido viabilizar a transferência extracelular de elétrons (TDEI) por meio de reações de oxidação-redução, como o ciclo redox do ferro (Feng *et al.*, 2023). Nesse processo, bactérias redutoras de ferro (BRF) oxidam matéria orgânica e reduzem óxido de ferro (III) à óxido de ferro (II), o qual promove a transferência de elétrons para a síntese de CH₄ via redução de CO₂. Posteriormente, o Fe(II) é oxidado novamente a Fe (III) mineral ou é readsorvido ao Fe (III) (mineral), formando Fe₃O₄, através da reprecipitação (XU *et al.*, 2019). Assim, a ciclagem dinâmica bioquímica entre Fe(III)(mineral)-Fe(II)-Fe(III)(mineral) pode mediar e acelerar a produção de CH₄. Além desse mecanismo, a Fe₃O₄ atua no transporte de elétrons de curto alcance ao associar-se aos e-pili, elevando a taxa de transferência de elétrons dessa proteína, estimula a secreção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) com alta capacidade de aceitar e doar elétrons e enriquece microrganismos capazes de realizar TDEI (Peng *et al.*, 2018; Ueki *et al.*, 2018).

6.3.2 Performance dos Digestores Anaeróbios em RSI 2,0

Nos ensaios em RSI 2,0, os aditivos também exerceram impacto positivo sobre a *performance* dos digestores anaeróbios, principalmente no que tange ao aumento do PBM, dos

rendimentos de produção (Y_1 , Y_2 e Y_R) e da ER (**Tabela 20**). A cinética metanogênica também foi aperfeiçoada pela aplicação dos aditivos, principalmente o CAG nos ensaios mesofílicos e a Fe_3O_4 e as associações de materiais nos testes termofílicos.

Tabela 20 – Rendimentos de produção de metano, parâmetros cinéticos e composições de biogás referentes aos ensaios mesofílicos e termofílicos realizados em razão substrato inóculo (RSI) 2,0 (valores médios).

Parâmetros	Digestão Anaeróbia Mesofílica						
	R_C	R_{SiO_2}	$R_{Fe_3O_4}$	R_{CAG}	R_{FeVZ}	$R_{Fe_3O_4+}$	R_{FeVZ+}
PBM	579,8 ^a	568,2 ^a	574,1 ^a	643,5 ^b	616,8 ^c	604,7 ^c	603,3 ^c
ER	93,8 ^a	93,1 ^a	93,3 ^a	96,1 ^b	94,5 ^c	93,8 ^a	94,5 ^c
Y_1	0,758 ^a	0,751 ^a	0,757 ^a	0,823 ^b	0,802 ^b	0,792 ^b	0,784 ^b
Y_2	0,712 ^a	0,698 ^a	0,705 ^a	0,791 ^b	0,758 ^c	0,743 ^c	0,741 ^c
Y_R	-	-23,14 ^a	-11,27 ^a	127,49 ^b	74,09 ^c	49,77 ^c	41,81 ^c
T80	5,7 ^a	6,4 ^b	6,5 ^b	5,3 ^a	6,3 ^b	5,6 ^a	6,6 ^b
k	0,272 ^a	0,258 ^b	0,240 ^b	0,299 ^c	0,254 ^b	0,272 ^a	0,251 ^b
μ	157,58 ^a	139,79 ^b	139,60 ^b	198,96 ^c	162,31 ^d	168,24 ^e	151,82 ^f
CH₄	76,3 ^a	75,6 ^a	75,1 ^a	75,5 ^a	74,2 ^a	75,9 ^a	74,6 ^a
CO₂	25,4 ^a	25,4 ^a	25,4 ^a	25,4 ^a	25,4 ^a	25,4 ^a	25,4 ^a

Parâmetros	Digestão Anaeróbia Termofílica						
	R_C	R_{SiO_2}	$R_{Fe_3O_4}$	R_{CAG}	R_{FeVZ}	$R_{Fe_3O_4+}$	R_{FeVZ+}
PBM	419,0 ^d	435,8 ^d	554,1 ^a	493,0 ^e	522,0 ^f	558,6 ^a	530,7 ^f
ER	83,3 ^d	82,4 ^d	84,3 ^e	86,5 ^f	80,4 ^g	86,4 ^f	84,9 ^e
Y_1	0,550 ^c	0,578 ^c	0,716 ^d	0,626 ^c	0,708 ^d	0,706 ^d	0,684 ^d
Y_2	0,458 ^d	0,476 ^d	0,605 ^e	0,539 ^f	0,570 ^g	0,610 ^e	0,580 ^g
Y_R	-	33,51 ^c	270,19 ^e	148,00 ^b	205,99 ^d	279,16 ^e	198,57 ^d
T80	14,1 ^c	17,3 ^d	13,5 ^e	14,3 ^c	15,1 ^c	13,5 ^e	12,6 ^c
k	-	-	-	-	-	-	-
μ	27,20 ^g	32,93 ^g	37,78 ^h	30,51 ^g	31,85 ^g	37,37 ^h	36,24 ^h
CH₄	70,9 ^b	67,9 ^c	72,3 ^b	71,5 ^b	73,7 ^b	71,3 ^b	71,6 ^b
CO₂	29,1 ^b	32,1 ^c	27,7 ^b	28,5 ^b	26,3 ^b	28,7 ^b	28,4 ^b

Legenda: PBM: potencial bioquímico de metano (NL_{CH_4} kgSSV⁻¹); PPB: potencial de produção de biogás ($NL_{biogás}$ kgSSV⁻¹); ER: eficiência de remoção de matéria orgânica (%); Y_1 : rendimento de produção de CH₄ por DQO removida ($gDQO_{CH_4} gDQO_{remov}^{-1}$); Y_2 : rendimento de produção de CH₄ por DQO aplicada ($gDQO_{CH_4} gDQO_{apl}^{-1}$); Y_R : rendimento de produção de CH₄ por massa de aditivo adicionada ($NmL_{CH_4} g_{AD}^{-1}$); T80: tempo de digestão técnica referente ao tempo de produção de 80% do PBM (d); k : velocidade de produção de CH₄ (d⁻¹); μ : taxa máxima de produção de CH₄ ($NL_{CH_4} KgSSV^{-1} d^{-1}$); CH₄: teor de metano no biogás (%); CO₂: teor de dióxido de carbono no biogás (%). Os valores de k para a DAT em RSI 2,0 não foram apresentados devido o modelo de Primeira Ordem Exponencial apresentar baixa aderência ao ajuste cinético, tornando os valores desse parâmetro não confiáveis para comparação. Letras iguais significam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) para o mesmo parâmetro. A análise de variância e o teste de médias foram realizados abrangendo os valores dos parâmetros dos ensaios mesofílicos e termofílicos, possibilitando a comparação dos resultados.

Fonte: O autor (2025).

6.3.2.1 Cinética de Metanização em RSI 2,0

As CCMs mesofílicas apresentaram formas predominantemente exponenciais, indicando que mesmo com uma maior aplicação de matéria orgânica (8 gDQO L⁻¹) em RSI 2,0, a biomassa mesofílica foi capaz de degradar eficientemente o substrato fornecido (**Figura 30A**). Em contraponto, as CCMs termofílicas apresentaram um padrão mais lento e gradual de

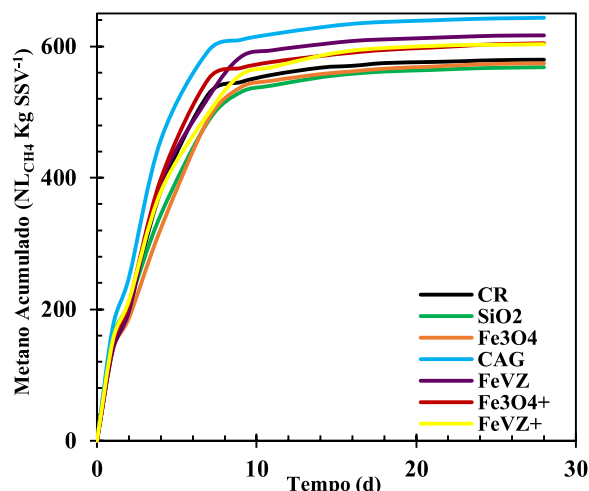
produção de CH_4 , sugerindo a instabilidade dos digestores anaeróbios e a ocorrência de processos que limitaram temporariamente a metanogênese (Morais *et al.*, 2021b) (**Figuras 30B e 30B**). Portanto, compreende-se que para uma maior carga orgânica aplicada em sistemas termofílicos é necessária uma maior dose de aditivos condutores para acelerar a cinética metanogênica e vencer os fatores de instabilidade comuns a esse tipo de digestor.

Os principais fatores que estão relacionados à instabilidade de digestores termofílicos são: a rápida taxa de hidrólise da matéria orgânica ocasiona um descompasso entre o consumo e a produção de intermediários da digestão anaeróbia, como H_2 . Isso pode ocasionar o acúmulo de AGVs devido à inibição termodinâmica da oxidação sintrófica de propionato e de butirato em acetato, retardando a disponibilização de substrato (acetato) para a metanogênese (YAN *et al.*, 2017). Além disso, o acúmulo de nitrogênio amoniacal total (NAT) e de suas frações, nitrogênio amoniacal livre (NAL) e íon amônio (NH_4^+), também podem gerar instabilidades na produção de CH_4 , pois teores elevados desses compostos podem ser tóxicos às arqueias metanogênicas (Ryue *et al.*, 2020). Não houve acúmulo de AGVs e de nitrogênio amoniacal em níveis inibitórios, mas acúmulos transientes de AGVs retardaram a síntese de CH_4 . Os parâmetros de estabilidade dos digestores, como pH, NAT, NAL e AGVs serão discutidos e detalhados na **seção 6.3.3**.

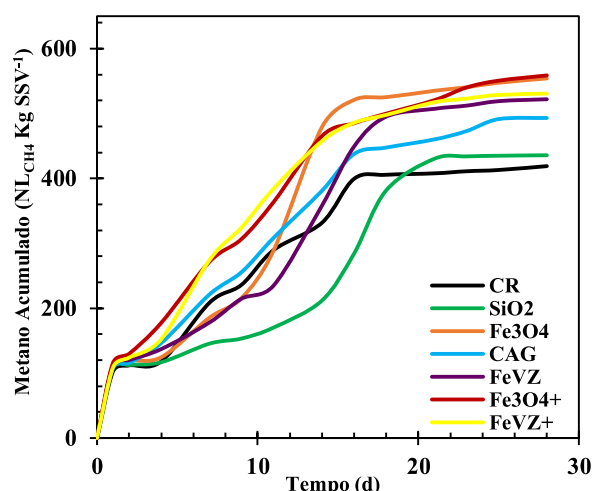
Assim como nos ensaios em RSI 0,5, o modelo Transference e o Primeira Ordem Exponencial foram os mais fidedignos para o ajuste cinético das CCMs mesofílicas e para a extração dos parâmetros cinéticos que governam a produção de CH_4 , retornando valores de R^2 iguais ou superiores a 0,990 e baixos valores de AIC quando comparados aos outros modelos aplicados (**Tabela 27**). Enquanto isso, o modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético dos perfis de acumulação de CH_4 dos digestores termofílicos, com valores de R^2 iguais ou superiores a 0,968 (**Tabela 27**). Devido ao formato das CCMs termofílicas, o modelo Primeira Ordem Exponencial não apresentou aderência satisfatória para todas as condições avaliadas, reduzindo a confiabilidade do ajuste cinético e impossibilitando o uso dos valores do parâmetro k . Com efeito, a cinética de metanização termofílica em RSI 2,0 foi discutida com base nas formas das CCMs e pelos valores dos parâmetros T_{80} e μ . As curvas geradas pelos ajustes cinéticos são apresentadas nas **Figura 30C e 30D**.

Figura 30 – CCMs experimentais e geradas pelo ajuste cinético aos modelos matemáticos do teste de PBM mesofílico e termofílico em RSI 2,0 (curva média).

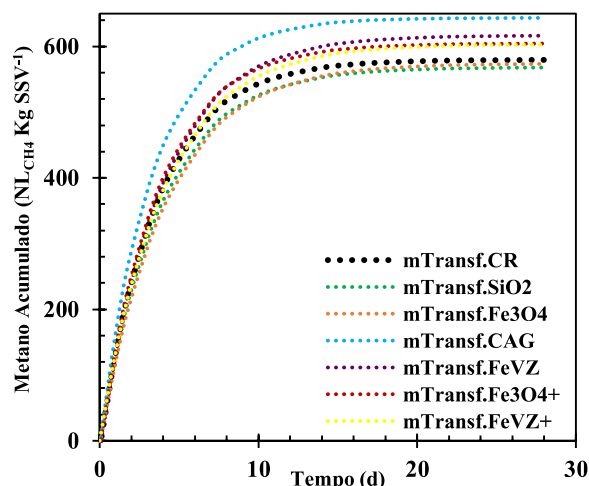
6.4A. CCMs do ensaio mesofílico.



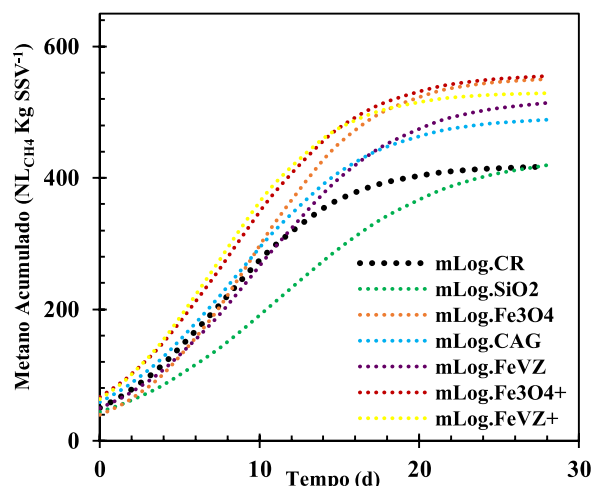
6.4B. CCMs do ensaio termofílico.



6.4C. Ajuste cinético do ensaio mesofílico.



6.4D. Ajuste cinético do ensaio termofílico.



Legenda: CCMs: curvas cumulativas de metano; PBM: potencial bioquímico de metano; RSI: razão substrato inóculo (RSI). As linhas sólidas representam as CCMs geradas a partir dos dados experimentais. As linhas tracejadas expressam as CCMs geradas pelo ajuste cinético ao modelo matemático mais adequado para cada tratamento estatístico do teste de PBM. mTransf: CCM gerada pelo modelo Transference. mLog: CCM gerada pelo modelo Logístico. CR: controle; SiO₂: dióxido de silício; Fe₃O₄: nanomagnetita; CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄+: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; FeVZ+: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular. As barras de erro que indicam o desvio padrão foram suprimidas para beneficiar a visualização das CCMs médias.

Fonte: O autor (2025).

Igualmente aos ensaios em RSI 0,5, o ajuste cinético indicou ausência de fase *lag* ($\lambda = 0$) em todas as condições avaliadas em RSI 2,0. Geralmente curvas em formato de S alongado apresentam um tempo de latência, mas a modelagem cinética não indicou a presença dessa etapa. Isso ocorreu devido à elevada AME das biomassas mesofílicas (BMs) e termofílicas (BTs) que propicia um rápido consumo de matéria orgânica solúvel e uma elevada produção de CH₄ nos primeiros dias do experimento (**Figura 30B**).

A cinética de metanização da ARS teve melhor desempenho em condições mesofílicas, apresentando maiores valores de μ e menores de T80 em detrimento ao processo termofílico. Como exemplo, o μ ($157,58 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$) do controle mesofílico foi superior em 479% ao valor desse parâmetro no controle termofílico ($\mu = 27,20 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Somando-se a isso, o T80 foi atingido mais rápido na DAM (entre 5,3 e 6,6 d) do que na DAT (entre 12,6 e 17,3 d), independentemente da ação dos aditivos (**Tabela 20**).

Na DAM, o CAG apresentou melhor eficiência cinética, elevando o k de $0,272 \text{ d}^{-1}$ e o μ de $157,58 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ no controle para $0,299 \text{ d}^{-1}$ e $198,96 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, correspondendo a acréscimos de 10,2% e 26,3%, nessa sequência. Além disso, esse material reduziu o T80 de 5,7 dias para 5,3 dias. Enquanto isso, a aplicação de Fe_3O_4 , Fe_3O_4 +CAG e FeVZ +CAG foram as condições que mais aumentaram o μ ($27,20 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ Kg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$) na DAT da ARS, elevando o valor desse parâmetro cinético em 38,9%, 37,4% e 33,2%, respectivamente. Em consonância, o T80 foi reduzido de 14,1 dias para 13,5, 13,5 e 12,6 dias pelo efeito desses materiais (**Tabela 20**).

6.3.2.2 Rendimentos de Produção de Metano em RSI 2,0

Assim como em RSI 0,5, em RSI 2,0, a DAM apresentou maior ER, PBM e rendimentos de produção de CH_4 do que a DAT (**Tabela 20**). Isso está relacionado a maior concentração residual de AGVs nos digestores termofílicos em detrimento aos digestores mesofílicos (**Tabela 21**). Além de uma parcela da matéria orgânica ter permanecido como ácido acético (entre $82,1$ e $375,2 \text{ mg L}^{-1}$), também ocorreu o acúmulo de ácido propiônico (entre $27,3$ e $431,3 \text{ mg L}^{-1}$), ácido isovalérico (entre $7,3$ e $232,3 \text{ mg L}^{-1}$) e ácido valérico (entre $100,8$ e $210,3 \text{ mg L}^{-1}$), ou seja, intermediários que não podem ser convertidos diretamente a CH_4 pelas arqueias metanogênicas, sendo necessário, para isso, a atuação prévia de bactérias sintróficas. Esse resultado reforça a elevada capacidade acidogênica e acetogênica das biomassas mesofílicas em comparação às termofílicas.

Tabela 21 – Concentração de ácidos graxos voláteis em cada grupo de reatores ao final do teste de PBM (valores médios).

Digestão Anaeróbia Mesofílica												
Reatores	RSI 0,5						RSI 2,0					
	C2	C3	Iso-C4	C4	Iso-C5	C5	C2	C3	Iso-C4	C4	Iso-C5	C5
R_C	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	21,3	ND	ND
R_{SiO2}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	23,2	ND	ND
R_{Fe3O4}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	39,9	ND	ND
R_{CAG}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10,1	ND	ND
R_{FeVZ}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	18,8	ND	ND
R_{Fe3O4+}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	32,0	ND	ND
R_{FeVZ+}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16,9	ND	ND

Digestão Anaeróbia Termofílica												
Reatores	RSI 0,5						RSI 2,0					
	C2	C3	Iso-C4	C4	Iso-C5	C5	C2	C3	Iso-C4	C4	Iso-C5	C5
R_C	8,4	ND	ND	6,2	ND	ND	204,4	158,5	ND	ND	27,3	150,1
R_{SiO2}	38,5	ND	ND	4,5	ND	ND	245,0	431,3	ND	ND	152,5	121,4
R_{Fe3O4}	31,8	25,8	ND	2,7	ND	ND	160,4	135,5	ND	ND	103,5	210,3
R_{CAG}	32,8	ND	ND	3,7	ND	ND	297,1	27,3	ND	ND	232,3	100,8
R_{FeVZ}	23,0	ND	ND	5,0	ND	ND	322,9	243,0	ND	ND	95,3	145,3
R_{Fe3O4+}	52,3	10,5	ND	2,4	ND	ND	82,1	0,0	ND	ND	100,0	114,4
R_{FeVZ+}	28,6	ND	ND	4,7	ND	ND	375,2	0,0	ND	ND	7,3	176,5

Legenda: C2: ácido acético; C3: ácido propiônico; iso-C4: ácido isobutírico; C4: ácido butírico; iso-C5: ácido isovalérico; C5: ácido valérico. ND: Não detectado. Unidade: mg L⁻¹.

Fonte: O autor (2025).

Além de produzir CH₄ mais rapidamente, a DAM também apresentou maior PBM em relação a DAT. Por exemplo, o PBM do controle mesofílico (579,8 NL_{CH4} kgSSV⁻¹) foi 38,4% superior ao do controle termofílico (419,0 NL_{CH4} kgSSV⁻¹). Apesar disso, a influência dos aditivos sobre o aumento do PBM foi mais expressiva na DAT. Isso pode ser verificado pelos valores de Y_R de todos os aditivos, os quais foram superiores nos ensaios termofílicos (**Tabela 20**). Como exemplo, Y_R de Fe₃O₄ foi -11,27 NmL_{CH4} gFe₃O₄⁻¹ na DAM e de 270,19 NmL_{CH4} gFe₃O₄⁻¹ na DAT. O incremento na produção de CH₄ com a aplicação do CAG foi de 148 NmL_{CH4} gCAG⁻¹ na DAT, sendo de 127,49 NmL_{CH4} gCAG⁻¹ na DAM. Portanto, os aditivos exerceram papel fundamental no aperfeiçoamento do tratamento anaeróbio da ARS em condições termofílicas, principalmente em relação à eficiência de produção de CH₄. Apesar disso, o desempenho cinético foi abaixo do esperado devido à produção lenta e instável de CH₄, refletida no formato das CCMs.

Na DAM, a aplicação de CAG, FeVZ e das combinações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG elevaram o PBM em 11%, 6,4%, 4,3% e 4,1% em relação ao controle, nessa ordem. Nesse cenário, o CAG foi aditivo que mais beneficiou o processo tanto em aspectos de eficiência quanto sob aspectos cinéticos, apresentando os maiores valores de ER (96,1%), Y₁ (0,823 gDQO_{CH4} gDQO_{remov}⁻¹), Y₂ (0,791 gDQO_{CH4} gDQO_{apl}⁻¹), Y_R (127,49 NmL_{CH4} gCAG⁻¹), *k* (0,299 d⁻¹) e *μ* (198,96 NL_{CH4} KgSSV⁻¹ d⁻¹) (**Tabela 20**). Não houve diferença estatística quanto

ao teor de CH₄ no biogás. O efeito positivo de CAG e de suas associações com materiais condutores à base de ferro também foi reportado em outros estudos.

Nesse contexto, Romero *et al.* (2020) conduziram ensaios de PBM em reatores batelada de 120 mL incubados por 24 dias sob temperatura de 40 °C e agitação orbital de 150 rpm e demonstraram que a adição de 15 g L⁻¹ de CAG (0,6 mm) elevou a produção de CH₄ e o Y₁ na DAM da ARS em 42% e em 19%, respectivamente, em detrimento ao controle. Esse resultado foi atribuído a capacidade do CAG em mediar TDEI e ter enriquecido microrganismos doadores, como *Geobacter* e *Pseudomonas*, e aceptores de elétrons, como *Methanothrix*.

Enquanto isso, Zhang *et al.* (2021) avaliaram na presença de lodo sanitário como inóculo, a associação de FeVZ (0,2 mm) e CAG (32 a 60 mesh) na DAM (37 °C) de resíduos alimentares em reatores batelada com 400 mL de volume reacional, mantidos em incubação por 43 dias com agitação orbital de 60 rpm. As concentrações de aditivos avaliadas foram 5 g L⁻¹ de FeVZ (5FeVZ), 10 g L⁻¹ de FeVZ (10FeVZ) e 5 g L⁻¹ de FeVZ + 5 g L⁻¹ de CAG (5FeVZ+5CAG). A associação de materiais condutores elevou o PBM em 2,77%, 11,2%, e 35,0% em relação aos reatores 10FeVZ, 5FeVZ, e controle, respectivamente, indicando que a aplicação conjunta de aditivos favoreceu a degradação da matéria orgânica. Além disso, a adição combinada encurtou o tempo de fase *lag* em 18,2% em comparação aos digestores com apenas FeVZ. Esse resultado foi justificado pela estrutura porosa do CAG que poderia fornecer superfície para crescimento dos microrganismos e acelerar a degradação de AGVs e a produção de CH₄, além da redução dos teores de NAL devido às propriedades adsorptivas do CAG.

Esses dois trabalhos citados anteriormente, relataram resultados mais expressivos com a aplicação de CAG e FeVZ+CAG em comparação com o presente trabalho. Isso está relacionado as diferenças experimentais, como substrato, inóculo, RSI e volume reacional. Contudo, é importante frisar que ambos utilizaram doses (15 g L⁻¹ e 10 g L⁻¹) superiores à avaliada neste estudo (2 g L⁻¹), o que onera o processo, sendo um empecilho à aplicação dessa estratégia de aperfeiçoamento da DA em sistemas de tratamento em escala real. Com efeito, é evidente a necessidade de realização de estudos que objetivem o estabelecimento de uma dose ideal desses aditivos para a otimização do tratamento anaeróbico da ARS, ou de outros resíduos orgânicos de interesse, sob aspectos cinéticos e de eficiência, considerando aspectos econômicos (custo do material) e ambientais (recuperação, reutilização, descarte e impactos dos aditivos ao meio ambiente).

Na DAT, a Fe₃O₄, o FeVZ e as combinações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG tiveram efeitos mais proeminentes no aumento dos rendimentos de produção (**Tabela 20**). Em relação ao controle, o PBM foi acrescido em 32,2%, 24,6%, 33,3% e 26,7% e o Y₁ foi aumentado em

30,1%, 28,7%, 28,4% e 24,4% nos digestores que receberam Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4+\text{CAG}$ e $\text{FeVZ}+\text{CAG}$, nessa sequência. O maior teor de CH_4 no biogás (73,7%) foi obtido nos digestores aditivados com FeVZ . A Fe_3O_4 apresentou impactos mais positivos nos ensaios termofílicos tanto em RSI 0,5 quanto em RSI 2,0 em detrimento aos realizados em condições mesofílicas. Esse resultado está relacionado às alterações nas comunidades microbianas realizadas por esse aditivo, as quais foram mais expressivas nas BTs do que nas BMs. A Fe_3O_4 enriqueceu bactérias pertencentes aos filos *Actinobacteriota*, *Armatimonadota*, *Coprothermobacterota*, *Thermotogota*, *Synergistota* e *Firmicutes*, além dos gêneros de arqueias *Methanothermobacter*, *Methanosarcina* e *Methanothrix* nas BTs. Enquanto isso, nas BMs, esse óxido de ferro foi correlacionado ao aumento de abundância relativa de apenas dois filos de bactérias, a saber *Armatimonadota* e *Chloroflexi* (**seção 6.3.4**).

O impacto positivo da aplicação de Fe_3O_4 e de CAG também foi reportado por Zhuravleva *et al.* (2024), os quais estudaram o uso de aditivos condutores na DAT de alto teor de sólidos. Esse tipo de digestão anaeróbia tem como benefícios o menor requisito de água e o menor volume de reatores, mas comumente falha devido ao rápido acúmulo de AGVs e à queda associada no pH. Os autores aplicaram CAG (0,2-1,0 mm) e Fe_3O_4 (0,16-3,0 μm) a 10 e 20 g L^{-1} , o que correspondia a 33 e 66 gramas de aditivo por quilograma de substrato, respectivamente. Como inóculo foi utilizado esterco bovino digerido termofilicamente e como substrato a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU). O experimento foi conduzido em reatores de vidro com 500 mL de volume total mantidos em incubadores a 52 °C por 43 dias, sem agitação. A maior dosagem de materiais condutores (66 g kg^{-1}) resultou no melhor desempenho metanogênico. Os aditivos aceleraram o consumo de ácidos orgânicos, mitigando a inibição da metanogênese após o acúmulo de AGVs (28 a 30 g L^{-1}). O maior rendimento de metano (PBM, 286 mL_{CH_4} gSV^{-1}) foi obtido em reatores com adição de Fe_3O_4 , enquanto as maiores taxas máximas de produção de CH_4 (μ , 26,38 mL_{CH_4} $\text{gSV}^{-1} \text{d}^{-1}$) e menor fase de latência (λ , 2,83 d) foram obtidas em digestores com adição de CAG.

6.3.3 Estabilidade dos Digestores Anaeróbios

A estabilidade dos digestores anaeróbios foi avaliada através dos valores de pH e dos teores de nitrogênio amoniacal total (NAT), nitrogênio amoniacal livre (NAL) e íon amônio (NH_4^+), os quais podem ser visualizados na **Tabela 22**. Os valores iniciais e finais de pH encontraram-se entre 7,6 e 8,2 em todos os reatores, indicando que a atividade metanogênica ocorreu em faixa adequada de pH e que não houve acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs)

suficiente para promover a acidificação dos digestores. Em geral, os aditivos tenderam a elevar o pH dos reatores em detrimento ao controle, principalmente o FeVZ. Esse aditivo alcalinizou os efluentes devido à sua corrosão em meio anaeróbico consumir acidez (H^+) e disponibilizar hidroxilas (OH^-), o que contribuiu para elevar o pH para a faixa de 8,0 a 8,2.

Tabela 22 – Parâmetros utilizados para verificar a estabilidade dos digestores anaeróbios mesofílicos e termofílicos.

Biomassas Mesofílicas										
Biomassas	RSI 0,5					RSI 2,0				
	pH	pH	NAT	NAL	NH ₄ ⁺	pH	pH	NAT	NAL	NH ₄ ⁺
	Inicial	Final	(mg-N L ⁻¹)			Inicial	Final	(mg-N L ⁻¹)		
R _C	7,6	7,85	115,6	9,5	106,1	7,6	8,16	277,2	43,0	234,2
R _{SiO2}	7,6	7,90	133,6	12,2	121,3	7,6	8,18	250,3	40,3	210,0
R _{Fe3O4}	7,6	7,91	170,8	16,0	154,8	7,6	8,22	227,1	39,5	187,6
R _{CAG}	7,6	8,02	154,0	18,1	135,9	7,6	8,15	313,6	47,7	265,9
R _{FeVZ}	7,6	8,17	180,3	28,5	151,8	7,6	8,19	205,8	33,8	172,0
R _{Fe3O4+}	7,6	7,91	159,6	14,9	144,7	7,6	8,19	316,4	52,0	264,4
R _{FeVZ+}	7,6	8,12	140,0	20,1	119,9	7,6	8,22	263,2	45,8	217,4

Biomassas Termofílicas										
Biomassas	RSI 0,5					RSI 2,0				
	pH	pH	NAT	NAL	NH ₄ ⁺	pH	pH	NAT	NAL	NH ₄ ⁺
	Inicial	Final	(mg-N L ⁻¹)			Inicial	Final	(mg-N L ⁻¹)		
R _C	7,6	7,67	148,4	22,7	125,7	7,6	7,95	307,0	78,6	228,4
R _{SiO2}	7,6	7,78	143,6	27,1	116,5	7,6	7,98	299,5	80,7	218,8
R _{Fe3O4}	7,6	7,72	159,9	26,9	132,9	7,6	7,90	324,2	76,1	248,1
R _{CAG}	7,6	7,71	156,5	25,9	130,6	7,6	8,00	312,7	87,1	225,6
R _{FeVZ}	7,6	7,91	137,2	32,8	104,4	7,6	8,04	321,9	95,8	226,1
R _{Fe3O4+}	7,6	7,76	152,6	27,8	124,8	7,6	8,00	332,8	92,7	240,1
R _{FeVZ+}	7,6	7,80	136,6	26,8	109,8	7,6	8,03	275,4	80,6	194,8

Legenda: NAT: nitrogênio amoniacal total; NAL: nitrogênio amoniacal livre; NH₄⁺: íon amônio; R_C: reator controle; R_{SiO2}: dióxido de silício; R_{CAG}: carvão ativado granular; R_{Fe3O4}: nanomagnetita; R_{FeVZ}: ferro de valência zero; R_{Fe3O4+}: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; R_{FeVZ+}: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular.

Fonte: O autor (2025).

Apesar da ampla faixa de concentração de AGVs considerada inibitória, Kwietniewska e Tys (2014) indicaram que a proporção de ácido propiônico para ácido acético maior que 1,4 e que o conteúdo de ácido acético maior que 800 mg L⁻¹ e o acúmulo de ácido butírico e valérico superior a 6500 mg L⁻¹ promovem inibição do processo anaeróbico e causam falha do digestor. Todos os reatores apresentaram teores de AGVs muito inferiores a esses, reforçando a não ocorrência de acidificação dos digestores (**Tabela 21**). Porém, períodos de acumulação temporária de AGVs devem ter interferido na cinética de metanização da ARS em condições termofílicas em RSI 2,0 (**Figura 30B**).

As concentrações de NAT em todos os reatores foram inferiores aos que são apontados como inibitórios (entre 1.500 e 11.000 mg L⁻¹), demonstrando que não houve prejuízo a produção de CH₄ por excesso de nitrogênio amoniacal (Rocamora *et al.*, 2020). Os

valores de NAT foram semelhantes nos ensaios mesofílicos e termofílicos e foram mais elevados em RSI 2,0 devido à maior carga orgânica aplicada nos digestores (**Tabela 22**). Entretanto, os reatores termofílicos e os com maior pH apresentaram maiores valores de NAL, pois a elevação da temperatura e do pH interferem no equilíbrio entre as espécies de nitrogênio amoniacal, favorecendo a formação de NAL (Procházka *et al.*, 2012). Apesar disso, nos sistemas termofílicos, as concentrações de NAL foram inferiores às consideradas inibitórias à atividade metanogênica (entre 300 e 800 mg-N L⁻¹), não impactando negativamente os rendimentos de produção de CH₄. Além disso, todos os reatores apresentaram teores de NAL inferiores a 200 mg-N L⁻¹, considerada uma concentração segura para o desenvolvimento da microbiota anaeróbia. Somando-se a isso, o NAL pode ter favorecido à estabilidade dos digestores ao formar bicarbonato de amônia, agindo como um tampão do pH capaz de prevenir a acidificação dos digestores (Ryue *et al.*, 2020).

Não foi observado impacto significativo da redução de NAT e NAL ao final do tratamento da ARS pelos MCs. No entanto, os aditivos, principalmente CAG e FeVZ, promoveram maior eficiência de remoção de matéria orgânica e aumentaram o PBM (**Tabelas 20 e 21**), sugerindo intensificação da hidrólise de proteínas e, conseqüentemente, uma maior disponibilização de compostos amoniacais em comparação ao controle. Com efeito, é possível que o CAG tenha adsorvido NAL e que o Fe²⁺, oriundo da corrosão do FeVZ, tenha reagido com NAL, produzindo Fe(OH)₂ e NH₄⁺. Outros estudos, como Zhang *et al.* (2021), investigaram a associação de FeVZ e CAG na DAM (37 °C) de resíduos alimentares e reportaram a diminuição da concentração de NAL por esses mecanismos. Porém, seria necessário um monitoramento dos valores de pH e das concentrações de NAT durante o período experimental para comprovar essa hipótese.

A maior concentração de NAL e de AGVs nos reatores termofílicos promoveu uma seleção microbiológica de bactérias e de arqueias especializadas na degradação de matéria orgânica em ambientes ricos em nitrogênio amoniacal, sendo um fator fundamental para a formação de uma comunidade microbiana termofílica bem distinta da mesofílica (**seção 6.3.4**). Ressalta-se que a cinética de metanização da ARS na DAT em RSI 2,0 ocorreu de forma mais lenta em comparação com a da DAM não devido a maior concentração de NAL, mas sim devido ao descompasso entre produção e consumo de AGVs, já que bactérias fermentativas apresentam metabolismo mais rápido em comparação às arqueias metanogênicas. Com base nesses resultados, conclui-se que os digestores anaeróbios funcionaram em ambiente propício à atividade metanogênica, mas os digestores termofílicos apresentaram lentidão e instabilidade

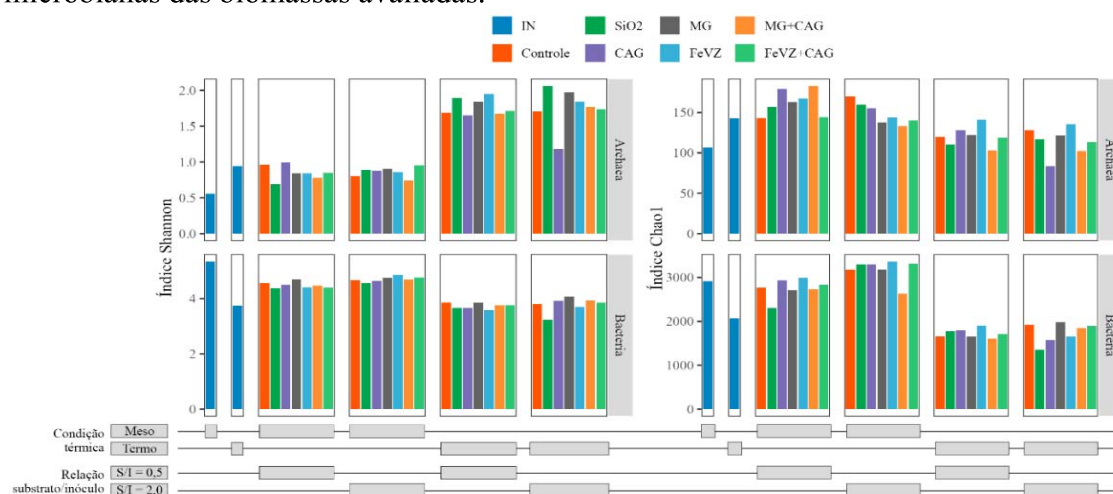
na produção de CH₄ devido ao acúmulo de produtos intermediários (propionato, valerato e iso-valerato) que não podem ser convertidos a CH₄ diretamente.

6.3.4 Análise das Comunidades Microbianas

6.3.4.1 Índices de Alfa-Diversidade

Os efeitos da razão substrato inóculo (RSI), da temperatura e dos aditivos sobre a diversidade e a riqueza das comunidades microbianas foram analisados por meio dos índices de alfa-diversidade Shannon e Chao1. Segundo Zhao *et al.* (2024), quanto maior o índice Chao1 maior é o número de espécies, indicando uma comunidade microbiana com maior riqueza. Por outro lado, quanto maior o índice Shannon maior é a diversidade e uniformidade de espécies. Os índices de alfa-diversidade são apresentados na **Figura 31**.

Figura 31 – Índices de alfa-diversidade (Shannon e Chao1) das comunidades microbianas das biomassas avaliadas.



Fonte: O autor (2025).

A temperatura promoveu alterações significativas na diversidade e riqueza das comunidades microbianas. As biomassas mesofílicas (BMs) apresentaram maior diversidade de bactérias (maior índice Shannon) e maior riqueza de espécies de bactérias e de arqueias (maior índice Chao1) em relação as biomassas termofílicas (BTs), tanto em RSI 0,5 como em RSI 2,0 (**Figura 31**). Em contraponto, as comunidades de arqueias termofílicas foram mais diversas do que as mesofílicas, possuindo maior índice Shannon tanto em RSI 0,5 como em RSI 2,0, indicando maior uniformidade de espécies (**Figura 31**). Esse resultado relaciona-se diretamente com a composição microbiana das biomassas avaliadas. Na DAM, *Methanothrix*

foi dominante, apresentando abundância relativa entre 88% e 92% (em RSI 0,5 e 2,0), enquanto na DAT, na maioria das biomassas, não houve um gênero dominante, pelo contrário ocorreu uma maior diversificação de arqueias metanogênicas, como *Methanothermobacter*, *Methanosarcina*, *Candidatus Methanomethylicus*, *Methanolinea* e *Methanothrix*, indicando uma estratificação mais homogênea da comunidade arqueal termofílica.

Em comparação com as biomassas de controle (aquelas que realizaram o tratamento da ARS sem a presença de aditivos), a diversidade de bactérias não sofreu impacto significativo pelos aditivos, independentemente do regime de temperatura e da RSI (**Figura 31**). Esse resultado também se aplica as comunidades de arqueias mesofílicas. Porém, os aditivos elevaram a uniformidade das comunidades de arqueias termofílicas, com exceção da biomassa aditivada com CAG em RSI 2,0. Isso ocorreu porque, nessa biomassa, o CAG promoveu o domínio da arqueia metanogênica hidrogenotrófica (AMH) *Methanothermobacter*, a qual correspondia a 73% da população total de arqueias. Enquanto isso, os aditivos propenderam a aumentar a riqueza das comunidades bacterianas, com exceção das BTs em RSI 2,0, sugerindo a participação de mais gêneros bacterianos atuantes em processos fermentativos. Os aditivos também aumentaram a riqueza das comunidades de arqueias mesofílicas e termofílicas em RSI 0,5 e reduziram em RSI 2,0 (**Figura 31**).

Conclui-se que os aditivos promoveram uma seleção e especialização microbiológica de bactérias e arqueias com maior afinidade à degradação de substrato e capazes de suportar ambientes com maior concentração de matéria orgânica (RSI 2,0) e de produtos intermediários do processo anaeróbio, como ácidos graxos voláteis (AGVs) e nitrogênio amoniacal total (NAT), aumentando a abundância relativa de microrganismos com capacidade de realizar TDEI.

6.3.4.2 Estrutura da Comunidade Bacteriana

O substrato, a RSI e os regimes de temperatura provocaram modificações expressivas nas estruturas das comunidades microbianas (**Figuras 32 e 33**). Em nível de domínio (*Bacteria* e *Archaea*), as BMs foram compostas majoritariamente por arqueias (entre 61% e 68%), enquanto as BTs apresentaram maior abundância relativa de bactérias (entre 56% e 79%). Os aditivos reforçaram esse efeito da temperatura, enriquecendo arqueias e bactérias nas culturas mesofílicas e termofílicas, respectivamente. Esses resultados estão relacionados as características inerentes a DAM e a DAT. Digestores anaeróbios operados em condições termofílicas apresentam elevada capacidade hidrolítica-fermentativa, favorecendo a formação

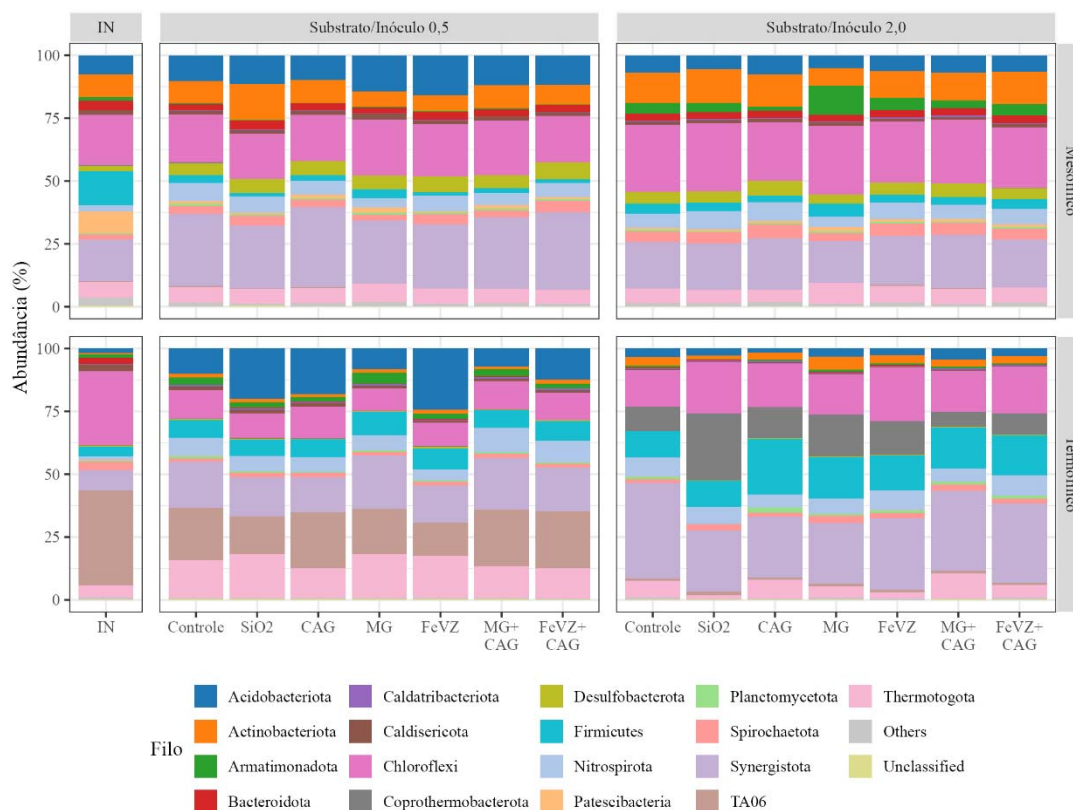
de uma comunidade bacteriana robusta (ALMEIDA STREITWIESER, 2017). Enquanto isso, a DAM é considerada mais estável e ideal para o crescimento de arqueias metanogênicas (Singh *et al.*, 2023). Por isso, as BMs apresentaram maior proporção de arqueia. Apesar das comunidades bacterianas comporem uma menor fração das culturas mesofílicas (entre 32% e 39%), apresentaram maior riqueza de espécies (maior índice Chao1) em detrimento às termofílicas, o que garantiu um sistema anaeróbio altamente eficiente na remoção de matéria orgânica e produção de CH₄ (**Figura 31** e **Tabelas 6.2** e **6.3**). A composição das comunidades microbianas, em nível de domínio, é detalhada na **Tabela 28**.

Os filos bacterianos preponderantes após o tratamento da ARS foram: *Actinobacteriota*, *Acidobacteriota*, *Armatimonadota*, *Chloroflexi*, *Desulfobacterota*, *Thermotogota*, *Spirochaetota*, *Nitrospirota*, *Synergistota*, *Firmicutes*, *TA06* e *Coprothermobacterota* (**Figura 32**). As bactérias pertencentes ao filo *Actinobacteriota* podem degradar polissacarídeos, proteínas e celulose para produzir AGVs e desempenham um papel fundamental na conversão de compostos nitrogenados, promovendo o aumento do nível de NAT (X. Chen *et al.*, 2024). Esse filo preponderou nas BMs, representado pelo gênero *Georgenia*. Nas BTs, a abundância relativa de *Actinobacteriota* diminuiu e ocorreu uma diversificação quanto aos gêneros taxonômicos dominantes, com a redução da abundância relativa de *Georgenia* e o enriquecimento de *Bifidobacterium* e de *Corynebacterium*. A RSI 2,0 elevou a presença desse filo devido à maior atividade hidrolítica requerida para degradar uma maior carga orgânica aplicada (**Figura 32A**).

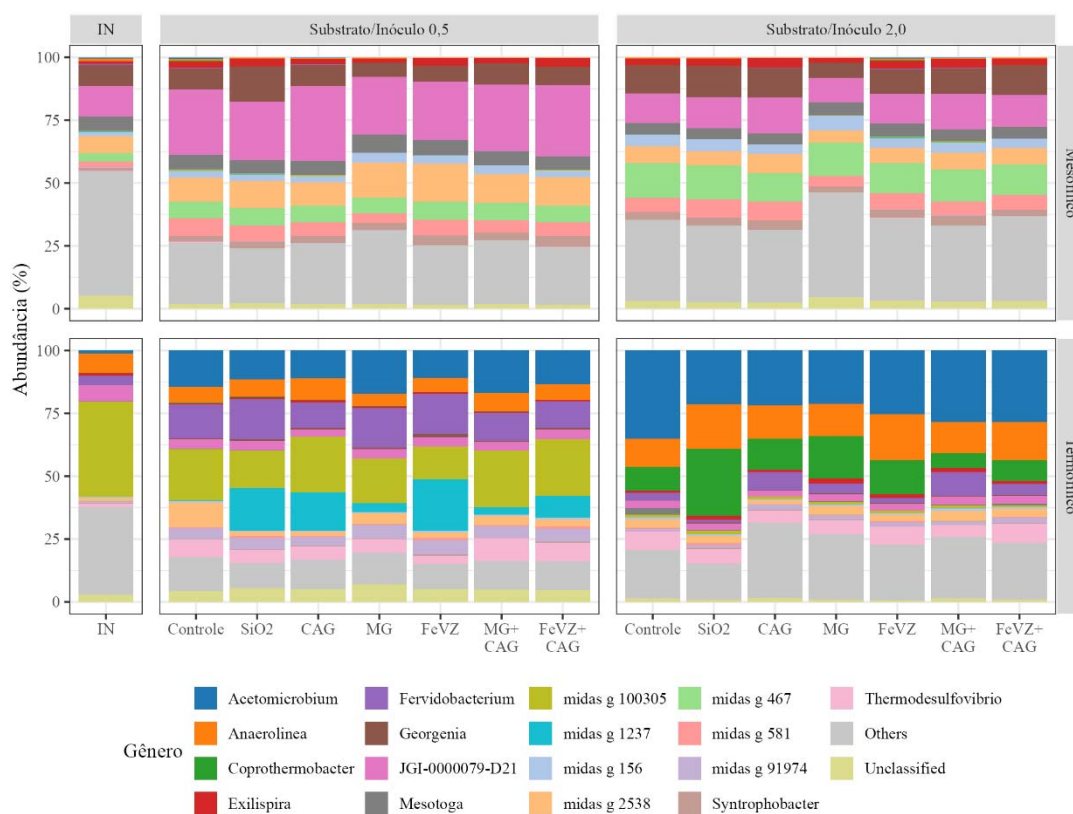
Georgenia é uma bactéria fundamental na degradação de proteínas que tem abundância relativa aumentada em sistemas de tratamento anaeróbio com elevada carga orgânica e alta demanda hidrolítica de proteínas (Liang *et al.*, 2023). Esse gênero foi enriquecido na DAM em RSI 2,0, correspondendo a aproximadamente 10% da população total de bactérias nas biomassas avaliadas (**Figura 32B**). Os aditivos não apresentaram impactos positivos ou negativos significativos na abundância relativa desse gênero. Ainda não existem estudos que reportem a eletroatividade de *Georgenia* e sua participação em TDEI mediada por aditivos condutores. Portanto, o enriquecimento dessa bactéria foi relacionado à adaptação microbiológica para a degradação do substrato.

Figura 32 – Classificação taxonômica da comunidade bacteriana ao nível de Filo e Gênero.

A. FILO



B. GÊNERO



Fonte: O autor (2025).

Bifidobacterium está envolvido no metabolismo de carboidratos, produzindo lactato e AGVs, principalmente acetato (CH_3COO^-) (Lv *et al.*, 2025). Enquanto isso, *Corynebacterium* produz AGVs, principalmente propionato, e é capaz de aumentar a fermentação de compostos orgânicos complexos em ambientes com altas concentrações de NAT e AGVs (Yusuf *et al.*, 2024). Essa bactéria fermentativa tem a habilidade de assimilar NH_4^+ , garantindo sua sobrevivência em ambientes ricos em nitrogênio amoniacal, tornando-se pilar para o bom funcionamento de digestores termofílicos (Cortez-Cervantes *et al.*, 2024). Devido a essa característica, *Corynebacterium* foi mais abundante na DAT, a qual apresentou maior teor de nitrogênio amoniacal livre (NAL) (**Tabela 22**). Os aditivos não apresentaram efeitos significativos para *Bifidobacterium*, mas *Corynebacterium* foi favorecida pelo FeVZ e pela Fe_3O_4 , os quais aumentaram a abundância relativa desse gênero, na DAT em RSI 2,0, de 0,96% no controle para 1,25% e 2,60%, respectivamente.

Acidobacteriota é um filo relacionado à produção e ao consumo de AGVs (Mortezaei *et al.*, 2024). Conforme Sun *et al.* (2022b), as bactérias pertencentes a esse filo podem secretar enzimas relacionadas com acidificação e degradar carboidratos para produzir AGVs, principalmente CH_3COO^- . *Acidobacteriota* apresentou maior abundância relativa nos ensaios realizados em RSI 0,5, sendo representados pelo gênero *midas g 2538* na DAM e *midas g 1237* na DAT (**Figura 32**). A literatura carece de informações sobre esses gêneros, mas ambos pertencem a classe *Aminicenantia* que compreende bactérias habilitadas a fermentar carboidratos e proteínas e que podem estabelecer interações sintróficas com *Methanothrix* e *Methanosarcina* ao fornecer produtos oxidados, como H_2 e CH_3COO^- , para a geração de CH_4 (Wu *et al.*, 2022; Xiang *et al.*, 2023).

Os aditivos, principalmente o FeVZ, enriqueceram os microrganismos desse filo, sugerindo a participação de *midas g 2538* e de *midas g 1237* em TDEI (**Figura 32B**). O FeVZ favoreceu o desenvolvimento desse filo devido atuar na produção e na ativação de enzimas-chave para os processos acidogênicos (Chen *et al.*, 2020). Na DAM em RSI 0,5, a abundância relativa de *midas g 2538* aumentou de 9,51% no controle para 11,32% e 15,27% nas BMs aditivadas com FeVZ+CAG e FeVZ, respectivamente, indicando que o aumento da concentração de ferro contribuiu para o enriquecimento desse gênero. A Fe_3O_4 e sua associação com CAG também elevou a abundância desse gênero para 13,82% e 11,41%, respectivamente. No ensaio termofílico (RSI 0,5), o efeito dos aditivos foi ainda mais expressivo, com destaque para o CAG e o FeVZ. *Midas g 1237* foi enriquecido de 0,13% no controle para 8,83%, 15,41% e 20,48% nas culturas aditivadas com FeVZ+CAG, CAG e FeVZ, respectivamente. Porém, na DAT em RSI 2,0 esse filo teve abundância reduzida, provavelmente devido à inadequação

ambiental e à disputa com as outras bactérias. É possível afirmar que os aditivos provocaram impactos positivos aos microrganismos acidogênicos, contribuindo para a maior estabilidade dos digestores termofílicos e, conseqüentemente, para elevar o rendimento de produção de CH₄ (**Tabelas 19 e 20**).

Armatimonadota é composto por bactérias fermentativas que desempenham papel crucial na degradação de carboidratos (W. Zhao *et al.*, 2024). *Midas g 216* e *midas g 2049* foram os gêneros desse filo que preponderaram na DAM e na DAT, respectivamente. A Fe₃O₄ foi o único aditivo que exerceu impacto positivo no enriquecimento dessas bactérias (**Figura 32**). A abundância relativa de *midas g 216* aumentou de 4,13% no controle para 11,15% na biomassa aditivada com 2,0 gFe₃O₄ L⁻¹ na DAM em RSI 2,0. Por outro lado, esse óxido de ferro enriqueceu o gênero *midas g 2049* de 2,83% no controle para 4,37% na DAT em RSI 0,5.

Chloroflexi é um filo composto por bactérias hidrolíticas amplamente relatadas em sistemas de DA que tratam águas residuárias e dejetos de animais (de Sousa e Silva *et al.*, 2024). Esse filo está relacionado a hidrólise de matéria orgânica complexa, fermentação de carboidratos e proteínas, degradação de fragmentos bacterianos gerados por lise celular, participam da formação de agregados microbianos e possuem elevada atividade de secreção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) (Z. Chen *et al.*, 2024). É considerado um filo de bactérias eletroativas, como *Longilinea*, *Bellilinea* e *Anaerolinea*, capazes de participar de TDEI em sintrofia com arqueias metanogênicas (Ma *et al.*, 2025). *Chloroflexi* foi abundante tanto nas BMs quanto nas BTs e foi enriquecida em RSI 2,0, sugerindo aumento da atividade hidrolítica das biomassas devido à maior carga orgânica aplicada nessa condição. Os aditivos elevaram a abundância relativa de *Chloroflexi*, com destaque para a Fe₃O₄ e o FeVZ, indicando o estabelecimento de mecanismos de TDEI entre *Chloroflexi* e arqueias metanogênicas (**Figura 32A**). Os gêneros *midas g 156* e *midas g 467* predominaram na DAM e o gênero *Anaerolinea* na DAT (**Figura 32B**). Não foram encontradas informações sobre os gêneros *midas g 156* e *midas g 467*. Em conformidade com os resultados deste trabalho, Li *et al.* (2021b), avaliando o efeito da nanomagnetita (10 a 20 nm) na DAM de ácido acético e de ácido propiônico, reportaram que 100 mgFe₃O₄ L⁻¹ enriqueceu *Chloroflexi* e tornou o ambiente anaeróbio mais propício a TDEI, o que elevou o consumo de AGVs, aumentou a produção de CH₄ e acelerou a cinética de metanização do substrato.

Anaerolinea é uma bactéria fermentativa responsável pela produção de CH₃COO⁻, H₂ e CO₂ por meio da biodegradação de carboidratos e proteínas (Wang *et al.*, 2024). Exibe alta afinidade com arqueias metanogênicas, principalmente *Methanosarcina* e *Methanothrix*, contribuindo para a formação de CH₄ e para a estabilidade de digestores anaeróbios (Wang *et*

al., 2024). *Anaerolinea* é um exoeletrogênico que interage com endoeletrogênicos, como bactérias redutoras de metais e arqueias metanogênicas, e participa de TDEI mediante aditivos condutores, como antraquinona-2,6-dissulfonato (AQDS) (Xu *et al.*, 2022), tecido de carbono (Zeng *et al.*, 2024) e óxidos de ferro (J. Liu *et al.*, 2024). Esse gênero prevaleceu na DAT da ARS, principalmente em RSI 2,0, e teve abundância relativa aumentada de 11,13% no controle para 15,02% e 18,17% nas biomassas aditivadas com FeVZ+CAG e FeVZ, respectivamente (**Figura 32B**). Além disso, Liu *et al.* (2024a), concluíram que essas bactérias respondem positivamente ao aumento da carga orgânica e que óxidos de ferro podem induzir seu crescimento e estabelecimento de TDEI com *Methanothrix* em lodo granular.

Outro filo importante no tratamento anaeróbico da ARS foi o *Thermotogota*, o qual abrange bactérias mesofílicas, como a *Mesotoga*, e termofílicas, como a *Fervidobacterium*. *Mesotoga* são bactérias sintróficas oxidantes de acetato (BSOA) que oxidam CH_3COO^- em CO_2 e H_2 e harmonizam suas atividades com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (AMHs), como *Methanobacterium* e *Methanolinea*, no processo de TIEI via H_2 como mediador redox, sustentando a produção de CH_4 por meio de metanogênese hidrogenotrófica (MH) (Y. Li *et al.*, 2023). *Fervidobacterium* são bactérias que fermentam vários substratos, como glicose, celulose, frutose, maltose, ribose, amido e piruvato, com a produção de CH_3COO^- , etanol, CO_2 e H_2 (Gil-Garcia *et al.*, 2023). Nem os aditivos e nem a RSI impactaram a abundância relativa de *Mesotoga*. Por outro lado, *Fervidobacterium* predominou em RSI 0,5, apresentando baixa abundância relativa em RSI 2,0, e foi enriquecida na presença de Fe_3O_4 e de FeVZ (**Figura 32B**).

Outro filo composto por BSOA e fundamental para a estabilidade de digestores anaeróbios é o *Spirochaetota*, o qual foi representado pelo gênero *Exilispira* tanto nas BMs quanto nas BTs. *Exilispira* é uma BSOA que mantém relações sintróficas com AMHs, principalmente *Methanothermobacter* e *Methanobacterium* (Wang *et al.*, 2024). A RSI 2,0 e os aditivos condutores elevaram a abundância desse gênero bacteriano, principalmente o FeVZ e o CAG, sugerindo que essas bactérias são capazes de se proliferarem em digestores anaeróbios operando em elevada carga orgânica (**Figura 32B**).

O filo *Nitrospirota*, representado pelo gênero mesofílico *midas g 581* e pelo gênero termofílico *Thermodesulfovibrio*, compreende bactérias fermentativas e redutoras de sulfato que competem com as AMHs pelo H_2 (Hong Dao *et al.*, 2023; Sabarikirishwaran *et al.*, 2023). *Thermodesulfovibrio* pode usar H_2 , ácido fórmico, ácido pirúvico e ácido láctico como doadores de elétrons para a redução de sulfato. Essa bactéria contribui para a estabilidade de digestores anaeróbios termofílicos ao consumir H_2 , favorecendo a manutenção de uma baixa pressão

parcial de H_2 e a oxidação sintrófica de propionato e butirato. (M. Shi *et al.*, 2024). Contudo, a atividade de *Thermodesulfovibrio* pode elevar o teor de sulfeto de hidrogênio (H_2S) no biogás e também a concentração de CH_3COO^- no meio reacional (Zhang *et al.*, 2022). A RSI e os aditivos não exerceram influência sobre a abundância relativa desse filo e de seus gêneros taxonômicos (**Figura 32**).

Synergistota foi o filo com maior abundância relativa em todas as biomassas, sendo fundamental para o tratamento da ARS (**Figura 32**). Tal filo engloba bactérias que convertem aminoácidos em AGVs e que são bactérias sintróficas oxidantes de AGVs (Zhu *et al.*, 2022). Além disso, são bactérias que participam de mecanismos de TDEI e estabelecem interações sintróficas com AMHs e com arqueias metanogênicas acetoclásticas (AMAs), o que pode acelerar a utilização de H_2/CO_2 e de CH_3COO^- para a síntese de CH_4 (Hu *et al.*, 2024). Devido a essas características, *Synergistota* é capaz de reduzir o acúmulo de propionato e butirato, promovendo, assim, a estabilidade do processo anaeróbio (Xu *et al.*, 2024). Esse filo foi representado pelo gênero mesofílico *JGI-0000079-D21* e pelo gênero termofílico *Acetomicrobium*. *JGI-0000079-D21* é uma bactéria funcional associada à hidrólise e à acidificação e tem a capacidade de degradar propionato, butirato e ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) para gerar CH_3COO^- e H_2 (Feng *et al.*, 2024). Essa bactéria apresentou maior abundância relativa na DAM em RSI 0,5, na qual correspondeu de 23% a 29% da população total de bactérias, em detrimento a RSI 2,0, na qual representava de 10% a 14% da comunidade bacteriana. Esse gênero foi enriquecido na presença de CAG tanto em RSI 0,5 como em RSI 2,0. Como exemplo, a abundância relativa de *JGI-0000079-D21* foi elevada de 26,2% no controle para 26,5%, 28,3% e 29,7% nas biomassas aditivadas com Fe_3O_4 +CAG, FeVZ+CAG e CAG, respectivamente, nos ensaios em RSI 0,5 (**Figura 32B**). A associação de *JGI-0000079-D21* com materiais carbonáceos, principalmente CAG, para elevar o desempenho metanogênico, também foi observada em outros trabalhos (Yao *et al.*, 2024; Zeng *et al.*, 2024), implicando que essa bactéria é atuante em processos de TDEI. Enquanto isso, o gênero termofílico *Acetomicrobium* é um microrganismo fermentativo de carboidratos, como a glicose (M. Xiao *et al.*, 2024). Teve maior abundância relativa na DAT em RSI 2,0 e os materiais à base de ferro exerceram influência positiva sobre esse gênero bacteriano (**Figura 32B**).

Outro filo composto por bactérias sintróficas oxidantes de ácidos orgânicos é o *Desulfobacterota*. Esse filo de bactérias atua na redução desassimilatória de ferro (RDF) e podem estabelecer interações sintróficas com arqueias metanogênicas (Wang *et al.*, 2024). *Desulfobacterota* foi componente das BMs tanto em RSI 0,5 quanto em RSI 2,0, em abundância relativa semelhante (entre 3 e 6%) (**Figura 32A**). O gênero mais proeminente foi

Syntrophobacter, o qual é composto por bactérias sintróficas oxidantes de propionato (BSOP) e de butirato (BSOB) que disponibilizam CH_3COO^- e H_2 para a metanogênese (Y. Xiao *et al.*, 2024). Além disso, são bactérias redutoras de sulfato (BRS) e são microrganismos exoeletrogênicos capazes de estabelecer TDEI com *Methanosarcina* e *Methanothrix* (Pierangeli *et al.*, 2024). Os aditivos exerceram pouco efeito sobre a abundância relativa de *Syntrophobacter*, mas podem ter facilitado a TDEI, como reportado por Guo *et al.* (2024) e Ma *et al.* (2024), que observaram relações mutualística entre *Syntrophobacter* e arqueias metanogênicas via materiais carbonáceos, como CAG e biocarvão.

O filo *Firmicutes* também foi componente fundamental das biomassas para a degradação anaeróbia da ARS, principalmente em ambiente termofílico. Conforme Xian *et al.* (2024), *Firmicutes* possui metabolismo versátil, incluindo hidrólise, produção de AGVs e redução de metais, e sobrevive em uma variedade de condições adversas, como as que envolvem aquecimento, alcalinização ou acidificação. Esse filo apresentou baixa abundância relativa nas BMs tanto em RSI 0,5 (entre 1,5% e 3,5%) como em RSI 2,0 (entre 3,0% e 5,2%). A Fe_3O_4 enriqueceu discretamente *Firmicutes* na DAM (**Figura 32A**). Nenhum gênero taxonômico desse filo foi proeminente nos ensaios mesofílicos. Enquanto isso, na DAT, o filo *Firmicutes* foi enriquecido para melhorar a capacidade de hidrólise do consórcio microbiano, apresentando abundância relativa entre 6,5% e 9,3% em RSI 0,5 e entre 10,4% e 22,3% em RSI 2,0 (**Figura 32**). Todos os aditivos, com exceção do SiO_2 , enriqueceram esse filo, indicando sua participação em TDEI, sendo que o CAG exerceu maior influência elevando a abundância relativa de *Firmicutes* de 10,5% no controle para 22,3% nas biomassas aditivadas com 2 gCAG L^{-1} (**Figura 32**). Em RSI 0,5, os gêneros predominantes foram *midas g 91974* e *Syntrophaceticus*. Já em RSI 2,0, ocorreu uma maior diversificação bacteriana, abrangendo os gêneros *midas g 91974*, *midas g 2455*, *Syntrophaceticus*, *Clostridium sensu stricto 1*, *Cryptanerobacter* e *Syntrophothermus*, todos em baixa e semelhante abundância relativa.

Dentre esses gêneros destaca-se *Syntrophaceticus* e *Clostridium sensu stricto 1*, os quais devem ter participado ativamente da degradação anaeróbia da ARS. *Syntrophaceticus* é uma BSOA que se relaciona com *Methanothermobacter* e ou *Methanobacterium* para estimular a via metanogênica de oxidação sintrófica de acetato seguida por metanogênese hidrogenotrófica (OSA-MH), que é uma rota metanogênica comum em digestores anaeróbios termofílicos (Moestedt *et al.*, 2020). *Clostridium sensu stricto 1* é um gênero produtor de AGVs e H_2 , capaz de metabolizar diversos tipos de matérias-primas, como carboidratos, proteínas e lipídeos (Yang; Wang, 2021). É uma bactéria comum na degradação anaeróbia de resíduos de suinocultura, como ARS e dejetos suínos (Wang *et al.*, 2024). Além disso, esses microrganismos

são homoacetogênicos, redutores de ferro (Fe^{3+}) e participam de TDEI via aditivos condutores, como FeVZ, biocarvão, polianilina condutora (PANI), tendo *Methanotherix* e *Methanosarcina* como principais parceiros de TDEI (Pan *et al.*, 2021; Si *et al.*, 2015).

TA06 é um filo termofílico composto por microrganismos fermentativos (Ma *et al.*, 2019; Saghaï *et al.*, 2017). O gênero *midas g 100305* foi o mais abundante. Na DAT em RSI 0,5, *TA06* compreendeu de 13% a 22% da população total de bactérias. Com o aumento da RSI para 2,0, a abundância relativa de *TA06* foi extremamente reduzida, sugerindo que ambientes com elevada carga orgânica, alta concentração de AGVs e de nitrogênio amoniacal não são favoráveis para o metabolismo das bactérias pertencentes a esse filo (**Figura 32B**). *TA06* foi enriquecido de 20,6% no controle para 22,3%, 22,6% e 22,7% nas biomassas aditivadas com CAG, FeVZ+CAG e Fe_3O_4 +CAG, respectivamente. Embora informações sobre esse filo sejam escassas na literatura, Xu *et al.* (2023) também relataram que o CAG pode elevar a abundância de *TA06*, influenciando positivamente a fermentação da matéria orgânica.

Outro filo termofílico importante na DAT de resíduos orgânicos é o *Coprothermobacterota*, sendo o gênero *Coprothermobacter* o mais proeminente. Essas bactérias são estritamente anaeróbias, termofílicas, proteolíticas, produtoras de CH_3COO^- , H_2 e CO_2 , são BSOA e são capazes de estabelecer TDEI via aditivos condutores (W. Li *et al.*, 2023). Devido a essas características podem manter interações sintróficas promotoras de crescimento com AMAs e AMHs, sendo *Methanothermobacter* seu principal parceiro (Deligiannis *et al.*, 2024). Com efeito, *Coprothermobacter* é fundamental para a ocorrência da via metabólica OSA-MH, que é uma rota favorecida em digestores termofílicos (Y. Chen *et al.*, 2023). *Coprothermobacterota* apresentou baixa abundância em RSI 0,5, mas foi enriquecido em RSI 2,0, representando de 9% a 26% da população total de bactérias nas BTs (**Figura 32A**). Esse resultado coincidiu com a redução da abundância de *TA06* em RSI 2,0, sugerindo que ambos os filot desempenham papel semelhante na degradação da matéria orgânica, mas *Coprothermobacterota* prevalece em ambientes com maior carga orgânica e maior teor de NAT. A abundância relativa de *Coprothermobacter* foi elevada na presença dos aditivos, passando de 9,5% no controle para 12,4%, 13,6% e 16,8% nas biomassas que receberam CAG, FeVZ, e Fe_3O_4 , nessa ordem. Entretanto, não foi observado efeito positivos das associações (FeVZ+CAG e Fe_3O_4 +CAG), implicando que uma maior dose por material seja fundamental para enriquecer essas bactérias. Além disso, as combinações entre materiais favoreceram a outros microrganismos, como os pertencentes ao filo *Synergistota* (**Figura 32B**).

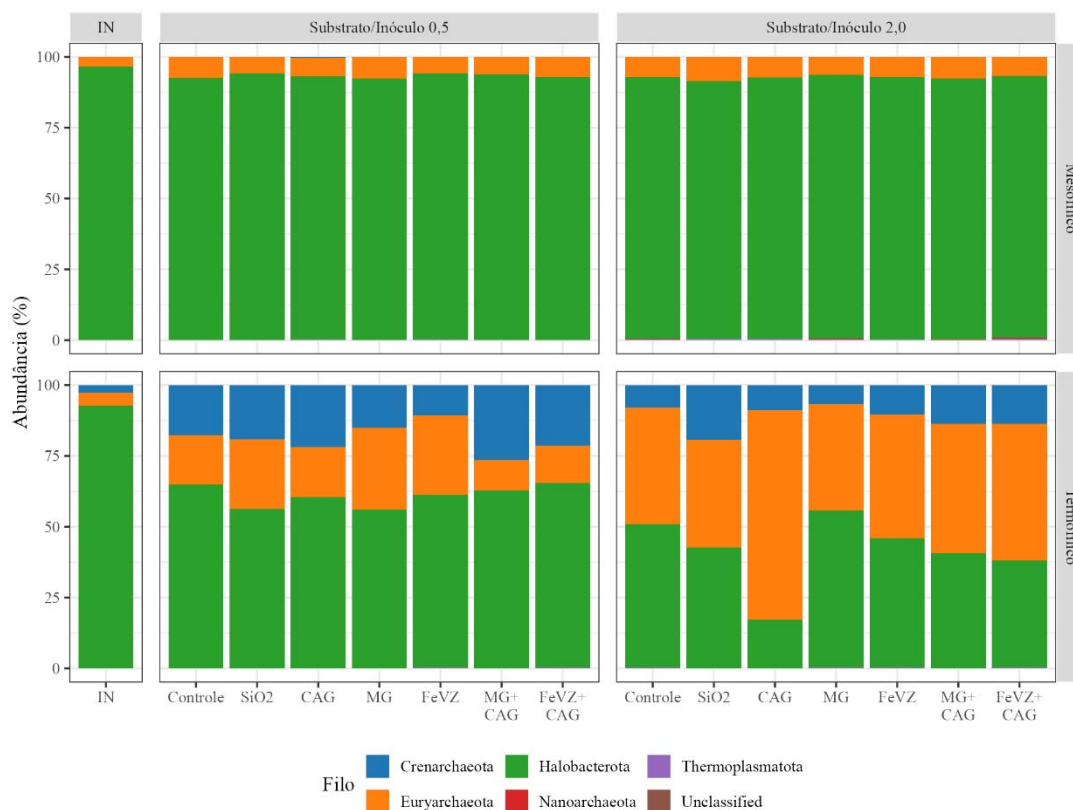
6.3.4.3 Estrutura da Comunidade Arqueal

A comunidade arqueal mesofílica foi composta por *Methanotherix*, *Methanolinea* e *Methanobacterium*, sendo os dois primeiros gêneros pertencentes ao filo *Halobacterota* e o terceiro ao filo *Euryarchaeota*. Enquanto isso, na comunidade arqueal termofílica ocorreu uma maior diversificação de gêneros, preponderando *Methanothermobacter* e *Methanobacterium* do filo *Euryarchaeota*, *Methanolinea*, *Methanotherix* e *Methanosarcina* do filo *Halobacterota* e *Candidatus Methanomethylicus* do filo *Crenarchaeota* (**Figura 33A**). O regime de temperatura aplicado aos digestores anaeróbios também alterou a comunidade de arqueias em nível taxonômico de espécies. Nesse sentido, *Methanotherix soehngenii*, *midas s 4938* pertencente ao gênero *Methanolinea* e *Methanobacterium beijingense* prevaleceram na DAM, enquanto *midas s 98390* pertencente ao gênero *Methanotherix*, *Methanolinea tarda* e *Methanosarcina thermophila* preponderaram na DAT. As espécies taxonômicas de *Methanothermobacter* e *Candidatus Methanomethylicus* não foram classificadas pelo banco de dados MIDAS.

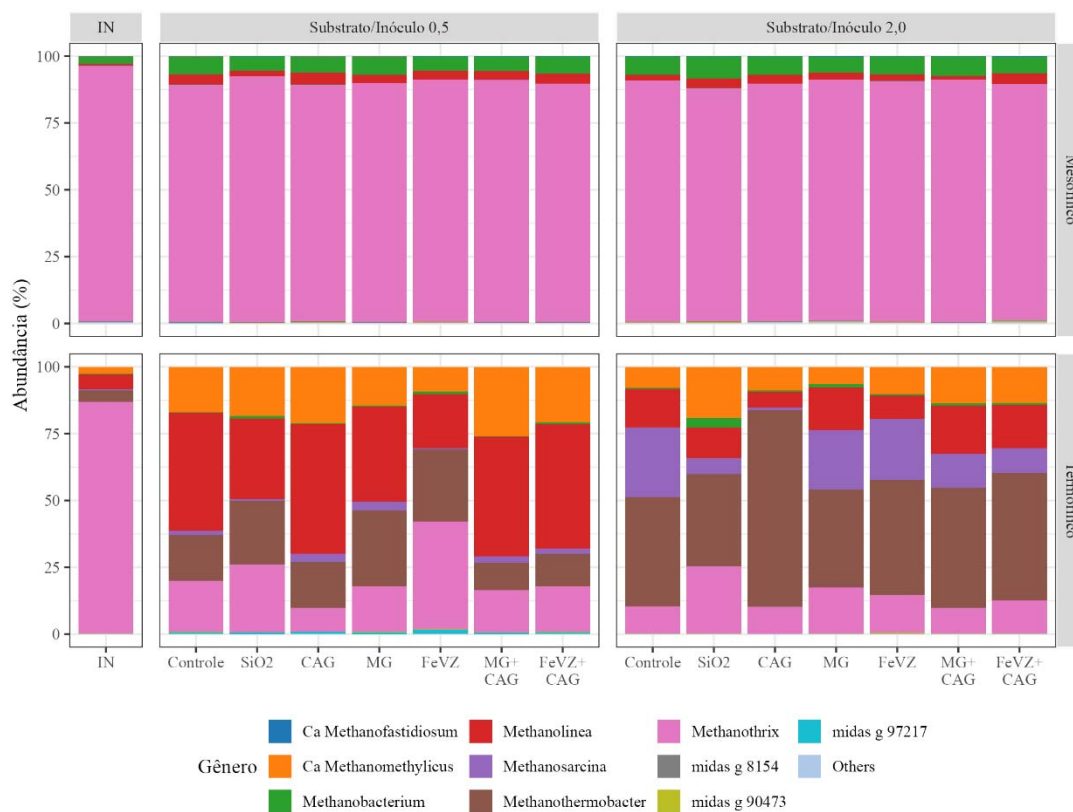
Methanotherix é uma arqueia acetoclástica incapaz de utilizar H_2 na redução de CO_2 a CH_4 , mas é apta a direcionar elétrons aceitos via TDEI para essa finalidade (Rotaru *et al.*, 2014). Enquanto isso, *Methanosarcina* é um metanogênico mixotrófico (acetoclástico, hidrogenotrófico e metilotrófico) que pode utilizar CH_3COO^- , metanol, metilaminas, H_2/CO_2 e monóxido de carbono (CO) para gerar CH_4 (Yang Li *et al.*, 2024). *Methanolinea* e *Methanobacterium* são arqueias metanogênicas hidrogenotróficas que podem capturar elétrons diretamente do ambiente externo ou de meios condutores para sintetizar CH_4 (Song *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2020). *Methanothermobacter* é uma arqueia metanogênica termofílica hidrogenotrófica que cresce de forma ideal em temperaturas entre 55 °C e 65 °C e suporta ambientes ricos em NAT (Lin *et al.*, 2024). Já o gênero *Candidatus Methanomethylicus* é composto por arqueias metanogênicas metilotróficas (AMMs), as quais são adaptadas a ambientes com alto teor de NH_4^+ (Tirapanampai *et al.*, 2022).

Figura 33 – Classificação taxonômica da comunidade arqueal ao nível de Filo e Gênero.

A. FILO



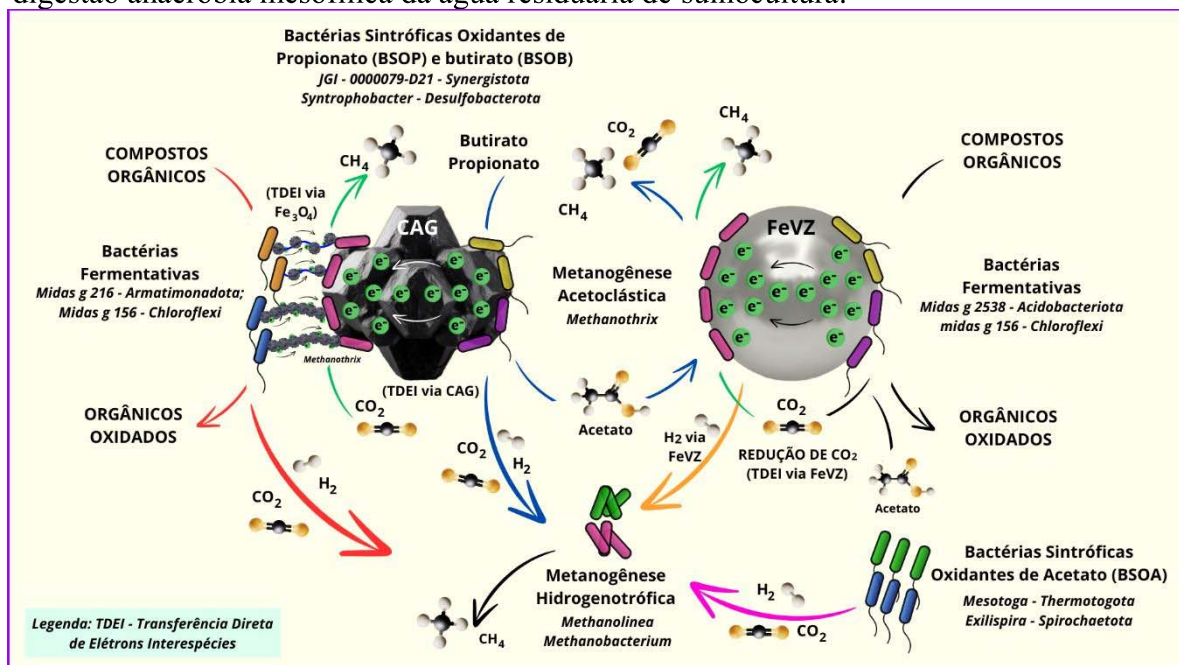
B. GÊNERO



Fonte: O autor (2025).

A RSI e os aditivos não exerceram impacto significativo na estrutura da comunidade de arqueias mesofílicas (**Figura 33**). No entanto, os aditivos viabilizaram TDEI entre bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas, exercendo efeitos positivos sobre a DAM da ARS (**Tabelas 19 e 20**). *Methanothrix* dominou as BMs com 88% a 92% de abundância relativa, seguido por *Methanobacterium* com 5% a 8% e *Methanolinea* com 1% a 4%. Na DAM, os potenciais parceiros de TDEI das arqueias *Methanothrix* foram as bactérias fermentativas: *midas g 2538* (*Acidobacteriota*) via FeVZ, Fe_3O_4 , CAG e as associações, *midas g 216* (*Armatimonadota*) mediante Fe_3O_4 , *midas g 156* (*Chloroflexi*) por meio de Fe_3O_4 e FeVZ e *Syntrophobacter* (*Desulfobacterota*) e *JGI-0000079-D21* (*Synergistota*) por intermédio de CAG. Enquanto isso, as bactérias *Exilispira* (*Spirochaetota*) e *Mesotoga* (*Thermotogota*) devem ter estabelecido sintrofia com *Methanobacterium* e *Methanolinea* pela disponibilização de H_2 a partir da OSA. Os principais resultados obtidos pela inserção dos aditivos na DAM da ARS quanto aos mecanismos de transferência de elétrons e os microrganismos envolvidos nesses processos são resumidos na **Figura 34** e na **Tabela 23**.

Figura 34 – Interações sintróficas de degradação de matéria orgânica, de produção de metano e de transferência extracelular de elétrons estimuladas pelos aditivos condutores na digestão anaeróbica mesofílica da água residuária de suinocultura.



Fonte: O autor (2025).

Tabela 23 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe₃O₄ e das associações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) da água residuária de suinocultura (ARS).

Aditivos	Digestão Anaeróbia Mesofílica (DAM)	
	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
Fe₃O₄	Aperfeiçoou o processo anaeróbio em RSI 0,5, elevando em 7,2%, 8,1%, 2,0% 24,2% e 33,1% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ no biogás, <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem. Em RSI 2,0, não apresentou impactos positivos consideráveis.	
CAG	Em RSI 0,5, a capacidade de adsorção desse material parece ter superado o efeito como aditivo condutor, indisponibilizando matéria orgânica e, com efeito, reduzindo a síntese de CH ₄ . Apesar disso, promoveu excelente desempenho cinético dos digestores, aumentando <i>k</i> e <i>μ</i> . Em RSI 2,0, foi o aditivo que mais beneficiou o processo, aumentando em 11,0%, 8,6%, 10,2% e 26,3% o PBM, Y ₁ , <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem.	Potenciais parceiros de TDEI das arqueias <i>Methanothrix</i>: <i>midas g 2538</i> via FeVZ e CAG, <i>midas g 216</i> mediante Fe ₃ O ₄ , <i>midas g 156</i> por meio de Fe ₃ O ₄ e FeVZ e <i>Syntrophobacter</i> e <i>JGI-0000079-D21</i> por intermédio de CAG.
FeVZ	Foi o aditivo que mais potencializou a produção de CH ₄ . Sua aplicação retornou melhor desempenho em RSI 0,5, na qual cresceu ao controle 19,4%, 20,1%, 22,1%, 17,6%, 40,5% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ no biogás, <i>k</i> e <i>μ</i> , respectivamente. Gerou um biogás com 100% de CH ₄ .	
Fe₃O₄+CAG	Essa combinação de aditivos aperfeiçoou o processo anaeróbio, mas os resultados foram abaixo do esperado. Entende-se que a menor dose por aditivo (1 g L ⁻¹) enfraqueceu o efeito benéfico sobre o processo anaeróbio realizado por uma biomassa com elevada atividade metanogênica específica. Os melhores resultados foram obtidos em RSI 0,5 (aumento de 2,2%, 3,0%, 35,3% e 38,3% em PBM, teor de CH ₄ , <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem), indicando que para uma maior carga aplicada seria necessária uma maior dose de aditivos para a obtenção de impactos mais expressivos.	Microrganismos participantes da oxidação sintrófica de acetato seguida de metanogênese hidrogenotrófica: <i>Exilispira</i> , <i>Mesotoga</i> , <i>Methanobacterium</i> e <i>Methanolinea</i> .
FeVZ+CAG	Essa associação mostrou-se uma excelente estratégia para impulsionar o processo anaeróbio, combinando a capacidade do FeVZ de elevar a síntese de CH ₄ via liberação de H ₂ e ativação de enzimas-chave da acidogênese e metanogênese, com o melhoramento cinético ocasionado pelo CAG. Obteve melhor resultado do que a combinação Fe ₃ O ₄ +CAG, mas de forma semelhante seus efeitos foram mais expressivos em RSI 0,5. Assim, em RSI 0,5, o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ , <i>k</i> e <i>μ</i> foram elevados em 11,7%, 9,9%, 22,1%, 24,1% e 38,6%, nessa sequência.	Principal bactéria funcional fermentativa: <i>Georgenia</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ: tempo de fase lag; *k*: velocidade de produção de metano; *μ*: taxa máxima de produção de metano.

Fonte: O autor (2025).

Na DAT, a abundância relativa de *Methanothrix* foi reduzida para a faixa de 8% a 40% em RSI 0,5 e para 9% a 25% em RSI 2,0. Isso ocorreu devido às características inerentes aos digestores termofílicos, como altos teores de ácido acético e de NAT, os quais tendem a acumular devido às elevadas taxas de fermentação de carboidratos e proteínas. Apesar de *Methanothrix* ter alta afinidade por CH_3COO^- , essa arqueia prevalece em ambientes com baixas concentrações desse ácido, pois é extremamente sensível ao acúmulo de AGVs, além de não suportar ambientes ricos em NAT (Peng *et al.*, 2024). Enquanto isso, *Methanosarcina* possui alta taxa de crescimento específico e capacidade de formar aglomerados celulares espessos que conferem maior resistência contra inibidores metanogênicos, como o NAT, e consegue degradar o ácido acético mesmo em ambientes com elevados teores desse ácido orgânico (Andriamanohiarisoamanana *et al.*, 2024). Essas características da *Methanosarcina* justificam seu enriquecimento na DAT, compreendendo de 5% a 26% do total de arqueias nas BTs em RSI 2,0, condição que apresentou maior concentração de NAL e AGVs devido à maior carga orgânica aplicada (**Tabelas 21 e 22**). *Methanosarcina* foi enriquecida pelos aditivos em RSI 0,5, mas em RSI 2,0 não foram observados efeitos positivos desses materiais sobre a abundância dessa arqueia. Enquanto isso, *Methanothrix* foi beneficiada pelos materiais à base de ferro nas duas RSI avaliadas (**Figura 33B**).

O maior teor de NAL na DAT está associado ao estímulo à metanogênese metilotrófica devido favorecer o enriquecimento de AMMs, como a *Candidatus Methanomethylicus*. Conforme Beraud-Martínez *et al.* (2024), as AMMs são capazes de resistir ao estresse osmótico relacionado à presença de NAL por meio de captação de soluto e potássio (K^+), o que gera uma vantagem sobre AMAs. Aliado a isso, a ARS é rica em precursores de metilaminas, como colina, glicina e betaina, advindas da fermentação de proteínas presentes na ração e na suplementação vitamínica, como vitaminas do complexo B, dos suínos (King, 1984; Lourinho *et al.*, 2020; Mahmood *et al.*, 2020).

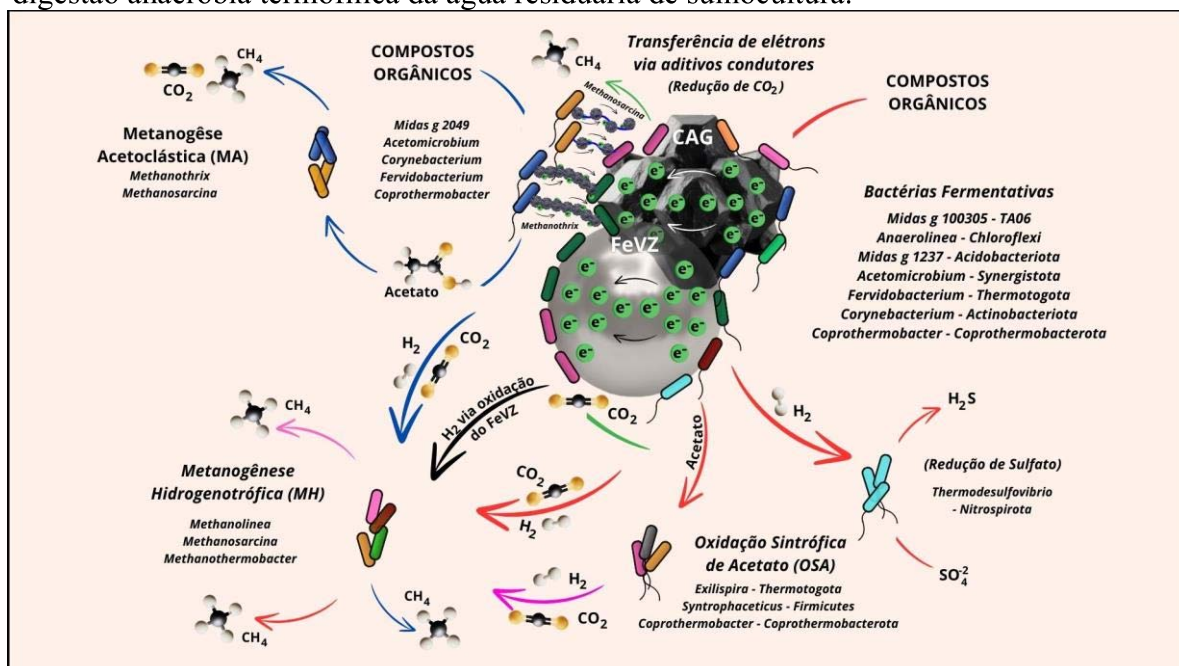
As AMHs (*Methanothermobacter* e *Methanolinea*) e a AMM (*Candidatus Methanomethylicus*) foram as mais favorecidas na DAT (**Figura 33B**). *Methanolinea* predominou em RSI 0,5, com abundância na faixa de 20% a 48%. Por outro lado, *Methanothermobacter* prevaleceu em RSI 2,0, correspondendo de 34% a 73% do total de arqueias. *Candidatus Methanomethylicus* compôs as BTs em 6% a 20%, mas apresentou maior abundância em RSI 0,5. *Methanothermobacter* foi enriquecida por FeVZ, Fe_3O_4 e CAG, enquanto *Methanolinea* e *Candidatus Methanomethylicus* foram beneficiadas principalmente por CAG (**Figura 33B**). Esses resultados apontam para a participação desses microrganismos

em TDEI associados com bactérias fermentativas, o que já foi evidenciado por outros trabalhos, como Chen *et al.* (2023b), Lee *et al.* (2016), Shi *et al.*, (2024b) e Zheng *et al.* (2022).

Nota-se que os aditivos exerceram papéis individuais e sinérgicos no aumento dos rendimentos de CH₄ e na estabilidade do sistema termofílico (**Tabelas 19 e 20**). O FeVZ enriqueceu bactérias fermentativas e AMHs e AMAs, fortalecendo a produção de CH₄ via MH, OSA-MH e redução de CO₂ a CH₄ via TDEI. Enquanto isso, o CAG forneceu ambiente adequado para o crescimento microbiano, protegendo os microrganismos do NAT, reduzindo os efeitos negativos desse inibidor às arqueias metanogênicas, e enriqueceu AMHs e AMMs estimulando a TDEI. A Fe₃O₄ enriqueceu arqueias metanogênicas e favoreceu o estabelecimento de TDEI. Com base nos resultados, conclui-se que a DAM foi dominada por AMAs, enquanto a DAT por AMHs, sugerindo a modificação da rota principal de produção de CH₄ de metanogênese acetoclástica (MA) na DAM para MH e OSA-MH na DAT.

Em condições termofílicas, os prováveis parceiros de TDEI das arqueias metanogênicas foram as bactérias fermentativas: *Corynebacterium* (*Actinobacteriota*), *Fervidobacterium* (*Thermotogota*) e *Acetomicrobium* (*Synergistota*) com auxílio de FeVZ e Fe₃O₄, *midas g 1237* (*Acidobacteriota*) via FeVZ e CAG, *midas g 2049* (*Armatimonadota*) mediante Fe₃O₄, *Anaerolinea* (*Chloroflexi*) por meio de FeVZ, *midas g 100305* (*TA06*) por intermédio de CAG e *Coprothermobacter* (*Coprothermobacterota*) com assistência de CAG, Fe₃O₄ e FeVZ. Enquanto isso, as BSOA *Exilispira* (*Spirochaetota*), *Syntrophaceticus* (*Firmicutes*) e *Coprothermobacter* devem ter estabelecido sintrofia com *Methanothermobacter*, *Methanolinea* e *Methanosarcina*, favorecendo a rota metanogênica do OSA-MH. Ressalta-se a interação entre *Thermodesulfovibrio* com AMAs ao disponibilizar CH₃COO⁻ com o consumo de orgânicos para redução de sulfato. As principais interações sintróficas estimuladas pelos aditivos condutores na DAT da ARS são apresentadas na **Figura 35** e na **Tabela 24**.

Figura 35 – Interações sintróficas de degradação de matéria orgânica, de produção de metano e de transferência extracelular de elétrons estimuladas pelos aditivos condutores na digestão anaeróbia termofílica da água residuária de suinocultura.



Fonte: O autor (2025).

Tabela 24 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe₃O₄ e das associações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia termofílica (DAT) da água residuária de suinocultura (ARS).

Aditivos	Digestão Anaeróbia Termofílica (DAT)	
	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
Fe₃O₄	Esse aditivo apresentou melhor <i>performance</i> na DAT em detrimento a DAM. Isso pode estar relacionado com sua capacidade de enriquecer bactérias e arqueias termofílicas, como <i>Fervidobacterium</i> , <i>Acetomicrobium</i> e <i>Methanothermobacter</i> . Em RSI 0,5, elevou o PBM (10,6%), Y ₁ (11,5%), teor de CH ₄ (6,6%), <i>k</i> (7,4%) e μ (28,0%). O impacto foi ainda mais positivo em RSI 2,0, aumentando em 32,2%, 30,1%, 1,9% e 38,9% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ e o μ , nessa ordem, e reduzindo o T80 de 14,1 para 13,5 dias.	Potenciais parceiros de TDEI das arqueias metanogênicas: <i>Corynebacterium</i> , <i>Fervidobacterium</i> e <i>Acetomicrobium</i> com auxílio de FeVZ e Fe ₃ O ₄ , <i>midas g 1237</i> via FeVZ e CAG, <i>midas g 2049</i> mediante Fe ₃ O ₄ , <i>Anaerolinea</i> por meio de FeVZ, <i>midas g 100305</i> por intermédio de CAG e <i>Coprothermobacter</i> com assistência de CAG, Fe ₃ O ₄ e FeVZ.
CAG	Sua capacidade de adsorver matéria orgânica, nitrogênio amoniacal e AGVs beneficiou o processo anaeróbio tanto em RSI 0,5 quanto em RSI 2,0. Enriqueceu o filo TA06 e outros microrganismos funcionais da DAT. Em RSI 0,5, elevou o PBM (8,4%), Y ₁ (5,6%), teor de CH ₄ (5,5%), <i>k</i> (7,7%) e o μ (28,0%). O impacto foi ainda mais positivo em RSI 2,0, aumentando em 17,7%, 13,7%, 0,8% e em 12,1% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ e μ , nessa sequência.	
FeVZ	Foi o material condutor que mais aumentou os rendimentos de produção de CH ₄ . Em RSI 0,5, aumentou o PBM (22,6%), Y ₁ (23,6%), teor de CH ₄ (20,0%), e o μ (35,5%). Já em RSI 2,0, o PBM, o Y ₁ , teor de CH ₄ e o μ foram acrescidos em 24,6%, 28,7%, 4,0% e 17,1%, respectivamente. Contudo, esse aditivo aumentou o T80, provavelmente devido a uma adaptação microbiológica das biomassas ao aditivo.	Microrganismos participantes da oxidação sintrófica de acetato seguida de metanogênese hidrogenotrófica: <i>Exilispira</i> , <i>Syntrophaceticus</i> , <i>Coprothermobacter</i> , <i>Methanothermobacter</i> , <i>Methanolinea</i> e <i>Methanosarcina</i> .
Fe₃O₄+CAG	Em RSI 0,5, o efeito dessa combinação de aditivos foi pouco expressivo. Entretanto, em RSI 2,0, retornou a melhor <i>performance</i> dos digestores anaeróbios. A Fe ₃ O ₄ deve ter atuado no favorecimento à TDEI, enquanto o CAG na retenção de microrganismos, adsorção de nitrogênio amoniacal e AGVs. Em RSI 2,0, elevou o PBM (33,3%), o Y ₁ (28,4%) e o μ (37,4%). Além disso, reduziu o T80 de 14,1 dias para 13,5 dias.	
FeVZ+CAG	Seu efeito positivo foi mais expressivo na DAT do que na DAM. Elevou a <i>performance</i> dos digestores anaeróbios, principalmente em RSI 2,0, na qual o PBM (26,7%), Y ₁ (24,4%), teor de CH ₄ (1,0%) e o μ (33,2%) foram aumentados. Nesse cenário, o T80 foi reduzido de 14,1 dias para 12,6 dias.	Bactéria Redutora de Sulfato (consumidora de H₂): <i>Thermodesulfobivrio</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ : tempo de fase lag; *k*: velocidade de produção de metano; μ : taxa máxima de produção de metano.

Fonte: O autor (2025).

6.3.5 Efeito do Aditivo Não Condutor

O dióxido de silício (SiO_2) apresentou um efeito mais discreto no enriquecimento de bactérias e arqueias importantes para o tratamento anaeróbio da ARS em comparação com os aditivos condutores. Apesar desse material ter aumentado, em alguns cenários, a abundância relativa de arqueias metanogênicas, como *Methanothermobacter*, *Candidatus Methanomethylicus* e *Methanothrix*, e de algumas bactérias fermentativas, como *Georgenia*, *midas g 1237*, *Anaerolinea* e *Coprothermobacter*, isso não gerou uma melhoria expressiva no processo anaeróbio, sendo que os rendimentos de produção de CH_4 e os parâmetros cinéticos dos digestores aditivados com SiO_2 foram semelhantes (estatisticamente sem diferença significativa) ou discretamente superiores aos controles (**Tabela 19** e **Tabela 20**).

Além disso, em alguns cenários, o SiO_2 atrasou a síntese de CH_4 , elevando o tempo de digestão técnica (T80). Na DAM em RSI 2,0, o T80 foi aumentado de $5,7 \pm 0,2$ dias no controle para $6,4 \pm 0,5$ dias pela aplicação desse material. Enquanto isso, na DAT em RSI 2,0, o T80 foi elevado de $14,1 \pm 0,2$ dias no controle para $17,3 \pm 0,4$ dias nos digestores com SiO_2 . Logo, por mais que o SiO_2 atue como um núcleo de agregação de microrganismos, os resultados sugerem que esse aditivo pode ocasionar inicialmente prejuízos à biomassa, como o rompimento celular por atrito. Assim, os microrganismos precisariam de um tempo maior para se adaptarem ao aditivo, como, por exemplo, pela secreção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) visando a aumentar a resistência de cisalhamento do grânulo.

Nesse contexto, Altamirano-Corona *et al.* (2021), investigando o impacto da aplicação de CAG, Fe_3O_4 e biocarvão na DA de resíduos alimentares em experimentos conduzidos em reatores batelada, utilizaram o SiO_2 como um aditivo de controle. Os autores reportaram que o SiO_2 teve pouco efeito no aumento da produção de CH_4 , elevando em 4,1% o PBM ($475,2 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSV}^{-1}$ no controle para $494,8 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSV}^{-1}$). Enquanto isso, 100 mg L^{-1} de Fe_3O_4 apresentou o melhor resultado, aumentando o PBM para $618,3 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kgSV}^{-1}$, o que correspondia a 30,1% mais CH_4 do que o controle. Liu *et al.* (2012a), também relataram que esferas de vidro com diâmetros entre 0,1 e 1,5 mm não foram capazes de estimular a TDEI entre co-culturas de *Geobacter metallireducens* e *Geobacter sulfurreducens*, mas favoreceram a formação de biofilmes. Portanto, o SiO_2 , um material com baixa condutividade elétrica, não intermediou TDEI, mas pode ter atuado como um núcleo de agregação microbiana contribuindo para a formação biogrânulos e, conseqüentemente, facilitado a TIEI por difusão dos carreadores externos de elétrons devido a aproximação dos microrganismos anaeróbios, justificando a tímida melhoria das variáveis resposta do teste de PBM (**Tabelas 19 e 20**).

6.4 Conclusão

Este trabalho avaliou a influência da aplicação de carvão ativado granular (CAG), ferro de valência zero (FeVZ) e nanomagnetita (Fe_3O_4) na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) e termofílica (DAT) da água residuária de suinocultura (ARS) em condições de baixa e de elevada carga orgânica, regulada pelo parâmetro razão substrato inóculo (RSI). Concluiu-se que a *performance* dos digestores foi aperfeiçoada pela aplicação dos aditivos condutores de elétrons, os quais estimularam a transferência direta de elétrons interespecies (TDEI), aceleraram a cinética de metanização e aumentaram a produção de metano (CH_4). Em todas as condições avaliadas, a DAM foi mais eficiente do que a DAT, apontando para a necessidade de mais estudos que visem otimizar o tratamento da ARS em condições termofílicas.

Na DAM em RSI 0,5, o CAG apresentou maior êxito em otimizar a cinética de metanização, elevando em 29,9% a velocidade de produção de CH_4 (k) e reduzindo o tempo de digestão técnica (T80) em 15,9%. Enquanto isso, o FeVZ foi o material que mais aumentou o potencial bioquímico de metano (PBM, +19,4%), a taxa máxima de produção de metano (μ , +40,5%) e o teor de CH_4 no biogás (+22,1%). Em RSI 2,0, o CAG destacou-se dentre os demais materiais, promovendo acréscimos de 11%, 10,2% e 26,3% no PBM, k e μ , respectivamente, além de reduzir o T80 em 7,0%. *Methanothrix soehngensis*, uma arqueia metanogênica acetoclástica (AMA), dominou a metanogênese em condições mesofílicas e pode ter estabelecido relações sintróficas de TDEI com bactérias fermentativas, como *midas g 2538*, *midas g 216*, *midas g 156*, *Syntrophobacter* e *JGI-0000079-D21*, via auxílio de aditivos.

Nos ensaios termofílicos em RSI 0,5, o FeVZ aumentou o PBM, o rendimento de produção (Y_1), o teor de CH_4 e o μ em 22,6%, 23,6%, 20,0% e 35,5%, nessa ordem. Por outro lado, o CAG e as combinações propiciaram melhor desempenho cinético. Na DAT em RSI 2,0, a Fe_3O_4 , o FeVZ e as combinações Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG obtiveram melhor desempenho. A Fe_3O_4 , por exemplo, elevou o PBM (+32,2%), o Y_1 (+30,1%), o teor de CH_4 (+1,9%), o μ (+38,9%) e reduziu o T80 em 4,3%. A comunidade arqueal termofílica foi mais diversificada, preponderando *Methanothermobacter*, *Methanobacterium*, *Methanolinea*, *Methanothrix*, *Methanosarcina* e *Candidatus Methanomethylicus*, sendo seus prováveis parceiros de TDEI gêneros bacterianos: *Corynebacterium*, *Fervidobacterium*, *Acetomicrobium*, *midas g 1237*, *midas g 2049*, *Anaerolinea*, *midas g 100305* e *Coprothermobacter*. Com efeito, conclui-se que a DAM foi dominada por AMAs, enquanto a DAT por arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (AMHs), sugerindo a modificação da rota principal de produção de CH_4 de metanogênese acetoclástica na DAM para metanogênese hidrogenotrófica na DAT.

6.5 Material Suplementar

O teste de Atividade Metanogênica Específica (AME) foi conduzido em frascos de vidro com 110 mL de volume total, sendo 50 mL de volume reacional e 60 mL de *headspace*. O teste foi realizado sob regime de batelada com um tempo experimental de 14 dias. A elaboração do meio basal, a preparação dos reatores e as condições operacionais (temperatura e agitação) do teste de AME foram semelhantes as empregadas no teste de PBM. A RSI foi de $0,50 \pm 0,01$ gDQO·gSSV⁻¹ (2 gDQO L⁻¹ de glicose como fonte de carbono e 4 gSSV L⁻¹ de inóculo). O experimento foi realizado em triplicata para cada inóculo avaliado (LC, LM e LT), totalizando 9 reatores. A AME foi obtida pela razão entre taxa máxima de produção de CH₄ (μ), obtida algebricamente no intervalo de maior inclinação da curva cumulativa de metano (CCM), e a massa de lodo utilizada no teste (Longaretti *et al.*, 2019). Os valores de AME foram calculados conforme **Equações 6.S1 a 6.S3**.

$$\mu = \frac{dV}{dt} \quad \text{Eq. 6.S1}$$

$$AME = \frac{\mu \cdot f_T}{V_R \cdot C_{SSV}} \quad \text{Eq. 6.S2}$$

$$f_T = \frac{P \cdot K_{DQO}}{R \cdot (273 + T)} \quad \text{Eq. 6.S3}$$

Onde:

μ : taxa máxima de produção de metano (N_{LCH₄} d⁻¹); AME é atividade metanogênica específica (gDQO_{CH₄} gSSV⁻¹ d⁻¹); $f(T)$ é o fator de correção para uma temperatura de operação do reator (gDQO_{CH₄} N_{LCH₄}⁻¹); V_R é o volume de reação (L); C_{SSV} é a concentração de sólidos no reator (gSSV L⁻¹); P é a pressão atmosférica (1 atm); K_{DQO} é DQO correspondente a 1 mol de CH₄ (64 gDQO mol⁻¹); R é a constante de gás (0,08206 atm L mol⁻¹ K⁻¹) e T é a temperatura de operação do reator (°C).

Tabela 25 – Equações dos rendimentos de remoção de matéria orgânica, de produção de metano e fórmulas dos modelos matemáticos de produção.

Rendimentos		
$ER = \frac{DQO_{REMOVIDA}}{DQO_{APLICADA}}$		Eq. 6.S4
$Y1_{CH4} = \frac{DQO_{CH4}}{DQO_{REMOVIDA}}$		Eq. 6.S5
$Y2_{CH4} = \frac{DQO_{CH4}}{DQO_{APLICADA}}$		Eq. 6.S6
$Y_R = \frac{V_{CH4R} - V_{CH4C}}{M_{MC}}$		Eq. 6.S7
Modelo de Primeira Ordem-Exponencial		
$M_t = M[1 - \exp(-kt)]$		Eq. 6.S8
Modelo de Gompertz Modificado		
$M_t = M \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu e}{M} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$		Eq. 6.S9
Modelo Logístico		
$M_t = \frac{M}{1 + \exp \left[\frac{4 \mu (\lambda - t)}{M} + 2 \right]}$		Eq. 6.S10
Modelo Transference		
$M_t = M \left\{ 1 - \exp \left[-\frac{\mu(t - \lambda)}{M} \right] \right\}$		Eq. 6.S11

Legenda: ER: eficiência de remoção; DQO_{REMOVIDA}: massa de DQO removida do sistema; DQO_{APLICADA}: massa de DQO total aplicada ao reator; DQO_{CH4}: massa de DQO removida por produção de metano; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; Y₂: rendimento de produção de metano por DQO aplicada; V_{CH4R}: volume de CH₄ produzido nos reatores com aditivos; V_{CH4C}: volume de CH₄ produzido nos reatores controle (sem aditivos); M_{MC}: massa de material condutor adicionada; Y_R: rendimento de produção de CH₄ por massa de aditivo adicionada; M_t: metano acumulado; M: volume total de metano gerado; k: constante de velocidade produção de metano de primeira-ordem; t: tempo de digestão; e: número de Euler; λ: tempo da fase *lag*; μ: taxa máxima de produção de metano.

Fonte: O autor (2025).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (Y_{i,exp} - Y_{i,est})^2}{\sum_i (Y_{i,exp} - \bar{Y})^2} \quad \text{Eq. 4.S12}$$

$$NRMSE = \left[\frac{\sqrt{\frac{\sum_i (Y_{i,exp} - Y_{i,est})^2}{n}}}{(Y_{max} - Y_{min})} \right] \cdot 100 \quad \text{Eq. 4.S13}$$

$$AIC = N \cdot \ln \left(\frac{SS}{N} \right) + 2k \quad \text{Eq. 4.S14}$$

Onde:

R^2 é o valor do coeficiente de determinação (adimensional); $Y_{i,exp}$ é o valor dos dados experimentais; $Y_{i,est}$ é o valor estimado pelo modelo; \bar{Y} é a média dos dados experimentais; NRMSE é um erro quadrático médio (adimensional); n é o número de pontos de dados experimentais (observações); Y_{max} e Y_{min} são os valores máximo e mínimo observados para a variável resposta avaliada, respectivamente; AIC é o Critério de Informação de Akaike (adimensional); N é o número de observações de dados experimentais; SS é a soma quadrada dos resíduos e k é o número de parâmetros do modelo.

$$V_{CH_4} = CH_4 \cdot P_{man} \cdot K \quad \text{Eq. 4.S15}$$

$$K = \frac{V_{HP} \cdot T_{Ref}}{P_{Ref} \cdot T_{Test}} \quad \text{Eq. 4.S16}$$

$$PBM = \frac{V_{CH_4R} - V_{CH_4C}}{M_{SSV}} \quad \text{Eq. 4.S17}$$

Onde:

V_{CH_4} é o volume de CH_4 gerado (mL_{CH_4}); CH_4 é a porcentagem de metano no biogás; P_{man} é a pressão registrada pelo manômetro (mbar); K é o fator de conversão ($mL_{CH_4} \text{ mbar}^{-1}$); V_{HP} é o volume de *headspace* do reator (mL); T_{ref} é a temperatura de referência (273 K); P_{ref} é a pressão de referência (1 atm = 1013,25 mbar) e T_{test} é a temperatura de teste em Kelvin (K); PBM é a produção bioquímica de metano ($NL_{CH_4} \text{ kgSSV}^{-1}$); V_{CH_4R} é o volume total de metano produzido no reator de trabalho (NL_{CH_4}); V_{CH_4C} é o volume total de metano produzido no reator de controle endógeno (NL_{CH_4}), e M_{SSV} é a massa de sólidos no reator de trabalho (kgSSV).

Tabela 26 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM em RSI 0,5.

Ensaio Mesofílico								
Modelo	Parâmetros	CR	SiO₂	Fe₃O₄	CAG	FeVZ	Fe₃O₄+	FeVZ+
Primeira Ordem Exponencial	R²	0,993	0,991	0,991	0,988	0,992	0,984	0,987
	NRMSE	2,53	2,73	2,68	3,08	2,64	3,55	3,19
	AIC	46,89	50,02	50,48	52,29	53,10	57,03	56,20
Gompertz Modificado	R²	0,972	0,966	0,968	0,964	0,970	0,957	0,963
	NRMSE	4,96	5,37	5,08	5,31	5,00	5,78	5,45
	AIC	67,75	70,92	70,37	69,52	72,96	72,66	73,47
Logístico	R²	0,960	0,953	0,954	0,948	0,957	0,940	0,948
	NRMSE	5,88	6,30	6,14	6,39	5,98	6,81	6,45
	AIC	72,53	75,41	75,66	74,71	77,94	77,24	78,19
Transference	R²	0,993	0,991	0,991	0,988	0,992	0,984	0,987
	NRMSE	2,53	2,73	2,68	3,08	2,64	3,55	3,19
	AIC	48,89	52,02	52,48	54,29	55,10	59,03	58,50
Ensaio Termofílico								
Modelo	Parâmetros	CR	SiO₂	Fe₃O₄	CAG	FeVZ	Fe₃O₄+	FeVZ+
Primeira Ordem Exponencial	R²	0,970	0,961	0,956	0,950	0,949	0,961	0,977
	NRMSE	5,34	5,84	6,09	6,50	6,58	5,90	4,53
	AIC	68,17	71,80	74,69	75,93	79,75	72,46	66,89
Gompertz Modificado	R²	0,948	0,922	0,905	0,898	0,897	0,927	0,946
	NRMSE	7,08	8,26	9,01	9,27	9,39	8,08	6,97
	AIC	78,08	83,51	87,64	87,88	91,69	83,28	80,93
Logístico	R²	0,947	0,918	0,897	0,892	0,892	0,925	0,941
	NRMSE	7,09	8,48	9,37	9,53	9,61	8,18	7,32
	AIC	78,10	84,23	88,74	88,66	92,34	83,62	82,30
Transference	R²	0,970	0,961	0,956	0,950	0,949	0,961	0,977
	NRMSE	5,34	5,84	6,09	6,50	6,58	5,90	4,53
	AIC	70,17	73,80	76,69	77,93	81,75	74,46	68,89

Legenda: CR: controle; SiO₂: dióxido de silício; Fe₃O₄: nanomagnetita; CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄+: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; FeVZ+: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 27 – Parâmetros utilizados para comparar os resultados do ajuste cinético realizado pela aplicação de diferentes modelos matemáticos nos ensaios de PBM em RSI 2,0.

Ensaios Mesofílicos								
Modelo	Parâmetros	CR	SiO₂	Fe₃O₄	CAG	FeVZ	Fe₃O₄+	FeVZ+
Primeira Ordem Exponencial	R²	0,993	0,995	0,992	0,995	0,994	0,993	0,998
	NRMSE	2,66	2,16	2,92	2,23	2,60	2,69	1,60
	AIC	78,60	72,21	80,98	76,60	79,72	80,10	65,57
Gompertz Modificado	R²	0,993	0,986	0,992	0,992	0,994	0,992	0,988
	NRMSE	2,63	3,75	3,03	2,93	2,56	2,90	3,55
	AIC	80,32	89,62	83,98	86,20	81,22	84,19	89,81
Logístico	R²	0,987	0,979	0,986	0,984	0,986	0,985	0,979
	NRMSE	3,70	4,58	3,85	3,99	3,86	3,92	4,70
	AIC	89,84	95,24	90,66	94,85	92,77	92,63	97,65
Transference	R²	0,994	0,995	0,992	0,995	0,994	0,993	0,998
	NRMSE	2,58	2,16	2,90	2,20	2,50	2,64	1,60
	AIC	79,79	74,21	82,75	78,24	80,55	81,53	67,57
Ensaios Termofílicos								
Modelo	Parâmetros	CR	SiO₂	Fe₃O₄	CAG	FeVZ	Fe₃O₄+	FeVZ+
Primeira Ordem Exponencial	R²	0,955	0,841	0,900	0,963	0,902	0,975	0,975
	NRMSE	7,12	13,38	11,39	6,34	10,86	5,17	5,36
	AIC	97,07	115,85	118,05	98,40	115,05	96,18	95,73
Gompertz Modificado	R²	0,968	0,894	0,947	0,977	0,944	0,980	0,987
	NRMSE	5,95	10,94	8,30	5,03	8,20	4,56	3,90
	AIC	94,05	112,21	111,19	93,92	109,20	94,68	88,84
Logístico	R²	0,975	0,926	0,968	0,982	0,965	0,981	0,987
	NRMSE	5,25	9,16	6,44	4,45	6,50	4,50	3,84
	AIC	90,57	107,23	104,08	90,50	102,69	94,25	88,37
Transference	R²	0,955	0,841	0,901	0,963	0,902	0,975	0,975
	NRMSE	7,12	13,38	11,36	6,34	10,86	5,17	5,36
	AIC	99,07	117,85	119,99	100,40	117,05	98,18	97,73

Legenda: CR: controle; SiO₂: dióxido de silício; Fe₃O₄: nanomagnetita; CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄+: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; FeVZ+: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 28 – Composição das comunidades microbianas (abundância relativa) em nível taxonômico de domínio.

Biomassas Mesofílicas				
Biomassas	RSI 0,5		RSI 2,0	
	Bactérias (%)	Arqueias (%)	Bactérias (%)	Arqueias (%)
R_{IN}	33,98	66,02	33,98	66,02
R_C	37,18	62,81	35,72	64,28
R_{SiO2}	32,06	67,94	31,95	68,05
R_{Fe3O4}	38,56	61,44	31,33	68,67
R_{CAG}	38,32	61,68	33,71	66,29
R_{FeVZ}	33,40	66,60	32,31	67,69
R_{Fe3O4+}	35,49	64,51	39,17	60,83
R_{FeVZ+}	35,03	64,97	38,97	61,03
Biomassas Termofílicas				
Biomassas	RSI 0,5		RSI 2,0	
	Bactérias (%)	Arqueias (%)	Bactérias (%)	Arqueias (%)
R_{IN}	51,27	48,73	51,27	48,73
R_C	56,78	43,22	62,08	37,92
R_{SiO2}	66,56	33,44	79,08	20,92
R_{Fe3O4}	61,37	38,63	60,36	39,64
R_{CAG}	62,37	37,63	62,11	34,89
R_{FeVZ}	69,50	30,50	61,09	38,91
R_{Fe3O4+}	60,08	39,91	67,69	32,31
R_{FeVZ+}	59,18	40,82	63,41	36,59

Legenda: RSI: razão substrato inóculo; R_{IN}: reator inóculo; R_{CR}: reator controle; R_{SiO2}: dióxido de silício; R_{CAG}: carvão ativado granular; R_{Fe3O4}: nanomagnetita; R_{FeVZ}: ferro de valência zero; R_{Fe3O4+}: nanomagnetita associada com carvão ativado granular; R_{FeVZ+}: ferro de valência zero associado com carvão ativado granular.

Fonte: O autor (2025).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho avaliou o potencial de materiais condutores (MCs) de elétrons, como o óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita (OG-Fe₃O₄), o carvão ativado granular (CAG), o ferro de valência zero (FeVZ), a nanomagnetita (Fe₃O₄) e as associações entre esses aditivos, no tratamento anaeróbico da água residuária de suinocultura (ARS), fundamentando seus resultados nas propriedades físico-químicas desses materiais, no estudo cinético de produção de metano (CH₄) e em estudos de biologia molecular, que permitiram detectar os principais microrganismos envolvidos nos processos de transferência de elétrons.

Com o objetivo de elevar o desempenho da biometanização da ARS, foram avaliados fatores e parâmetros que influenciam na digestão anaeróbia (DA) de resíduos orgânicos, sendo eles: 1) a aplicação de aditivos condutores de elétrons em diferentes doses (3 mg L⁻¹ e 150 mg L⁻¹ para OG-FeO₄, 0,4, 2,0 e 4,0 g L⁻¹ para CAG, FeVZ e Fe₃O₄ e 2,0 g L⁻¹ para Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG, na proporção 1,0 g L⁻¹ para 1,0 g L⁻¹), 2) o aumento do tempo experimental via realização de bateladas alimentadas (3 ciclos de tratamento para as bateladas com OG-FeO₄ e 2 ciclos de tratamento para as bateladas com CAG, FeVZ, Fe₃O₄, Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG), 3) o uso de diferentes tipos de inóculos com distintas Atividades Metanogênicas Específicas – AME (lodo sanitário com AME de 0,141 gDQO_{CH4} gSSV⁻¹ d⁻¹, lodo de cervejaria com AME de 0,263 gDQO_{CH4} gSSV⁻¹ d⁻¹, lodo mesofílico do tratamento de glicose com AME de 0,759 gDQO_{CH4} gSSV⁻¹ d⁻¹, e lodo termofílico do tratamento de glicose com AME de 0,665 gDQO_{CH4} gSSV⁻¹ d⁻¹), 4) a razão substrato inóculo (RSI, 0,5 e 2,0 gDQO gSSV⁻¹) e 5) condições mesofílicas (37 °C) e termofílicas (55 °C) de tratamento.

A aplicação de MCs otimizou o tratamento anaeróbico da ARS ao aumentar o Potencial Bioquímico de Metano (PBM), ao acelerar a cinética de metanização, diminuindo o tempo inicial de geração de CH₄ (fase *lag*, λ) e aumentando a velocidade (k) e a taxa máxima de produção de CH₄ (μ), ao aumentar o teor de CH₄ no biogás e ao enriquecer bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas. A cinética de metanização foi mais beneficiada pelos aditivos nos ensaios realizados por biomassas com baixa AME (LS, LC) em detrimento a biomassas com elevada AME (LM e LT), as quais já possuem interações sintróficas mais consolidadas. Adicionar MCs promoveu a redução da λ já no primeiro ciclo de tratamento da ARS, sugerindo que essa estratégia é promissora para auxiliar na partida de reatores anaeróbios em escala real. Esses resultados de aprimoramento cinético foram discutidos com base nos mecanismos de transporte de elétrons (transferência indireta de elétrons interespecies – TIEI e transferência direta de elétrons interespecies – TDEI) estimulados pelos MCs.

Os MCs também tornaram a DA de elevada carga orgânica (8 gDQO L⁻¹, RSI igual a 2,0) e em condições mesofílicas e termofílicas mais estável, elevando a remoção de matéria orgânica, o PBM e o teor de CH₄ no biogás. Esse resultado foi correlacionado com a capacidade dos materiais condutores favorecerem o estabelecimento de TDEI entre bactérias e arqueias, o que acelera o consumo de produtos intermediários da digestão anaeróbia, como H₂ e acetato, promovendo a estabilidade operacional dos digestores. Além disso, os impactos benéficos da aplicação de MCs foram correlacionados com suas propriedades e características, como por exemplo, materiais carbonáceos podem adsorver compostos inibitórios à metanogênese, como nitrogênio amoniacal livre e ácidos graxos voláteis (AGVs) de cadeia curta, evitando uma possível inibição à metanogênese por esses compostos. Nessa mesma ideia, os aditivos de ferro podem ativar enzimas acidogênicas e promover o enriquecimento de microrganismos acidogênicos e metanogênicos. Uma comparação mais detalhada do impacto dos MCs no tratamento anaeróbio da ARS e uma compilação dos resultados são apresentados nas **Tabelas 29 a 33**. Porém, os principais resultados obtidos nessa Tese são apresentados a seguir.

Impacto do óxido de grafeno funcionalizado com nanomagnetita no tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura: O OG-Fe₃O₄ (150,0 mg L⁻¹) tornou a DA mais eficiente, aumentando o PBM e a eficiência de remoção de matéria orgânica em 17,2% e 12,6%, respectivamente. Esse aditivo também elevou o *k* em 31,9%, reduziu em 25,6% o *λ*, e aumentou o *μ* em 32,3%. OG-Fe₃O₄ enriqueceu bactérias do filo *Chloroflexi* e arqueias do gênero *Methanobacterium beijingense*, as quais são potenciais parceiros de TDEI.

Efeito da aplicação de carvão ativado granular, ferro de valência zero e nanomagnetita na metanização da água residuária de suinocultura: O CAG (4,0 g L⁻¹) foi o material que mais beneficiou a cinética metanogênica, promovendo ausência de fase *lag* e elevando em 52,9% e em 63,6% o *k* e o *μ*, respectivamente. O FeVZ (4,0 g L⁻¹) foi o material que mais aumentou o PBM (+15,2%) e o teor de CH₄ no biogás (+13,5%). A Fe₃O₄ (4,0 g L⁻¹) também aperfeiçoou a cinética metanogênica, aumentando o *μ* em 52,6% e o *k* em 37,7%. Os gêneros bacterianos *Clostridium sensu stricto 1*, *Mesotoga*, *Longilinea*, e *JGI-0000079-D21* foram enriquecidos na presença desses MCs e foram classificados como os potenciais parceiros de TDEI das arqueias *Methanotherix soehngenii*.

Influência de materiais condutores, da razão substrato inóculo (RSI) e da temperatura na digestão anaeróbia da água residuária de suinocultura: O desempenho dos digestores mesofílicos e termofílicos foi aperfeiçoado pela aplicação dos MCs de elétrons. Na DAM em RSI 0,5, o CAG apresentou maior êxito em otimizar a cinética de metanização, elevando em 29,9% o *k* e reduzindo o tempo de digestão técnica (T80) em 15,9%. Enquanto

isso, o FeVZ foi o material que mais aumentou o PBM (+19,4%), o μ (+ 40,5%) e o teor de CH_4 no biogás (+22,1%). Em RSI 2,0, o CAG destacou-se dentre os demais materiais, promovendo acréscimos de 11%, 10,2% e 26,3% no PBM, k e μ , respectivamente, além de reduzir o T80 em 7,0%. Nos ensaios termofílicos em RSI 0,5, o FeVZ aumentou o PBM, o Y_1 , o teor de CH_4 e o μ em 22,6%, 23,6%, 20,0% e 35,5%, nessa ordem. Enquanto isso, o CAG e as combinações propiciaram melhor desempenho cinético. Na DAT em RSI 2,0, a Fe_3O_4 , o FeVZ e as combinações Fe_3O_4 +CAG e FeVZ+CAG obtiveram melhor desempenho. A Fe_3O_4 , por exemplo, elevou o PBM (+32,2%), o Y_1 (+30,1%), o teor de CH_4 (+1,9%), o μ (+38,9%) e reduziu o T80 em 4,3%. *Methanothrix soehngenii* dominou a DAM e *Methanolinea tarda* e *Methanosarcina thermophila* prevaleceram na DAT. Na DAM, a metanogênese acetoclástica deve ter sido a principal rota de síntese de CH_4 , ao passo que a metanogênese hidrogenotrófica tornou-se preponderante na DAT. A metanogênese metilotrófica, associada a presença *Candidatus Methanomethylicus*, foi estimulada na DAT.

O trabalho contribuiu com a ciência pura e aplicável ao demonstrar que a utilização de MCs em doses relativamente baixas em comparação com outros estudos reportados na literatura técnica e em doses limitadas à concentração de inóculo aplicado aos reatores é capaz de elevar o desempenho de digestores anaeróbios tratando uma água residuária (ARS) com elevado teor de matéria orgânica particulada a partir de inóculos não adaptados ao tratamento desse efluente. Este estudo apresenta-se como uma crítica ao uso indiscriminado de MCs, o que torna inviável sob aspectos econômicos a aplicação desses aditivos em sistemas de tratamento em escala real e desencoraja a concepção e realização de novas pesquisas nessa temática.

Além disso, o estudo da cinética de metanização do substrato permitiu a extração de parâmetros cinéticos que regularam a produção de CH_4 . Apesar das limitações dos testes de PBM realizados em reatores batelada, os quais possuem hidrodinâmica, volume operacional, vazão afluyente, carga orgânica e operação, bem distintas de reatores em escala laboratorial de bancada e em escala real, como os pertencentes a Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs), espera-se que os parâmetros cinéticos obtidos neste trabalho possam ser dados iniciais e base para determinar parâmetros operacionais iniciais para sistemas de tratamento contínuo, em maior escala. A realização de ciclos de tratamento colaborou para o entendimento da variabilidade dos valores dos parâmetros cinéticos ao longo do tempo, seja devido à adaptação da comunidade microbiana à degradação do substrato ou por influência dos aditivos.

O uso de MCs para mediar TDEI em sistemas de larga escala ainda precisa vencer barreiras econômicas relacionadas ao custo dos aditivos, à mão de obra e equipamentos para as adições automatizadas dos aditivos aos digestores anaeróbios e à manutenção desses materiais

nos reatores. Por esses motivos, são escassos os estudos que reportam o efeito desses aditivos a longo prazo. Além disso, a remoção desses materiais durante o descarte de lodo ou por *washout* também são fatores que dificultam empregar adequadamente essa estratégia para aumento da eficiência da DA. Assim, ainda há a necessidade de estudos que aprofundem e comparem a viabilidade econômica e ambiental de aditivos carbonáceos e não carbonáceos.

Para tornar a TDEI via MCs viável sob o aspecto econômico, a retenção e imobilização desses materiais dentro dos reatores é fundamental. Para isso, o uso de meios suporte feitos de MCs parece ser uma estratégia adequada. Nesse contexto, o leito fixo deveria ser constituído de um material de baixo custo, mas de alta resistência, com revestimento de MCs. Isso estimularia o aumento da concentração de biomassa e manteria os microrganismos que crescem lentamente nos reatores, além de aumentar o contato da comunidade microbiana com os aditivos, facilitando os processos de formação de biofilme e de transferência de elétrons. Outros tópicos importantes são: desenvolvimento de aditivos de baixo custo, síntese de aditivos no local do sistema de tratamento, novas proposições de estratégias visando a reciclagem e a reutilização de aditivos, estudos com reatores em escala piloto e avaliação de riscos ambientais.

Nesse prisma, confia-se que este trabalho seja base para o desenvolvimento de novos estudos quanto ao uso de MCs no tratamento anaeróbico de resíduos orgânicos. Como sugestão para vindouros trabalhos têm-se a avaliação do efeito desses materiais na DA de diferentes águas residuárias agroindustriais utilizando inóculo adaptado ao substrato avaliado e realizando os ensaios metanogênicos em baixas e elevadas cargas orgânicas e em condições mesofílicas e termofílicas. Diferentes configurações de reatores que permitam a imobilização de biomassa e a retenção de MCs também devem ser investigadas. A produção e a recuperação de hidrogênio (H_2) e de AGVs de elevado valor agregado, como ácido caproico e ácido caprílico, a partir da aplicação desses aditivos em ensaios de potencial acidogênicos de resíduos orgânicos, também se apresenta como uma lacuna científica a ser explorada.

Para aprofundar os conhecimentos em TDEI, como os microrganismos atuantes como endoeletrogênicos e exoeletrogênicos e seus principais parceiros, as enzimas envolvidas em cada etapa do processo anaeróbico e a ativação de genes (expressão gênica) que regem os processos de transferência de elétrons, torna-se necessário a realização de análises de biologia molecular, principalmente de metaproteômica e de metatranscriptoma. A análise de viabilidade operacional, ambiental e econômica, incluindo estudos energéticos sobre a produção, recuperação e aplicação de CH_4 , da utilização desses aditivos em digestores anaeróbios em escala real torna-se fundamental para a aplicabilidade dessa estratégia de impulsionamento da biometanização de resíduos orgânicos.

Tabela 29 – Impactos percentuais dos materiais condutores nos parâmetros de eficiência e de cinética dos testes de potencial bioquímico de metano em relação aos reatores de controle.

Aditivos	Ciclo/ Condição	Dose (mg L ⁻¹)	PBM	Parâmetros de Eficiência e de Cinética (%)						
				ER	Y ₁	CH ₄	λ	k	μ	
IMPACTO DO ÓXIDO DE GRAFENO FUNCIONALIZADO COM NANOMAGNETITA NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA										
OG- Fe ₃ O ₄	1º ciclo	3	- 23,4	+ 7,0	- 25,4	+ 12,9	- 67,5	+ 10,7	- 31,6	
		150	- 5,3	+ 17,3	-15,9	+ 13,4	- 31,6	+ 14,8	- 1,9	
	2º ciclo	3	+ 8,8	+ 0,6	+ 12,9	- 0,4	- 100	+ 30,6	+ 37,4	
		150	+ 9,3	+ 1,7	+ 11,9	+ 0,3	- 100	+ 43,8	+ 47,8	
	3º ciclo	3	+ 7,9	+ 4,2	+ 3,2	+ 0,2	- 33,7	+ 18,3	+ 5,6	
		150	+ 17,4	+ 12,6	+ 3,9	- 0,4	- 25,6	+ 31,9	+ 32,3	
EFEITO DA APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO GRANULAR, FERRO DE VALÊNCIA ZERO E NANOMAGNETITA NA METANIZAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA										
CAG	1º ciclo	400	+ 24,4	+ 11,1	+ 12,0	+ 4,2	- 48,5	+ 10,6	+31,0	
		2000	+ 20,5	+ 14,9	+ 4,9	+ 3,4	- 97,3	+ 11,9	+ 24,9	
		4000	+ 8,1	+ 13,1	- 4,4	+ 2,4	- 100	+ 19,5	+ 16,0	
	2º ciclo	400	+ 4,9	+ 2,0	+ 2,9	-	-	+ 31,7	+ 37,6	
		2000	+ 5,8	+ 4,2	+ 1,5	+ 1,7	-	+ 37,8	+ 47,4	
		4000	+ 4,9	+ 6,8	- 1,7	+ 1,9	-	+ 52,9	+ 63,6	
FeVZ	1º ciclo	400	+21,5	+ 7,0	+ 13,4	+ 3,8	- 38,6	+ 4,2	+ 22,6	
		2000	+ 33,5	+ 7,3	+ 24,3	+ 3,1	- 40,4	+ 1,7	+ 33,0	
		4000	+ 31,7	+ 7,4	+ 22,2	+ 4,0	- 51,3	+ 5,5	+ 32,3	
	2º ciclo	400	+ 9,8	+ 1,2	+ 12,4	+ 1,3	-	+ 16,2	+ 26,7	
		2000	+ 15,3	+ 2,2	+ 16,6	+ 10,9	-	+ 30,1	+ 48,3	
		4000	+ 15,2	+ 2,5	+ 16,1	+ 13,5	-	+ 34,8	+ 55,6	
Fe ₃ O ₄	1º ciclo	400	+ 29,0	+ 7,3	+ 20,2	+ 2,6	- 94,2	+ 1,1	+ 19,5	
		2000	+ 23,4	+ 7,7	+ 14,6	+ 0,8	- 46,5	- 2,3	+ 16,3	
		4000	+ 19,1	+ 7,3	+ 11,0	- 1,6	- 46,5	- 3,8	+ 10,9	
	2º ciclo	400	+ 9,4	+ 1,4	+ 7,9	- 0,3	-	+ 20,4	+ 32,5	
		2000	+ 10,8	+ 2,3	+ 8,4	+ 0,3	-	+ 28,1	+ 46,2	
		4000	+ 10,3	+ 3,5	+ 6,6	+ 1,0	-	+ 37,7	+ 52,6	
INFLUÊNCIA DE MATERIAIS CONDUTORES, DA RAZÃO SUBSTRATO INÓCULO (RSI) E DA TEMPERATURA NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA										
Fe ₃ O ₄	DAM	RSI 0,5	2000	+ 7,2	- 0,9	+ 8,1	+ 2,0	-	+ 24,2	+ 33,1
		RSI 2,0	2000	- 1,0	- 0,5	- 0,1	- 1,7	-	- 11,7	- 11,4
	DAT	RSI 0,5	2000	+ 10,6	- 0,8	+ 11,5	+ 6,6	-	+ 7,4	+ 28,0
		RSI 2,0	2000	+ 32,2	+ 1,2	+ 30,1	+ 1,9	-	-	+ 38,9
CAG	DAM	RSI 0,5	2000	- 0,4	+ 2,0	- 2,3	+ 2,9	-	+ 29,9	+ 29,5
		RSI 2,0	2000	+ 11,0	+ 2,4	+ 8,6	- 1,1	-	+ 10,2	+ 26,3
	DAT	RSI 0,5	2000	+ 8,4	+ 2,3	+ 5,6	+ 5,5	-	+ 7,7	+ 28,0
		RSI 2,0	2000	+ 17,7	+ 3,8	+ 13,7	+ 0,8	-	-	+ 12,1
FeVZ	DAM	RSI 0,5	2000	+ 19,4	- 0,6	+ 20,1	+ 22,1	-	+ 17,6	+ 40,5
		RSI 2,0	2000	+ 6,4	+ 0,8	+ 5,8	- 2,9	-	- 6,51	+ 3,0
	DAT	RSI 0,5	2000	+ 22,6	- 1,3	+ 23,6	+ 20,0	-	- 0,56	+ 35,5
		RSI 2,0	2000	+ 24,6	- 3,5	+ 28,7	+ 4,0	-	-	+ 17,1
Fe ₃ O ₄ + CAG	DAM	RSI 0,5	2000	+ 2,2	+ 2,0	+ 0,2	+ 3,0	-	+ 35,3	+ 38,3
		RSI 2,0	2000	+ 4,3	0,0	+ 4,4	- 0,6	-	+ 0,2	+ 6,7
	DAT	RSI 0,5	2000	+ 5,5	+ 0,5	+ 4,8	+ 0,3	-	+ 4,9	+ 15,1
		RSI 2,0	2000	+ 33,3	+ 3,7	+ 28,4	+ 0,6	-	-	+ 37,4
FeVZ+ CAG	DAM	RSI 0,5	2000	+ 11,7	+ 1,6	+ 9,9	+22,1	-	+ 24,1	+ 38,6
		RSI 2,0	2000	+ 4,1	+ 0,8	+ 3,4	- 2,3	-	- 7,7	- 3,5
	DAT	RSI 0,5	2000	+ 12,5	+ 2,8	+ 9,4	+ 9,1	-	+ 14,2	+ 35,8
		RSI 2,0	2000	+ 26,7	+ 1,8	+ 24,4	+ 1,0	-	-	+ 33,2

Legenda: ER: eficiência de remoção; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ: tempo de fase lag; k: velocidade de produção de metano; μ: taxa máxima de produção de metano; DAM: digestão anaeróbia mesofílica; DAT: digestão anaeróbia termofílica; RSI: razão substrato inóculo.
Fonte: O autor (2025).

Tabela 30 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre o efeito do OG-Fe₃O₄ no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura (ARS).

IMPACTO DO ÓXIDO DE GRAFENO FUNCIONALIZADO COM NANOMAGNETITA NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA			
Aditivos	Ciclo de Tratamento	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
OG-Fe ₃ O ₄	1º	Efeito negativo do aditivo sobre o PBM (redução entre 5,3% e 23,4%) devido à adsorção de matéria orgânica e desvio energético para redução do OG. Aumento do teor de CH ₄ no biogás (entre 12,9% e 13,4%). Otimização da cinética de metanização da ARS, com aumento de <i>k</i> (entre 10,7% e 14,8%) e redução de <i>λ</i> (entre 28,3% e 67,5%). O <i>μ</i> diminuiu de 1,9% a 31,6%. O modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Bactérias: <i>Clostridia</i> , <i>Anaerolineae</i> e <i>Gammaproteobacteria</i> . Arqueias: <i>Methanobacterium beijingense</i> e <i>Methanotheroxis soehngenii</i> .
	2º	Efeitos positivos do aditivo foram mais expressivos. Diminuição da DQO _s , aumento da ER e aumento da DQO _{CH₄} . Aumento do PBM (entre 8,8% e 9,3%) e dos rendimentos de geração de CH ₄ (Y ₁ e Y ₂). Impacto positivo sobre a metanogênese (maior pressão de biogás). Ausência de fase <i>lag</i> nos reatores aditivados. Aumento do <i>k</i> (entre 30,6% e 3,8%) e do <i>μ</i> (entre 37,4% e 47,8%). O modelo Gompertz Modificado foi o mais adequado para o ajuste cinético do controle, enquanto o modelo Primeira Ordem-Exponencial foi mais fidedigno para os reatores aditivados.	Potenciais parceiros TDEI: <i>Chloroflexi</i> e <i>Clostridium sensu stricto 1</i> com <i>Methanobacterium beijingense</i> e <i>Methanotheroxis soehngenii</i> .
	3º	Aumento do PBM, da ER, de <i>k</i> e <i>μ</i> em 17,4%, 12,6%, 31,9% 32,3%, respectivamente. Fase <i>lag</i> foi reduzida em 25,6% a 33,7%. Acréscimo de 40% na concentração de SPE. Aumento do teor de PS nas SPE. Composição final de SPE nos reatores com 150 mg L ⁻¹ de aditivo: 44,5% de PS e 55,5% de PN. O modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Possíveis bactérias redutoras de OG: Bactérias da classe <i>Clostridia</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄: nanomagnetita; PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; *λ*: tempo de fase lag; *k*: velocidade de produção de metano; *μ*: taxa máxima de produção de metano; SPE: substâncias poliméricas extracelulares; PS: polissacarídeos; PN: proteínas. DQOp: Massa de DQO particulada efluente; DQOs: Massa de DQO solúvel total efluente; DQO_{CH₄}: Massa de DQO removida por produção de CH₄.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 31 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre o impacto de CAG, FeVZ e Fe₃O₄ no tratamento anaeróbio da água residuária de suinocultura (ARS).

EFEITO DA APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO GRANULAR, FERRO DE VALÊNCIA ZERO E NANOMAGNETITA NA METANIZAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA			
Aditivos	Ciclo de Tratamento	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
CAG	1º	Aumento do PBM (entre 8,1% e 24,4%) e na ER (entre 11,1% e 14,8%). O aumento da dose de CAG diminuiu a produção de CH ₄ devido à adsorção de matéria orgânica. Quanto maior dose de aditivo, maior o efeito benéfico sobre os parâmetros cinéticos, com exceção de μ . Redução progressiva da fase <i>lag</i> e ausência na dose de 4 g L ⁻¹ . O modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Bactérias: <i>Acidobacteriota</i> , <i>Synergistia</i> , <i>Spirochaetia</i> , <i>Syntrophia</i> , <i>Syntrophobacteria</i> , <i>Syntrophorhabdia</i> , <i>Syntrophomonadia</i> , <i>Mesotoga</i> , <i>Longilinea</i> e <i>JGI-0000079-D2</i> .
	2º	Foi o material que mais beneficiou a cinética de metanização do substrato. Aumentou o μ em 63,6% e o <i>k</i> em 52,9%. Ausência de fase <i>lag</i> . O modelo Primeira Ordem-Exponencial foi o mais adequado para o ajuste cinético.	
FeVZ	1º	Aumento do PBM (entre 21,5% e 33,5%) e na ER (entre 7,0% e 7,7%). As maiores doses não apresentaram diferenças estatísticas significativas quanto aos rendimentos de produção de CH ₄ , mas aperfeiçoaram progressivamente a cinética metanogênica. Diminuição da λ em até 51,3% e aumento de μ em até 32,3%. O modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Bactérias: <i>Syntrophobacteria</i> , <i>Syntrophorhabdia</i> , <i>Syntrophomonadia</i> e <i>Thermodesulfovibrionia</i> .
	2º	Foi o material que mais elevou o PBM (33,5% no primeiro ciclo e 15,2% no segundo ciclo). Elevou o teor de CH ₄ no biogás progressivamente com o aumento da dose aplicada, passando de 85,2% no controle para 96,7% nos reatores que receberam 4,0 gFeVZ L ⁻¹ . A cinética foi dose-dependente de FeVZ. O modelo Primeira Ordem-Exponencial foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Arqueias: <i>Methanolinea</i> .
Fe₃O₄	1º	A menor dose foi a que mais beneficiou o processo. As maiores doses ocasionaram, possivelmente, efeitos inibitórios temporários à metanogênese. Aumento do PBM, do Y ₁ , do teor de CH ₄ e de μ em 29,0%, 20,2%, 2,6% 19,5%, respectivamente, para a dose de 0,4 g L ⁻¹ . O modelo Logístico foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Bactérias: <i>Patescibacteria</i> , <i>Syntrophomonadia</i> , <i>Syntrophia</i> e <i>Clostridia</i> .
	2º	Os efeitos negativos das maiores doses foram limitados ao primeiro ciclo. Aditivo com menor impacto no teor de CH ₄ . Aumento do PBM, da ER, do Y ₁ , de <i>k</i> e de μ em 10,3%, 3,5%, 6,6%, 37,7% e 52,6%, respectivamente, para a dose de 4,0 g L ⁻¹ . Ausência de fase <i>lag</i> . Doses superiores a 0,4 g L ⁻¹ não produziram efeitos benéficos adicionais ao PBM, mas impactaram na velocidade em que o CH ₄ foi produzido. O modelo Primeira Ordem-Exponencial foi o mais adequado para o ajuste cinético.	Arqueias: <i>Methanothrix soehngenii</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. CAG: carvão ativado granular; FeVZ: ferro de valência zero; Fe₃O₄: nanomagnetita; PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ : tempo de fase *lag*; *k*: velocidade de produção de metano; μ : taxa máxima de produção de metano.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 32 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe₃O₄ e das associações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia mesofílica (DAM) da água residuária de suinocultura (ARS).

INFLUÊNCIA DE MATERIAIS CONDUTORES, DA RAZÃO SUBSTRATO INÓCULO (RSI) E DA TEMPERATURA NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA		
Aditivos	Digestão Anaeróbia Mesofílica (DAM)	
	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
Fe₃O₄	Aperfeiçoou o processo anaeróbio em RSI 0,5, elevando em 7,2%, 8,1%, 2,0%, 24,2% e 33,1% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ no biogás, <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem. Em RSI 2,0, não apresentou impactos positivos consideráveis.	
CAG	Em RSI 0,5, a capacidade de adsorção desse material parece ter superado o efeito como aditivo condutor, indisponibilizando matéria orgânica e, com efeito, reduzindo a síntese de CH ₄ . Apesar disso, promoveu excelente desempenho cinético dos digestores, aumentando <i>k</i> e <i>μ</i> . Em RSI 2,0, foi o aditivo que mais beneficiou o processo, aumentando em 11,0%, 8,6%, 10,2% e 26,3% o PBM, Y ₁ , <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem.	
FeVZ	Foi o aditivo que mais potencializou a produção de CH ₄ . Sua aplicação retornou melhor desempenho em RSI 0,5, na qual cresceu ao controle 19,4%, 20,1%, 22,1%, 17,6%, 40,5% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ no biogás, <i>k</i> e <i>μ</i> , respectivamente.	Potenciais parceiros de TDEI das arqueias <i>Methanotherix soehngeni</i>: <i>midas g 2538</i> via FeVZ e CAG, <i>midas g 216</i> mediante Fe ₃ O ₄ , <i>midas g 156</i> por meio de Fe ₃ O ₄ e FeVZ e <i>Syntrophobacter</i> e <i>JGI-0000079-D21</i> por intermédio de CAG.
Fe₃O₄+CAG	Essa combinação de aditivos aperfeiçoou o processo anaeróbio, mas os resultados foram abaixo do esperado. Entende-se que a menor dose por aditivo (1 g L ⁻¹) enfraqueceu o efeito benéfico sobre o processo anaeróbio realizado por uma biomassa com elevada atividade metanogênica específica. Os melhores resultados foram obtidos em RSI 0,5 (aumento de 2,2%, 3,0%, 35,3% e 38,3% em PBM, teor de CH ₄ , <i>k</i> e <i>μ</i> , nessa ordem), indicando que para uma maior carga aplicada seria necessária uma maior dose de aditivos para a obtenção de impactos mais expressivos.	Microrganismos participantes da oxidação sintrófica de acetato seguida de metanogênese hidrogenotrófica: <i>Exilispira</i> , <i>Mesotoga</i> , <i>Methanobacterium</i> e <i>Methanolinea</i> .
FeVZ+CAG	Essa associação mostrou-se uma excelente estratégia para impulsionar o processo anaeróbio, combinando a capacidade do FeVZ de elevar a síntese de CH ₄ via liberação de H ₂ e ativação de enzimas-chave da acidogênese e metanogênese, com o melhoramento cinético ocasionado pelo CAG. Obteve melhor resultado do que a combinação Fe ₃ O ₄ +CAG, mas de forma semelhante seus efeitos foram mais expressivos em RSI 0,5. Assim, em RSI 0,5, o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ , <i>k</i> e <i>μ</i> foram elevados em 11,7%, 9,9%, 22,1%, 24,1% e 38,6%, nessa sequência.	Principal bactéria funcional fermentativa: <i>Georgenia</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ: tempo de fase lag; *k*: velocidade de produção de metano; *μ*: taxa máxima de produção de metano; T80: tempo de digestão técnica referente a síntese de 80% do PBM.

Fonte: O autor (2025).

Tabela 33 – Compilação dos resultados obtidos nos testes de PBM sobre a influência do CAG, do FeVZ, da Fe₃O₄ e das associações Fe₃O₄+CAG e FeVZ+CAG na digestão anaeróbia termofílica (DAT) da água residuária de suinocultura (ARS).

INFLUÊNCIA DE MATERIAIS CONDUTORES, DA RAZÃO SUBSTRATO INÓCULO (RSI) E DA TEMPERATURA NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA		
Digestão Anaeróbia Termofílica (DAT)		
Aditivos	Principais resultados sobre eficiência e cinética	Microrganismos Enriquecidos
Fe₃O₄	Esse aditivo apresentou melhor <i>performance</i> na DAT em detrimento a DAM. Isso pode estar relacionado com sua capacidade de enriquecer bactérias e arqueias termofílicas, como <i>Fervidobacterium</i> , <i>Acetomicrobium</i> e <i>Methanothermobacter</i> . Em RSI 0,5, elevou o PBM (10,6%), Y ₁ (11,5%), teor de CH ₄ (6,6%), <i>k</i> (7,4%) e μ (28,0%). O impacto foi ainda mais positivo em RSI 2,0, aumentando em 32,2%, 30,1%, 1,9% e 38,9% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ e o μ , nessa ordem, e reduzindo o T80 de 14,1 para 13,5 dias.	Potenciais parceiros de TDEI das arqueias metanogênicas: <i>Corynebacterium</i> , <i>Fervidobacterium</i> e <i>Acetomicrobium</i> com auxílio de FeVZ e Fe ₃ O ₄ , <i>midas g 1237</i> via FeVZ e CAG, <i>midas g 2049</i> mediante Fe ₃ O ₄ , <i>Anaerolinea</i> por meio de FeVZ, <i>midas g 100305</i> por intermédio de CAG e <i>Coprothermobacter</i> com assistência de CAG, Fe ₃ O ₄ e FeVZ.
CAG	Sua capacidade de adsorver matéria orgânica, nitrogênio amoniacal e AGVs beneficiou o processo anaeróbio tanto em RSI 0,5 quanto em RSI 2,0. Enriqueceu o filo TA06 e outros microrganismos funcionais da DAT. Em RSI 0,5, elevou o PBM (8,4%), Y ₁ (5,6%), teor de CH ₄ (5,5%), <i>k</i> (7,7%) e o μ (28,0%). O impacto foi ainda mais positivo em RSI 2,0, aumentando em 17,7%, 13,7%, 0,8% e em 12,1% o PBM, Y ₁ , teor de CH ₄ e μ , nessa sequência.	
FeVZ	Foi o material condutor que mais aumentou os rendimentos de produção de CH ₄ . Em RSI 0,5, aumentou o PBM (22,6%), Y ₁ (23,6%), teor de CH ₄ (20,0%), e o μ (35,5%). Gerou um biogás com 100% de CH ₄ . Já em RSI 2,0, o PBM, o Y ₁ , teor de CH ₄ e o μ foram acrescidos em 24,6%, 28,7%, 4,0% e 17,1%, respectivamente. Contudo, esse aditivo aumentou o T80, provavelmente devido a uma adaptação microbiológica das biomassas ao aditivo.	Microrganismos participantes da oxidação sintrófica de acetato seguida de metanogênese hidrogenotrófica: <i>Exilispira</i> , <i>Syntrophaceticus</i> , <i>Coprothermobacter</i> , <i>Methanothermobacter</i> , <i>Methanolinea tarda</i> e <i>Methanosarcina thermophila</i> .
Fe₃O₄+CAG	EM RSI 0,5, o efeito dessa combinação de aditivos foi pouco expressivo. Entretanto, em RSI 2,0, retornou a melhor <i>performance</i> dos digestores anaeróbios. A Fe ₃ O ₄ deve ter atuado no favorecimento à TDEI, enquanto o CAG na retenção de microrganismos, adsorção de nitrogênio amoniacal e AGVs. Em RSI 2,0, elevou o PBM (33,3%), o Y ₁ (28,4%) e o μ (37,4%). Além disso, reduziu o T80 de 14,1 dias para 13,5 dias.	
FeVZ+CAG	Seu efeito positivo foi mais expressivo na DAT do que na DAM. Elevou a <i>performance</i> dos digestores anaeróbios, principalmente em RSI 2,0, na qual o PBM (26,7%), Y ₁ (24,4%), teor de CH ₄ (1,0%) e o μ (33,2%) foram aumentados. Nesse cenário, o T80 foi reduzido de 14,1 dias para 12,6 dias.	Bactéria Redutora de Sulfato (consumidora de H₂): <i>Thermodesulfobrio</i> .

Legenda: * Os resultados em porcentagem são referentes ao aumento percentual do parâmetro em relação ao reator controle. PBM: potencial bioquímico de metano; ER: eficiência de remoção de matéria orgânica; Y₁: rendimento de produção de metano por DQO removida; CH₄: teor de metano no biogás; λ : tempo de fase lag; *k*: velocidade de produção de metano; μ : taxa máxima de produção de metano; T80: tempo de digestão técnica referente a síntese de 80% do PBM.

Fonte: O autor (2025).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Y. *et al.* Recent advances in bio-based carbon materials for anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 135, jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032120306663>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- ADEKUNLE, K. F.; OKOLIE, J. A. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, [s. l.], v. 06, n. 03, p. 205–212, mar. 2015. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=55061>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- AGUILAR-MORENO, G. S. *et al.* Enhancing methane yield of chicken litter in anaerobic digestion using magnetite nanoparticles. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 147, 2020, p. 204–213, mar. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960148119312984>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- AJAY, C. M. *et al.* Review of impact of nanoparticle additives on anaerobic digestion and methane generation. **Fuel**, [s. l.], v. 277, apr. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236120312308>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- ALAM, M.; DHAR, B. R. Boosting thermophilic anaerobic digestion with conductive materials: Current outlook and future prospects. **Chemosphere**, [s. l.], v. 343, sept. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653523024451>. Acesso em: 12 ago. 2024.
- ALMEIDA STREITWIESER, D. Comparison of the anaerobic digestion at the mesophilic and thermophilic temperature regime of organic wastes from the agribusiness. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 241, p. 985–992, oct. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417308933>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- ALTAMIRANO-CORONA, M. F.; ANAYA-REZA, O.; DURÁN-MORENO, A. Biostimulation of food waste anaerobic digestion supplemented with granular activated carbon, biochar and magnetite: A comparative analysis. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 149, apr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953421001422>. Acesso em: 12 ago. 2024.
- ALVES LOURENÇO, V. *et al.* Waste valorization through anaerobic co-digestion in coffee and swine farms: CH₄ yield optimization and farm-scale viability. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 415, jan. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424013713>. Acesso em: 12 ago. 2024.
- ANDRIAMANOHARIISOAMANANA, F. J. *et al.* Microbial adaptation to high ammonia environment in submerged anaerobic membrane bioreactor under volatile fatty acids and ammonia stresses. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 204, apr. 2024. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X2300387X>. Acesso em: 12 ago. 2024.

ANGELIDAKI, I. *et al.* Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 59, n. 5, p. 927–934, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19273891/>. Acesso em: 20 jan. 2024.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23. ed. Washington D.C., 2017.

APPELS, L. *et al.* Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 755–781, dec. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360128508000312>. Acesso em: 18 jan. 2024.

ARIESYADY, H. D. *et al.* Phylogenetic and functional diversity of propionate-oxidizing bacteria in an anaerobic digester sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 75, n. 3, p. 673–683, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17262205/>. Acesso em: 22 jan. 2024.

ARSHAD, A. *et al.* Graphene/Fe₃O₄ nanocomposite: Interplay between photo-Fenton type reaction, and carbon purity for the removal of methyl orange. **Ceramics International**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 2643–2648, feb. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0272884217318564>. Acesso em: 23 jan. 2024.

BAEK, G. *et al.* Role and potential of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. **Energies**, [s. l.], v. 11, n. 1, jan. 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1073/11/1/107>. Acesso em: 13 ago. 2024.

BAEK, G.; KIM, J.; LEE, C. A review of the effects of iron compounds on methanogenesis in anaerobic environments. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 113, oct. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032119304903>. Acesso em: 14 ago. 2024.

BARBERA, P. *et al.* EPA-ng: Massively Parallel Evolutionary Placement of Genetic Sequences. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 365–369, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30165689/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

BARUA, S.; DHAR, B. R. Advances towards understanding and engineering direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 244, p. 698–707, jul. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417313287>. Acesso em: 11 jan. 2024.

BERAUD-MARTÍNEZ, L. K. *et al.* Methylophilic methanogenesis induced by ammonia

nitrogen in an anaerobic digestion system. **Anaerobe**, [s. l.], v. 88, may 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S107599642400060X>. Acesso em: 12 ago. 2024.

BLANCHET, E. *et al.* Protons accumulation during anodic phase turned to advantage for oxygen reduction during cathodic phase in reversible bioelectrodes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 173, p. 224–230, dec. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852414013352>. Acesso em: 11 jan. 2024.

BOUWMAN, L. *et al.* Exploring global changes in nitrogen and phosphorus cycles in agriculture induced by livestock production over the 1900-2050 period. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 110, n. 52, p. 20882–20887, 2013. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1012878108>. Acesso em: 19 jan. 2024.

BOVIO-WINKLER, P. *et al.* Genome-centric metagenomic insights into the role of Chloroflexi in anammox, activated sludge and methanogenic reactors. **BMC Microbiology**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 1–19, feb. 2023. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-023-02765-5>. Acesso em: 17 jan. 2024.

BUENO-LÓPEZ, J. I. *et al.* Graphene oxide triggers mass transfer limitations on the methanogenic activity of an anaerobic consortium with a particulate substrate. **Chemosphere**, [s. l.], v. 211, p. 709–716, nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653518314693>. Acesso em: 16 jan. 2024.

BURBOA-CHARIS, V. A.; ALVAREZ, L. H. Methane production from antibiotic bearing swine wastewater using carbon-based materials as electrons' conduits during anaerobic digestion. **International Journal of Energy Research**, [s. l.], v. 44, n. 13, p. 10996–11005, july 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/er.5616>. Acesso em: 12 jan. 2024.

CALLAHAN, B. J. *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 581–583, may 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nmeth.3869>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CASTILHO, T. G. *et al.* Recent advances and perspectives in the use of conductive materials to improve anaerobic wastewater treatment: A systematic review approached. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 50, sept. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714422006377>. Acesso em: 16 ago. 2024.

CAVALCANTE, W. A.; GEHRING, T. A.; ZAIAT, M. Stimulation and inhibition of direct interspecies electron transfer mechanisms within methanogenic reactors by adding magnetite and granular activated carbon. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 415, feb. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894721004769>. Acesso em: 18 ago. 2024.

ÇETINKAYA, A. Y.; YETILMEZSOY, K. Evaluation of anaerobic biodegradability potential and comparative kinetics of different agro-industrial substrates using a new hybrid computational coding scheme. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 238, nov. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095965261932791X>. Acesso em: 120 ago. 2024.

CHAI, P. V. *et al.* Preparation of novel polysulfone-Fe₃O₄/GO mixed-matrix membrane for humic acid rejection. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 15, p. 83–88, feb. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714416302318>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CHEN, J. L. *et al.* Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1523–1534, dec. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975014001542>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CHEN, L. *et al.* Improvement of Direct Interspecies Electron Transfer via Adding Conductive Materials in Anaerobic Digestion: Mechanisms, Performances, and Challenges. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 13, p. 1–14, mar. 2022a. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.860749/full>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CHEN, N. *et al.* Advancements in swine wastewater treatment: Removal mechanisms, influential factors, and optimization strategies. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 54, june 2023a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714423005056>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CHEN, S. *et al.* Enhanced anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste by sulfidated microscale zerovalent iron: Insights in direct interspecies electron transfer mechanism. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 316, nov. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420311731>. Acesso em: 14 jan. 2024.

CHEN, X. *et al.* Improving biomethane yield by controlling fermentation type of acidogenic phase in two-phase anaerobic co-digestion of food waste and rice straw. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 273, p. 254–260, aug. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894715003836>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CHEN, X. *et al.* Effects of norfloxacin, copper, and their interactions on microbial communities in estuarine sediment. **Environmental Research**, [s. l.], v. 212, sept. 2022b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935122008337>. Acesso em: 14 jan. 2024.

CHEN, X. *et al.* Food waste impact on dry anaerobic digestion of straw in a novel reactor: Biogas yield, stability, and hydrolysis-methanogenesis processes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 406, may 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424007272>. Acesso em: 14

mar. 2024.

CHEN, Y. *et al.* Regulating effects of Fe/C materials on thermophilic anaerobic digestion of kitchen waste: Digestive performances and methanogenic metabolism pathways. **Fuel**, [s. l.], v. 332, jan. 2023b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236122029647>. Acesso em: 14 mar. 2024.

CHEN, Z. *et al.* Impacts of different organophosphorus flame retardants on the transformation of phosphorus forms and microbial metabolic pathways in anaerobic reactors. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 65, mar. 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714424011000>. Acesso em: 14 nov. 2024.

CHENG, D. L. *et al.* Problematic effects of antibiotics on anaerobic treatment of swine wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 263, p. 642–653, may 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241830659X>. Acesso em: 12 mar. 2024.

COELHO, M. M. H. *et al.* Potential assessment and kinetic modeling of carboxylic acids production using dairy wastewater as substrate. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 156, apr. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X20300176>. Acesso em: 14 ago. 2024.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Carne Suína: Análise Mensal de Dezembro de 2017**. [S. l. : s. n.], 2017. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-carne-suina/item/6371-carne-suina-analise-mensal-dezembro-2017>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CÓRDOBA, V.; FERNÁNDEZ, M.; SANTALLA, E. The effect of different inoculums on anaerobic digestion of swine wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 115–122, mar. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343715300488>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CÓRDOBA, V.; FERNÁNDEZ, M.; SANTALLA, E. The effect of substrate/inoculum ratio on the kinetics of methane production in swine wastewater anaerobic digestion. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 25, n. 22, p. 21308–21317, aug. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-0039-6>. Acesso em: 12 mar. 2024.

CORTEZ-CERVANTES, J. *et al.* Identifying reliable microbial indicators in anaerobic digestion of organic solid waste: Insights from a meta-analysis. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 12, n. 5, oct. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343724015227>. Acesso em: 12 nov. 2024.

CZECH, L.; STAMATAKIS, A. Scalable methods for analyzing and visualizing phylogenetic

placement of metagenomic samples. **Plos One**, [s. l.], v. 14, n. 7, may 2019. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0217050>. Acesso em: 12 mar. 2024.

DA SILVA, M. P. *et al.* Adsorptive and photocatalytic activity of Fe₃O₄-functionalized multilayer graphene oxide in the treatment of industrial textile wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 28, n. 19, p. 23684–23698, may 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-10926-6>. Acesso em: 22 nov. 2024.

DAI, C. *et al.* Enhancing anaerobic digestion of pharmaceutical industries wastewater with the composite addition of zero valent iron (ZVI) and granular activated carbon (GAC). **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 346, feb. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421019088>. Acesso em: 28 nov. 2024.

DE SOUSA E SILVA, A. *et al.* Potentialities of biotechnological recovery of methane, hydrogen and carboxylic acids from agro-industrial wastewaters. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 10, feb. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X2030027X>. Acesso em: 25 nov. 2024.

DE SOUSA E SILVA, A. *et al.* Effect of thermo-alkaline pretreatment and substrate inoculum ratio on methane production from dry and semi-dry anaerobic digestion of swine manure. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 231, sept. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960148124010838>. Acesso em: 26 nov. 2024.

DELIGIANNIS, M. *et al.* Study on the fate of per- and polyfluoroalkyl substances during thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge and the role of granular activated carbon addition. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 406, apr. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085242400717X>. Acesso em: 22 nov. 2024.

DING, W. *et al.* Effective swine wastewater treatment by combining microbial fuel cells with flocculation. **Chemosphere**, [s. l.], v. 182, p. 567–573, sept. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653517307002>. Acesso em: 27 nov. 2024.

DOMINGUES, E. *et al.* Advanced oxidation processes perspective regarding swine wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 776, july 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969721010251>. Acesso em: 29 nov. 2024.

DONG, B. *et al.* The inhibitory impacts of nano-graphene oxide on methane production from waste activated sludge in anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 646, p. 1376–1384, jan. 2019a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969718329206>. Acesso em: 28 nov. 2024.

DONG, D. *et al.* Effects of nanoscale zero valent iron (nZVI) concentration on the biochemical conversion of gaseous carbon dioxide (CO₂) into methane (CH₄). **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 275, p. 314–320, mar. 2019b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418317462>. Acesso em: 22 nov. 2024.

DONOSO-BRAVO, A.; PÉREZ-ELVIRA, S. I.; FDZ-POLANCO, F. Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 160, n. 2, p. 607–614, june 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894710003189>. Acesso em: 23 nov. 2024.

DOUGLAS, G. M. *et al.* PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. **Nature Biotechnology**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 685–688, june 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41587-020-0548-6>. Acesso em: 25 nov. 2024.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 350–356, mar. 1956. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60111a017>. Acesso em: 21 nov. 2024.

DUEHOLM, M. K. D. *et al.* MiDAS 5: Global diversity of bacteria and archaea in anaerobic digesters. **Nature Communications**, [s. l.], v. 15, n. 1, june 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-49641-y>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ETUWE, C. N.; MOMOH, Y. O. L.; IYAGBA, E. T. Development of Mathematical Models and Application of the Modified Gompertz Model for Designing Batch Biogas Reactors. **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 543–550, june 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12649-016-9482-8>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FENG, D. *et al.* External voltage promoting electro-fermentation of propionate wastewater in high concentration. **Energy**, [s. l.], v. 313, nov. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S036054422403826X>. Acesso em: 20 jan. 2025.

FENG, L. *et al.* Mechanisms, performance, and the impact on microbial structure of direct interspecies electron transfer for enhancing anaerobic digestion-A review. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 862, mar. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722079165>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 36–41, jul./dez. 2008. Disponível em: <https://des.ufla.br/~danielff/meusarquivospdf/art63.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Computer Analysis System To Fixed Effects Split Plot Type Designs. **Revista Brasileira De Biometria**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 529–535, dec. 2019. Disponível em: <https://biometria.ufla.br/index.php/bbj/article/view/450>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical methane potential (BMP) assay method for anaerobic digestion research. **Water (Switzerland)**, [s. l.], v. 11, n. 5, may 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4441/11/5/921>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FRANCHI, O. *et al.* Active and total microbial community dynamics and the role of functional genes *bamA* and *mcrA* during anaerobic digestion of phenol and p-cresol. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 264, p. 290–297, mar. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241830720X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FU, L. *et al.* NanoFe₃O₄ as solid electron shuttles to accelerate acetotrophic methanogenesis by *methanosarcina barkeri*. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 1–13, mar. 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.00388/full>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GAHLOT, P. *et al.* Conductive material engineered direct interspecies electron transfer (DIET) in anaerobic digestion: Mechanism and application. **Environmental Technology and Innovation**, [s. l.], v. 20, nov. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352186420313560>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GIL-GARCIA, C. *et al.* Recovering the sulfidogenic activity under harsh sulfide-rich fermentative conditions in a thermophilic structured-bed reactor: Performance and microbial aspects. **Environmental Technology and Innovation**, [s. l.], v. 30, may 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186423000767>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GOLKOWSKA, K.; GREGER, M. Anaerobic digestion of maize and cellulose under thermophilic and mesophilic conditions - A comparative study. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 56, p. 545–554, sept. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953413002924>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GUO, M. *et al.* Potential mechanisms of propionate degradation and methanogenesis in anaerobic digestion coupled with microbial electrolysis cell system: Importance of biocathode. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 400, apr. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424003985>. Acesso em: 20 jan. 2025.

HE, Z. W. *et al.* Roles of zero-valent iron in anaerobic digestion: Mechanisms, advances and perspectives. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 852, may 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896972205519X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HOLLIGER, C. *et al.* Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 74, n. 11, p. 2515–2522, sept. 2016. Disponível em: <https://iwaponline.com/wst/article/74/11/2515/18930/Towards-a-standardization-of-biomethane-potential>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HONETSCHLÄGEROVÁ, L. *et al.* Interactions of nanoscale zero valent iron and iron reducing bacteria in remediation of trichloroethene. **International Biodeterioration and Biodegradation**, [s. l.], v. 127, p. 241–246, feb. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0964830517311526>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HONG DAO, N. P. *et al.* Investigate the anaerobic degradation of high-acetone latex wastewater with magnetite supplement. **Chemosphere**, [s. l.], v. 339, apr. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653523018933>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HONG, P. N. *et al.* Optimum selection of extraction methods of extracellular polymeric substances in activated sludge for effective extraction of the target components. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 127, p. 136–146, nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X1730205X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HOU, Y. *et al.* Biological nitrogen removal mechanisms during anaerobic digestion of swine manure: Effects of biogas circulation and activated carbon addition. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 374, apr. 2023a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242300192X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HOU, Y. *et al.* Biogas circulation for improving the promotive effect of zero-valent iron on anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 21, feb. 2023b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X22003760>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HU, F. *et al.* The potential role of iron-carbon micro-electrolysis materials in curtailing lag-phase stimulates kitchen waste anaerobic digestion at different solid contents: Performance, synergistic effect and microbial response. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 370, may 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479724027191>. Acesso em: 20 nov. 2024.

HU, Y. *et al.* Enhancing the CH₄ yield of anaerobic digestion via endogenous CO₂ fixation by exogenous H₂. **Chemosphere**, [s. l.], v. 140, p. 34–39, dec. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653514012041>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HU, Y. YING *et al.* Novel insight into high solid anaerobic digestion of swine manure after thermal treatment: Kinetics and microbial community properties. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 235, p. 169–177, apr. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479719300477>. Acesso em: 20 jan. 2024.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. Preparation of Graphitic Oxide. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 80, n. 6, mar. 1958. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja01539a017>. Acesso em: 20 jan. 2024.

IGARASHI, K.; MIYAKO, E.; KATO, S. Direct Interspecies Electron Transfer Mediated by Graphene Oxide-Based Materials. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 1–10, jan. 2020. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.03068/full>.

Acesso em: 28 mar. 2024.

JANG, H. M.; CHOI, Y. K.; KAN, E. Effects of dairy manure-derived biochar on psychrophilic, mesophilic and thermophilic anaerobic digestions of dairy manure.

Bioresource Technology, [s. l.], v. 250, p. 927–931, feb. 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417320783>. Acesso em: 20 jan. 2024.

JIANG, N. *et al.* Synergistic improvement of short-chain fatty acid production from waste activated sludge via anaerobic fermentation by combined plasma-calcium peroxide process.

Bioresource Technology, [s. l.], v. 361, aug. 2022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422010835>. Acesso em: 11 mar. 2024.

JIANG, Q. *et al.* Insight into sludge anaerobic digestion with granular activated carbon addition: Methanogenic acceleration and methane reduction relief. **Bioresource Technology**,

[s. l.], v. 319, jan. 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242031405X>. Acesso em: 11 nov. 2024.

JIN, H. Y. *et al.* Role of extracellular polymeric substances in methane production from waste activated sludge induced by conductive materials. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 853, june 2022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722056091>. Acesso em: 12 nov. 2024.

JO, Y. *et al.* The effects of ammonia acclimation on biogas recovery and the microbial population in continuous anaerobic digestion of swine manure. **Environmental Research**, [s. l.], v. 212, sept. 2022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935122008106>. Acesso em: 20 mar. 2024.

KALANTZIS, D. *et al.* Granular activated carbon stimulates biogas production in pilot-scale anaerobic digester treating agro-industrial wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 376, p. 128908, jan. 2023. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852423003346>. Acesso em: 20 mar. 2024.

KANG, H. J. *et al.* Recent advances in methanogenesis through direct interspecies electron transfer via conductive materials: A molecular microbiological perspective. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 322, feb. 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420318617>. Acesso em: 20 jan. 2024.

KING, G. M. Metabolism of trimethylamine, choline, and glycine betaine by sulfate-reducing and methanogenic bacteria in marine sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 719–725, oct. 1984. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16346640/>. Acesso em: 19 jan. 2024.

KONG, T.; ZHANG, W. Enhanced Anaerobic Digestion Using Conductive Materials through Mediation of Direct Microbial Interspecies Electron Transfer: A Review. **Fermentation**, [s. l.], v. 9, n. 10, sept. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/10/884>. Acesso em: 17 jan. 2024.

KUMAR, V. *et al.* Insight into interactions between syntrophic bacteria and archaea in anaerobic digestion amended with conductive materials. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 144, july 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032121002574>. Acesso em: 16 jan. 2024.

KUSHKEVYCH, I. *et al.* Occurrence of thermophilic microorganisms in different full scale biogas plants. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 1–12, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/1/283>. Acesso em: 15 jan. 2024.

KUTLAR, F. E.; TUNCA, B.; YILMAZEL, Y. D. Carbon-based conductive materials enhance biomethane recovery from organic wastes: A review of the impacts on anaerobic treatment. **Chemosphere**, [s. l.], v. 290, mar. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653521037218>. Acesso em: 13 jan. 2024.

KWIETNIEWSKA, E.; TYS, J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 34, p. 491–500, june 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032114002020>. Acesso em: 12 jan. 2024.

LABATUT, R. A.; ANGENENT, L. T.; SCOTT, N. R. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 3, p. 2255–2264, feb. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852410016913>. Acesso em: 20 mar. 2024.

LABATUT, R. A.; ANGENENT, L. T.; SCOTT, N. R. Conventional mesophilic vs. thermophilic anaerobic digestion: A trade-off between performance and stability? **Water Research**, [s. l.], v. 53, p. 249–258, apr. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135414000736>. Acesso em: 20 mar. 2024.

LEE, J. T. E.; HE, J.; TONG, Y. W. Acclimatization of a mixed-animal manure inoculum to the anaerobic digestion of *Axonopus compressus* reveals the putative importance of *Mesotoga infera* and *Methanosaeta concilii* as elucidated by DGGE and Illumina MiSeq. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, p. 1148–1154, dec. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417314372>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LEE, J. Y.; LEE, S. H.; PARK, H. D. Enrichment of specific electro-active microorganisms and enhancement of methane production by adding granular activated carbon in anaerobic reactors. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 205, p. 205–212, apr. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241630030X>. Acesso em: 28 nov. 2024.

LI, C. *et al.* Cupric ions inducing dynamic hormesis in duckweed systems for swine wastewater treatment: Quantification, modelling and mechanisms. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 866, mar. 2023a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969723000268>. Acesso em: 27 jan. 2024.

LI, J. *et al.* Denitrification performance and mechanism of sequencing batch reactor with a novel iron-polyurethane foam composite carrier. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 176, june 2021a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X21002850>. Acesso em: 28 jan. 2024.

LI, J. *et al.* Effect of nano-magnetite on the propionic acid degradation in anaerobic digestion system with acclimated sludge. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 334, jan. 2021b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242100482X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LI, L. L. *et al.* Response of anaerobic granular sludge to single-wall carbon nanotube exposure. **Water Research**, [s. l.], v. 70, p. 1–8, mar. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135414008215>. Acesso em: 12 nov. 2024.

LI, S. *et al.* Regulating Secretion of Extracellular Polymeric Substances through Dosing Magnetite and Zerovalent Iron Nanoparticles to Affect Anaerobic Digestion Mode. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 9655–9662, apr. 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.9b01252>. Acesso em: 11 jan. 2024.

LI, W. *et al.* Dosage effect of micron zero-valent iron during thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge: Performance and functional community. **Environmental Research**, [s. l.], v. 237, nov. 2023b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935123018017>. Acesso em: 20 mar. 2024.

LI, X. *et al.* Revealing the mechanisms of rhamnolipid enhanced hydrogen production from dark fermentation of waste activated sludge. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 806, feb. 2022a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969721054243>. Acesso em: 29 jan. 2024.

LI, Y. *et al.* Deeper insights into the effects of substrate to inoculum ratio selection on the relationship of kinetic parameters, microbial communities, and key metabolic pathways during the anaerobic digestion of food waste. **Water Research**, [s. l.], v. 217, june 2022b.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135422003943>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LI, Y. *et al.* A large cathode surface area promotes electromethanogenesis at a proper external voltage in a single coaxial microbial electrolysis cell. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 868, sept. 2023c. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969723003364>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LI, Y. *et al.* Enhanced degradation of phenols and quinoline in coal gasification wastewater by iron-carbon multiple micro-electric field coupled with anaerobic co-digestion. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 201, jan. 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X23003133>. Acesso em: 20 nov. 2024.

LI, Y. *et al.* Pilot-scale study of enhanced thermophilic anaerobic digestion of food waste with the addition of trace elements. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 413, sept. 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424011581>. Acesso em: 28 nov. 2024.

LIANG, M. *et al.* Achieving efficient methane production from protein-rich organic waste in anaerobic digestion: Using conductive materials or regulating inoculum-to-substrate ratios? **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 385, july 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242300901X>. Acesso em: 27 mar. 2024.

LIMA, D. R. S. *et al.* Influence of different thermal pretreatments and inoculum selection on the biomethanation of sugarcane bagasse by solid-state anaerobic digestion: A kinetic analysis. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 111, p. 684–693, jan. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017308075>. Acesso em: 25 jan. 2024.

LIN, M. *et al.* Determination of effects of thermophilic and hyperthermophilic temperatures on anaerobic hydrolysis and acidogenesis of pig manure through a one-year study. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 391, jan. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852423013184>. Acesso em: 20 nov. 2024.

LIN, R. *et al.* Boosting biomethane yield and production rate with graphene: The potential of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 239, p. 345–352, sept. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417306569>. Acesso em: 24 mar. 2024.

LIN, R. *et al.* Graphene Facilitates Biomethane Production from Protein-Derived Glycine in Anaerobic Digestion. **iScience**, [s. l.], v. 10, p. 158–170, dec. 2018a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004218302207>. Acesso em: 23 nov. 2024.

- LIN, R. *et al.* Improved efficiency of anaerobic digestion through direct interspecies electron transfer at mesophilic and thermophilic temperature ranges. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 350, p. 681–691, mar. 2018b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894718309975>. Acesso em: 22 jan. 2024.
- LIU, F. *et al.* Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon. **Energy and Environmental Science**, [s. l.], v. 5, n. 10, p. 8982–8989, 2012a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421007574>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- LIU, F. *et al.* Magnetite compensates for the lack of a pilin-associated c-type cytochrome in extracellular electron exchange. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 648–655, mar. 2015. Disponível em: <https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.12485>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- LIU, J. *et al.* Effect of zero-valent iron combined with carbon-based materials on the mitigation of ammonia inhibition during anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 311, may 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420307756v>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- LIU, J. *et al.* Fe oxides nano-modified pumice enhances hydrogenotrophic methanogenesis in anaerobic digestion: Performance and mechanism of microbial community. **Journal of Environmental Sciences**, [s. l.], v. 154, p. 114–117, aug. 2025a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1001074224004091>. Acesso em: 20 mar. 2024.
- LIU, S. *et al.* Granule formation mechanism, key influencing factors, and resource recycling in aerobic granular sludge (AGS) wastewater treatment: A review. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 338, jan. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479723005595>. Acesso em: 12 mar. 2024.
- LIU, X. *et al.* Time-dependent interference of surfactants and CeO₂/Fe₂O₃ nanoparticles co-occurrence on the volatile fatty acids biosynthesis during semi-continuous sludge fermentation. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 475, mar. 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389424014948>. Acesso em: 27 nov. 2024.
- LIU, Y. *et al.* Applying an electric field in a built-in zero valent iron - Anaerobic reactor for enhancement of sludge granulation. **Water Research**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 1258–1266, jan. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135410006974>. Acesso em: 21 mar. 2024.
- LIU, Y. *et al.* Optimization of anaerobic acidogenesis by adding Fe₀ powder to enhance anaerobic wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 192, p. 179–185, june 2012b. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894712004044>. Acesso em: 24 nov. 2024.

LIU, Y. *et al.* The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review. **Environment International**, [s. l.], v. 123, p. 10–19, feb. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018323997>. Acesso em: 20 nov. 2024.

LIU, Y. Q.; LIU, Y.; TAY, J. H. The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 143–148, aug. 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-004-1657-8>. Acesso em: 20 mar. 2024.

LONGARETTI, G. *et al.* Study of specific methanogenic activity of different anaerobic sludges. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s. l.], v. 24, n. 6, p. 1139–1146, nov./dez. 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/esa/a/BkfTvTN4VSZnJ3kfrdQzDbH/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 mar. 2024.

LOUCA, S.; DOEBELI, M. Efficient comparative phylogenetics on large trees. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 1053–1055, mar. 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/34/6/1053/4582279>. Acesso em: 22 mar. 2024.

LOURINHO, G.; RODRIGUES, L. F. T. G.; BRITO, P. S. D. Recent advances on anaerobic digestion of swine wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 17, n. 12, p. 4917–4938, dec. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13762-020-02793-y>. Acesso em: 28 mar. 2024.

LOVLEY, D. R. Syntrophy Goes Electric: Direct Interspecies Electron Transfer. **Annual Review of Microbiology**, [s. l.], v. 71, p. 643–664, sept. 2017. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-micro-030117-020420>. Acesso em: 20 mar. 2024.

LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925819524516>. Acesso em: 21 jan. 2024.

LUQUE, T. *et al.* Advanced technological integration for swine wastewater: Enhancing treatment with photo-Fenton and electrocoagulation. **Results in Engineering**, [s. l.], v. 24, sept. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590123024012969>. Acesso em: 28 nov. 2024.

LV, J. *et al.* Effect of potassium persulphate addition on sludge disintegration of a mesophilic anaerobic fermentation system. **Environmental Technology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 43, n. 11, p. 1709–1722, apr. 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2020.1849407>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LV, Z. *et al.* A novel strategy for improving ammonia resistance of acidogenesis using domesticated sludge combined with nZVI addition in an ambient anaerobic digestion system. **Water Research**, [s. l.], v. 268, jan. 2025. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135424015185>. Acesso em: 28 jan. 2025.

LYU, Z.; WHITMAN, W. B. Transplanting the pathway engineering toolbox to methanogens. **Current Opinion in Biotechnology**, [s. l.], v. 59, p. 46–54, oct. 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095816691830168X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

MA, K. *et al.* Effect of magnetite on anaerobic digestion treating saline wastewater: Methane production, biomass aggregation and microbial community dynamics. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 341, aug. 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242101124X>. Acesso em: 11 mar. 2024.

MA, K. LI; LI, X. KUN; BAO, L. LIN. Influence of organic loading rate on purified terephthalic acid wastewater treatment in a temperature staged anaerobic treatment (TSAT) system: Performance and metagenomic characteristics. **Chemosphere**, [s. l.], v. 220, p. 1091–1099, apr. 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519300281>. Acesso em: 13 mar. 2024.

MA, P. *et al.* Synergistic enhancement of microbes-to-pollutants and inter-microbes electron transfer by Fe, N modified ordered mesoporous biochar in anaerobic digestion. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 476, june 2024. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389424016091>. Acesso em: 21 nov. 2024.

MA, Z. *et al.* Anaerobic co-digestion of winery wastewater with sewage sludge for methane production: Complementary feedstocks and potential direct interspecies electron transfer. **Fuel**, [s. l.], v. 381, jan. 2025. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236124023391>. Acesso em: 28 jan. 2025.

MAHMOOD, M. *et al.* Betaine Modulates Rumen Archaeal Community and Functioning during Heat and Osmotic Stress Conditions in Vitro. **Archaea**, [s. l.], v. 2020, oct. 2020.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2020/8875773>. Acesso em: 17 mar. 2024.

MARIA, M. P. *et al.* Current advances in the brewery wastewater treatment from anaerobic digestion for biogas production: A systematic review. **Environmental Advances**, [s. l.], v. 13, oct. 2023. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666765723000546>. Acesso em: 18 mar. 2024.

MARKOWITZ, V. M. *et al.* IMG: The integrated microbial genomes database and comparative analysis system. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 40, p. 115–122, jan. 2012.

Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/40/D1/D115/2902777>. Acesso em: 16 mar. 2024.

MCCARTY, P. L.; SMITH, D. P. Anaerobic wastewater treatment. **Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1200–1206, dec. 1986. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es00154a002>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **Plos One**, [s. l.], v. 8, n. 4, apr. 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0061217>. Acesso em: 21 nov. 2024.

MEMBERE, E.; SALLIS, P. Effect of temperature on kinetics of biogas production from macroalgae. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 263, p. 410–417, may 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418306837>. Acesso em: 15 nov. 2024.

MENG, X. *et al.* Relieving ammonia inhibition by zero-valent iron (ZVI) dosing to enhance methanogenesis in the high solid anaerobic digestion of swine manure. **Waste Management**, [s. l.], v. 118, p. 452–462, dec. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X20304633>. Acesso em: 10 nov. 2024.

MERLIN CHRISTY, P.; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 34, p. 167–173, june 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032114001671>. Acesso em: 22 nov. 2024.

MISHRA, P.; PRADHAN, N. A synergistic association between iron reduction and enhanced hydrogen production in *Clostridium pasteurianum*. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 203, jan. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X24000032>. Acesso em: 29 nov. 2024.

MOESTEDT, J. *et al.* Acetate and Lactate Production During Two-Stage Anaerobic Digestion of Food Waste Driven by *Lactobacillus* and *Aeriscardovia*. **Frontiers in Energy Research**, [s. l.], v. 8, p. 1–15, june 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/energy-research/articles/10.3389/fenrg.2020.00105/full>. Acesso em: 28 nov. 2024.

MORAIS, N. W. S. *et al.* Kinetic modeling of anaerobic carboxylic acid production from swine wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 297, feb. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241931750X>. Acesso em: 28 jan. 2024.

MORAIS, N. W. S. *et al.* Study on Brazilian agribusiness wastewaters: composition, physical-chemical characterization, volumetric production and resource recovery. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 248–265, june 2021a.

Disponível em: https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes_RBCIAMB/article/view/875. Acesso em: 29 jan. 2024.

MORAIS, N. W. S. *et al.* Biochemical potential evaluation and kinetic modeling of methane production from six agro-industrial wastewaters in mixed culture. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 280, july 2021b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749121004589>. Acesso em: 28 mar. 2024.

MORAIS, N. W. S. *et al.* Kinetic Study of Methanization Process Through Mathematical Modeling in Biochemical Methane Potential Assays from Four Different Inoculants. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 232, n. 10, p. 1–16, oct. 2021c. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-021-05387-7>. Acesso em: 11 mar. 2024.

MORAIS, N. W. S.; SANTOS, A. B. DOS. Análise dos padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos e de reúso de águas residuárias de diversos estados do Brasil. **Revista DAE**, [s. l.], v. 67, n. 215, p. 40–55, jan./mar. 2019. Disponível em: https://revistadae.com.br/artigos/artigo_edicao_215_n_1764.pdf. Acesso em: 17 jan. 2024.

MORGAN, J. W.; FORSTER, C. F.; EVISON, L. A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. **Water Research**, [s. l.], v. 24, n. 6, p. 743–750, june 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/004313549090030A>. Acesso em: 28 nov. 2024.

MORTEZAEI, Y.; DEMIRER, G. N.; WILLIAMS, M. R. Fate of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in sewage sludge by full-scale anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 951, may 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969724059163>. Acesso em: 12 nov. 2024.

MSHANDETE, A. *et al.* Anaerobic batch co-digestion of sisal pulp and fish wastes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 95, n. 1, p. 19–24, oct. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852404000331>. Acesso em: 28 jan. 2024.

MURATÇOBANOĞLU, H. *et al.* The impact of reduced graphene oxide (rGO) supplementation on cattle manure anaerobic digestion: Focusing on process performance and microbial syntrophy. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 173, sept. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X2100156X>. Acesso em: 28 mar. 2024.

NABI, M.; XIAO, K.; GAO, D. Elevating anaerobic digestion efficiency: Unveiling the alchemical effects of conductive materials on extracellular polymeric substances (EPSs) composition. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 5, oct. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S221334372401621X>. Acesso em: 28 nov. 2024.

NAGARAJAN, D. *et al.* Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 289, may 2019. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419309484>. Acesso em: 10 jan. 2024.

NÁTHIA-NEVES, G. *et al.* Anaerobic digestion process: technological aspects and recent developments. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 15, p. 2033–2046, may 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13762-018-1682-2>. Acesso em: 28 mar. 2024.

NGUYEN, L. N. *et al.* Promotion of direct interspecies electron transfer and potential impact of conductive materials in anaerobic digestion and its downstream processing - a critical review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 341, aug. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421011883>. Acesso em: 1 mar. 2024.

NGUYEN, T. H. *et al.* Harnessing iron materials for enhanced decolorization of azo dye wastewater : A comprehensive review. **Environmental Research**, [s. l.], v. 258, mar. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935124013239>. Acesso em: 28 nov. 2024.

ORRANTIA, M. *et al.* Enhanced methane production via anaerobic digestion assisted with Fe₃O₄ nanoparticles supported on microporous granular activated carbon. **Fuel**, [s. l.], v. 360, mar. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236123031319>. Acesso em: 15 nov. 2024.

PAN, X. *et al.* Carbon- and metal-based mediators modulate anaerobic methanogenesis and phenol removal: Focusing on stimulatory and inhibitory mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 420, mar. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389421015806>. Acesso em: 15 jan. 2024.

PARITOSH, K. *et al.* Additives as a Support Structure for Specific Biochemical Activity Boosts in Anaerobic Digestion: A Review. **Frontiers in Energy Research**, [s. l.], v. 8, p. 1–17, june 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/energy-research/articles/10.3389/fenrg.2020.00088/full>. Acesso em: 12 mar. 2024.

PARK, J. H. *et al.* Direct interspecies electron transfer via conductive materials: A perspective for anaerobic digestion applications. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 254, p. 300–311, feb. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418301093>. Acesso em: 22 mar. 2024.

PENG, C. *et al.* Enhanced hydrolysis and methane yield of temperature-phased dewatered sludge anaerobic digestion by microbial electrolysis cell. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 400, apr. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424003857>. Acesso em: 22 nov. 2024.

PENG, H. *et al.* Roles of magnetite and granular activated carbon in improvement of anaerobic sludge digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 249, p. 666–672, feb. 2018.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241731876X>. Acesso em: 17 nov. 2024.

PIERANGELI, G. M. F. *et al.* Long-term temporal dynamics of total and potentially active microbiota affect the biogas quality from the anaerobic digestion of vinasse in a pilot-scale hybrid anaerobic reactor. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 26, june 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X2400063X>. Acesso em: 29 nov. 2024.

PONZELLI, M. *et al.* Enhanced methane production kinetics by graphene oxide in fed-batch tests. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 360, july 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852422009713>. Acesso em: 10 mar. 2024.

PONZELLI, M. *et al.* The ambivalent role of graphene oxide in anaerobic digestion : A review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 414, oct. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852424013671>. Acesso em: 22 nov. 2024.

PROCHÁZKA, J. *et al.* Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 439–447, jan. 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-011-3625-4>. Acesso em: 15 mar. 2024.

QADIR, M. *et al.* Global and regional potential of wastewater as a water, nutrient and energy source. **Natural Resources Forum**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 40–51, jan. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1477-8947.12187>. Acesso em: 18 nov. 2024.

QI, X. *et al.* Development of a rapid startup method of direct electron transfer-dominant methanogenic microbial electrosynthesis. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 358, may 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422007143>. Acesso em: 10 jan. 2024.

QIN, S. *et al.* Microbial dynamics during anaerobic digestion of sewage sludge combined with food waste at high organic loading rates in immersed membrane bioreactors. **Fuel**, [s. l.], v. 303, june 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236121011558>. Acesso em: 19 jan. 2024.

RINCÓN, B. *et al.* Biochemical methane potential of two-phase olive mill solid waste: Influence of thermal pretreatment on the process kinetics. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 140, p. 249–255, july 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852413007141>. Acesso em: 20 jan. 2024.

ROCAMORA, I. *et al.* Dry anaerobic digestion of organic waste: A review of operational parameters and their impact on process performance. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 299, sept. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852419319108>. Acesso em: 10 mar. 2024.

RODRIGUES CERQUEIRA, M. B. *et al.* Validação De método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes De reatores anaeróbios empregando cromatografia líquida. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 156–159, nov. 2011. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/vBt9yVgPYDgZcRYWShZJfRn/>. Acesso em: 22 mar. 2024.

ROJAS-ANDRADE, M. D. *et al.* Antibacterial mechanisms of graphene-based composite nanomaterials. **Nanoscale**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 994–1006, 2017. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/nr/c6nr08733g>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ROMERO, R. M. *et al.* Improved methane production from anaerobic digestion of liquid and raw fractions of swine manure effluent using activated carbon. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 38, aug. 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714420304542>. Acesso em: 29 nov. 2024.

ROTARU, A. E. *et al.* A new model for electron flow during anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer to Methanosaeta for the reduction of carbon dioxide to methane. **Energy and Environmental Science**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 408–415, 2014. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ee/c3ee42189a>. Acesso em: 12 nov. 2024.

RUAN, R. *et al.* The influence of micro-oxygen addition on desulfurization performance and microbial communities during waste-activated sludge digestion in a rusty scrap iron-loaded anaerobic digester. **Energies**, [s. l.], v. 10, n. 2, feb. 2017. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1996-1073/10/2/258>. Acesso em: 11 nov. 2024.

RYUE, J. *et al.* A critical review of conventional and emerging methods for improving process stability in thermophilic anaerobic digestion. **Energy for Sustainable Development**, [s. l.], v. 54, p. 72–84, feb. 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0973082619312682>. Acesso em: 14 jan. 2024.

SABARIKIRISHWARAN, P. *et al.* Feasibility and optimizing assessments on biogas and biomethane productions from E. coli fermenter effluent. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 173, n. Apr. 2023, june 2023. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953423000818>. Acesso em: 10 mar. 2024.

SÁEZ, J. A. *et al.* Evaluation of the slurry management strategy and the integration of the composting technology in a pig farm – Agronomical and environmental implications. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 192, p. 57–67, may 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479717300555>. Acesso em: 10 mar. 2024.

SAGHAÏ, A. *et al.* Unveiling microbial interactions in stratified mat communities from a warm saline shallow pond. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 2405–2421, may 2017. Disponível em: <https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.13754>. Acesso em: 25 mar. 2024.

SALAS, E. C. *et al.* Reduction of Graphene Oxide via. **ACS Nano**, [s. l.], v. 4, n. 8, p. 4852–4856, july 2010. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn101081t>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SCALA, D. J. *et al.* Characterization of Fe(III)-reducing enrichment cultures and isolation of Fe(III)-reducing bacteria from the Savannah River site, South Carolina. **Research in Microbiology**, [s. l.], v. 157, n. 8, p. 772–783, oct. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092325080600101X>. Acesso em: 10 nov. 2024.

SCHMIDT, J. E. E.; AHRING, B. K. Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 42, n. 2–3, p. 457–462, nov. 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00902757>. Acesso em: 18 nov. 2024.

SCOTT, A. A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 507–512, sept. 1974. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/2529204>. Acesso em: 22 jan. 2024.

SHEN, L. *et al.* Interspecies electron transfer in syntrophic methanogenic consortia: From cultures to bioreactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 54, p. 1358–1367, feb. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032115011818>. Acesso em: 28 nov. 2024.

SHEN, Y. *et al.* Role of redox-active biochar with distinctive electrochemical properties to promote methane production in anaerobic digestion of waste activated sludge. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 278, jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652620332571>. Acesso em: 22 nov. 2024.

SHENG, G. P.; YU, H. Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 882–894, nov./dec. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975010001035>. Acesso em: 11 mar. 2024.

SHI, L. *et al.* Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 651–662, aug. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.93>. Acesso em: 10 jan. 2024.

SHI, L. *et al.* Performance evaluation and microbial community analysis of a continuous stirred tank reactor–anaerobic ceramic membrane bioreactor system for practical swine wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 66, aug. 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714424012017>. Acesso em: 25 nov. 2024.

SHI, M. *et al.* Effect of COD/SO₄²⁻ ratios on the performance of the thermophilic anaerobic system for treating sulfate-rich wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 59, jan. 2024b. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714424000837>. Acesso em: 26 nov. 2024.

SHI, X. *et al.* Zero-valent iron mediated biological wastewater and sludge treatment. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 426, may 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894721024062>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SI, B. *et al.* The role of hydraulic retention time on controlling methanogenesis and homoacetogenesis in biohydrogen production using upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor and packed bed reactor (PBR). **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 40, n. 35, p. 11414–11421, sept. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360319915009234>. Acesso em: 21 mar. 2024.

SIMATE, G. S. *et al.* The treatment of brewery wastewater for reuse: State of the art. **Desalination**, [s. l.], v. 273, n. 2–3, p. 235–247, june 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0011916411001615>. Acesso em: 11 jan. 2024.

SINGH, R. *et al.* Thermophilic Anaerobic Digestion: An Advancement towards Enhanced Biogas Production from Lignocellulosic Biomass. **Sustainability**, [s. l.], v. 15, n. 3, jan. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/15/3/1859>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SOLIMAN, R.; HAMZA, R. A.; IORHEMEN, O. T. Biofilm-based hybrid systems for enhanced brewery wastewater treatment – A review. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 58, jan. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714423012837>. Acesso em: 28 nov. 2024.

SONG, X. *et al.* Resource recovery from wastewater by anaerobic membrane bioreactors: Opportunities and challenges. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 270, p. 669–677, aug. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418312380>. Acesso em: 20 jan. 2024.

SONG, Y. *et al.* Three-dimensional graphene aerogel mitigated the toxic impact of chloramphenicol wastewater on microorganisms in an EGSB reactor. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 904, sept. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969723054219>. Acesso em: 11 jan. 2024.

SPEIRS, L. B. M. *et al.* The Phylogeny, Biodiversity, and Ecology of the Chloroflexi in Activated Sludge. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 1–28, sept. 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02015/full>. Acesso em: 13 mar. 2024.

STORCK, T.; VIRDIS, B.; BATSTONE, D. J. Modelling extracellular limitations for mediated versus direct interspecies electron transfer. **ISME Journal**, [s. l.], v. 10, n. 3, p.

621–631, nov. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej2015139>. Acesso em: 14 nov. 2024.

SU, H. *et al.* Advanced treatment and Resource recovery of brewery wastewater by Co-cultivation of filamentous microalga *Tribonema aequale* and autochthonous Bacteria. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 348, oct. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030147972302073X>. Acesso em: 12 jan. 2024.

SUN, J. *et al.* Carbon, iron, and polymer-based conductive materials for improving methane production in anaerobic wastewater treatment systems: A review on their direct interspecific electron transfer mechanism. **Fuel**, [s. l.], v. 342, feb. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236123003162>. Acesso em: 12 nov. 2024.

SUN, M. *et al.* Enhancing methane production of synthetic brewery water with granular activated carbon modified with nanoscale zero-valent iron (NZVI) in anaerobic system. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 760, mar. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720374647>. Acesso em: 17 nov. 2024.

SUN, M. *et al.* Coupling direct voltage and granular activated carbon modified nanoscale zero valent iron for enhancing anaerobic methane production. **Chemosphere**, [s. l.], v. 286, jan. 2022a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653521023122>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SUN, M. *et al.* Deciphering the role of microplastic size on anaerobic sludge digestion: Changes of dissolved organic matter, leaching compounds and microbial community. **Environmental Research**, [s. l.], v. 214, nov. 2022b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935122013597>. Acesso em: 25 mar. 2024.

SUNG, S.; LIU, T. Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. **Chemosphere**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 43–52, oct. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004565350300434X>. Acesso em: 29 mar. 2024.

TIAN, H. *et al.* Different cultivation methods to acclimatise ammonia-tolerant methanogenic consortia. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 232, p. 1–9, may 2017a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417301517>. Acesso em: 21 jan. 2025.

TIAN, H. *et al.* Acclimation to extremely high ammonia levels in continuous biomethanation process and the associated microbial community dynamics. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 247, p. 616–623, jan. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417317133>. Acesso em: 30 jan. 2025.

TIAN, T. *et al.* Nano-graphene induced positive effects on methanogenesis in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 224, p. 41–47, jan. 2017b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241631464X>. Acesso em: 29 jan. 2025.

TIAN, Z. *et al.* Thermophilic anaerobic digestion reduces ARGs in excess sludge even under high oxytetracycline concentrations. **Chemosphere**, [s. l.], v. 222, p. 305–313, may 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519301493>. Acesso em: 29 jan. 2025.

TIRAPANAMPAI, C. *et al.* Processing of palm oil mill effluent (POME) into food waste digesting microbes: An investigation of acclimatization strategies. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, [s. l.], v. 52, aug. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213138822003393>. Acesso em: 28 jan. 2025.

TIWARI, S. B. *et al.* Carbon-based conductive materials facilitated anaerobic co-digestion of agro waste under thermophilic conditions. **Waste Management**, [s. l.], v. 124, p. 17–25, apr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X2100043X>. Acesso em: 26 jan. 2025.

TSUNEDA, S. *et al.* Influence of extracellular polymers on electrokinetic properties of heterotrophic bacterial cells examined by soft particle electrophoresis theory. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 29, n. 2–3, p. 181–188, june 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776502001881>. Acesso em: 27 jan. 2025.

UEKI, T. *et al.* Geobacter strains expressing poorly conductive pili reveal constraints on direct interspecies electron transfer mechanisms. **mBio**, [s. l.], v. 9, n. 4, july 2018. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.01273-18>. Acesso em: 25 jan. 2025.

ULLAH KHAN, I. *et al.* Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. **Energy Conversion and Management**, [s. l.], v. 150, p. 277–294, aug. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0196890417307471>. Acesso em: 23 jan. 2025.

UMEZAWA, K. *et al.* Dissulfurispira thermophila gen. nov., sp. nov., a thermophilic chemolithoautotroph growing by sulfur disproportionation, and proposal of novel taxa in the phylum Nitrospirota to reclassify the genus Thermodesulfovibrio. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 44, n. 2, feb. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202021000072>. Acesso em: 23 jan. 2025.

UNITED STATES OF AMERICA. Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. **Livestock and poultry: world markets and trade** United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service. [S. l. : s. n.], 2024. Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF. Acesso em: 10 nov. 2024.

VAN DER ZEE, F. P. *et al.* Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. **Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 402–408, dec. 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es025885o>. Acesso em: 20 jan. 2025.

VIRDIS, B.; DENNIS, P. G. The nanostructure of microbially-reduced graphene oxide fosters thick and highly-performing electrochemically-active biofilms. **Journal of Power Sources**, [s. l.], v. 356, p. 556–565, july 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378775317302707>. Acesso em: 19 jan. 2025.

VYRIDES, I. *et al.* CO₂ conversion to CH₄ using Zero Valent Iron (ZVI) and anaerobic granular sludge: Optimum batch conditions and microbial pathways. **Journal of CO₂ Utilization**, [s. l.], v. 27, p. 415–422, apr. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212982018302889>. Acesso em: 18 jan. 2025.

WANG, C. *et al.* A short-term stimulation of ethanol enhances the effect of magnetite on anaerobic digestion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 103, n. 3, p. 1511–1522, dec. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-018-9531-2>. Acesso em: 18 jan. 2025.

WANG, C. *et al.* Improving anaerobic digestion of lignocellulosic hydrolysate derived from hydrothermal pretreatment via applied voltages. **Energy**, [s. l.], v. 312, may 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360544224034297>. Acesso em: 14 jan. 2025.

WANG, M. *et al.* A cyclic shift-temperature operation method to train microbial communities of mesophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 412, n. 600, nov. 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424011143>. Acesso em: 14 jan. 2025.

WANG, T. *et al.* Effects of metal nanoparticles on methane production from waste-activated sludge and microorganism community shift in anaerobic granular sludge. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, p. 1–10, may 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep25857>. Acesso em: 13 jan. 2025.

WANG, T. *et al.* Anaerobic digestion of sludge filtrate assisted by symbionts of short chain fatty acid-oxidation syntrophs and exoelectrogens: Process performance, methane yield and microbial community. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 384, aug. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389419311768>. Acesso em: 10 jan. 2025.

WANG, W.; LEE, D. J. Direct interspecies electron transfer mechanism in enhanced methanogenesis: A mini-review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 330, jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421003199>. Acesso em: 24 jan. 2025.

WANG, X. *et al.* Performance and metagenomics analysis of anaerobic digestion of food waste with adding biochar supported nano zero-valent iron under mesophilic and thermophilic condition. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 820, may 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722003357>. Acesso em: 23 jan. 2025.

WANG, X. *et al.* Effect of D-limonene on volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of waste activated sludge under pH regulation: Performance and mechanisms. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 370, aug. 2024c. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479724028147>. Acesso em: 23 jan. 2025.

WANG, X. *et al.* Enhanced anaerobic digestion of landfill leachate based on a novel redox mediator: Synergistic mechanism of enhancing extracellular electron transfer. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 490, apr. 2024d. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138589472403136X>. Acesso em: 22 jan. 2025.

WANG, X. *et al.* Enhancing anaerobic digestion of actual papermaking wastewater with addition of Fenton sludge. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 63, may 2024e. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714424007529>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WANG, Y. *et al.* Microbial community succession and antibiotic resistance gene response during the one-step startup of thermophilic UASB. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 12, n. 5, oct. 2024f. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343724021341>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WANG, Z. *et al.* Accelerating anaerobic digestion for methane production: Potential role of direct interspecies electron transfer. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 145, apr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032121003579>. Acesso em: 20 jan. 2025.

WANG, Z. *et al.* Influence of temperature fluctuations on anaerobic digestion: Optimum performance is achieved at 45 °C. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 492, may 2024g. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138589472403818X>. Acesso em: 18 jan. 2025.

WARE, A.; POWER, N. Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 104, p. 50–59, apr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960148116310291>. Acesso em: 10 jan. 2025.

WEI, J. *et al.* Feasibility analysis of anaerobic digestion of excess sludge enhanced by iron: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 89, p. 16–26, june 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032118300698>. Acesso em: 16 jan. 2025.

WU, D. *et al.* Performance of a zero valent iron-based anaerobic system in swine wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 286, p. 1–6, apr. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389414010139>. Acesso em: 15 jan. 2025.

WU, L. *et al.* Conductive materials as fantastic toolkits to stimulate direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion: new insights into methanogenesis contribution, characterization technology, and downstream treatment. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 326, jan. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479722023052>. Acesso em: 12 jan. 2025.

WU, Q. *et al.* Effects of antibiotics on anaerobic digestion of sewage sludge: Performance of anaerobic digestion and structure of the microbial community. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 845, may 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722044825>. Acesso em: 10 jan. 2025.

XI, Y. *et al.* Methane production from wheat straw with anaerobic sludge by heme supplementation. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 172, p. 91–96, nov. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852414012619>. Acesso em: 10 nov. 2024.

XIA, Y. *et al.* Cellular adhesiveness and cellulolytic capacity in Anaerolineae revealed by omics-based genome interpretation. **Biotechnology for Biofuels**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–13, may 2016. Disponível em: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-016-0524-z>. Acesso em: 11 nov. 2024.

XIAN, Y. *et al.* Removal of organic matter from food wastewater using anaerobic digestion at low temperatures enhanced by exogenous signaling molecule N-hexanoyl-homoserine lactone enhancement: Insight to extracellular polymeric substances and key functional genes. **Chemosphere**, [s. l.], v. 364, apr. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653524019180>. Acesso em: 20 nov. 2024.

XIANG, Y. *et al.* Coexistence of microplastics alters the inhibitory effect of antibiotics on sludge anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 455, june 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894722062349>. Acesso em: 13 nov. 2024.

XIANG, Y. *et al.* Metagenomic insights into the toxicity of carbamazepine to functional microorganisms in sludge anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 919, p. 170780, jan. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969724009197>. Acesso em: 28 nov. 2024.

XIAO, L. *et al.* Enhanced methane production by granular activated carbon: A review. **Fuel**, [s. l.], v. 320, july 2022a. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016236122007621>. Acesso em: 10 jan. 2024.

XIAO, M. *et al.* Synergistic bioaugmentation with *Clostridium thermopalmarium* and *Caldibacillus thermoamylovorans* improved methane production from thermophilic anaerobic digestion of food waste. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 480, jan. 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894723071048>. Acesso em: 21 nov. 2024.

XIAO, S. *et al.* Influence of sewage treatment plant effluent discharge into multipurpose river on its water quality: A quantitative health risk assessment of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 233, p. 797–805, feb. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749117326817>. Acesso em: 10 nov. 2024.

XIAO, Y. *et al.* Improved biogas production of dry anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 294, aug. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241931418X>. Acesso em: 15 mar. 2024.

XIAO, Y. *et al.* Granular activated carbon alleviates the combined stress of ammonia and adverse temperature conditions during dry anaerobic digestion of swine manure. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 169, p. 451–460, may 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960148121000276>. Acesso em: 25 mar. 2024.

XIAO, Y. *et al.* Alleviating nutrient imbalance of low carbon-to-nitrogen ratio food waste in anaerobic digestion by controlling the inoculum-to-substrate ratio. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 346, feb. 2022b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421016849>. Acesso em: 19 mar. 2024.

XIAO, Y. *et al.* Effects of polypropylene microplastics on digestion performance, microbial community, and antibiotic resistance during microbial anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 411, june 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424010629>. Acesso em: 15 nov. 2024.

XU, H. *et al.* Enhancing direct interspecies electron transfer in syntrophic-methanogenic associations with (semi)conductive iron oxides: Effects and mechanisms. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 695, dec. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719338264>. Acesso em: 12 jan. 2025.

XU, J. *et al.* Effect of anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) on anaerobic digestion under ammonia stress: Triggering mediated interspecies electron transfer (MIET). **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 828, july 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722012505>. Acesso em: 13 jan. 2025.

XU, W. *et al.* Effect of granular activated carbon adsorption and size of microbial aggregates in inoculum on stimulating direct interspecies electron transfer during anaerobic digestion of fat, oil, and grease. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 368, jan. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422016224>. Acesso em: 14 jan. 2025.

XU, X. *et al.* Bioaugmentation with targeted recombinant functional consortia to improve lignocellulosic biowaste co-anaerobic digestion performance. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 499, n. 138, nov. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894724076423>. Acesso em: 14 jan. 2025.

XU, Y. *et al.* The influence of organic-binding metals on the biogas conversion of sewage sludge. **Water Research**, [s. l.], v. 126, p. 329–341, dec. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004313541730800X>. Acesso em: 13 jan. 2025.

YAN, W. *et al.* The role of conductive materials in the start-up period of thermophilic anaerobic system. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 239, p. 336–344, sept. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417306855>. Acesso em: 11 mar. 2024.

YAN, W. *et al.* Enhanced anaerobic phenol degradation by conductive materials via EPS and microbial community alteration. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 352, p. 1–9, july 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894718312336>. Acesso em: 12 mar. 2024.

YAN, W. *et al.* Unveiling the role of activated carbon on hydrolysis process in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 296, jan. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419315962>. Acesso em: 15 mar. 2024.

YANG, G.; WANG, J. Biohydrogen production by co-fermentation of antibiotic fermentation residue and fallen leaves: Insights into the microbial community and functional genes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 337, may 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421007203>. Acesso em: 18 mar. 2024.

YANG, J. *et al.* Novel lanthanum-iron oxide nanoparticles alleviate the inhibition of anaerobic digestion by carbamazepine through adsorption and bioaugmentation. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 340, jan. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479723007636>. Acesso em: 19 mar. 2024.

YANG, Y. *et al.* Adding granular activated carbon into anaerobic sludge digestion to promote methane production and sludge decomposition. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 149, p. 1101–1108, apr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652617303827>. Acesso em: 21 mar. 2024.

YANG, Y. *et al.* Enhanced anaerobic digestion of ammonia-rich swine manure by zero-valent iron: With special focus on the enhancement effect on hydrogenotrophic methanogenesis activity. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 270, p. 172–179, dec. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418312458>. Acesso em: 28 mar. 2024.

YAO, B. *et al.* Mechanism of biochar in alleviating the inhibition of anaerobic digestion under ciprofloxacin press. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 480, aug. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389424025287>. Acesso em: 10 jan. 2025.

YE, M. *et al.* Improving the stability and efficiency of anaerobic digestion of food waste using additives: A critical review. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 192, p. 316–326, aug. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652618312861>. Acesso em: 11 nov. 2024.

YE, W. *et al.* The effects and mechanisms of zero-valent iron on anaerobic digestion of solid waste: A mini-review. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 278, n. 130, jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095965262033612X>. Acesso em: 13 nov. 2024.

YENIGÜN, O.; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 48, n. 5–6, p. 901–911, may/june 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511313001657>. Acesso em: 15 nov. 2024.

YILDIRIM, O.; OZKAYA, B. Prediction of biogas production of industrial scale anaerobic digestion plant by machine learning algorithms. **Chemosphere**, [s. l.], v. 335, may 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653523012432>. Acesso em: 18 nov. 2024.

YIN, Q. *et al.* Enhanced system performance by dosing ferroferric oxide during the anaerobic treatment of tryptone-based high-strength wastewater. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 101, n. 9, p. 3929–3939, may 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-017-8194-8>. Acesso em: 17 nov. 2024.

YIN, Q.; GU, M.; WU, G. Inhibition mitigation of methanogenesis processes by conductive materials: A critical review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 317, june 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420312499>. Acesso em: 15 nov. 2024.

YOON, Y. *et al.* Application of O₃ and O₃/H₂O₂ as post-treatment processes for color removal in swine wastewater from a membrane filtration system. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 2801–2805, sept. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1226086X13005650>. Acesso em: 21 nov. 2024.

YOU, G. *et al.* The use of zero-valent iron (ZVI)–microbe technology for wastewater treatment with special attention to the factors influencing performance: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 877–907, aug. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2017.1334457>. Acesso em: 22 nov. 2024.

YU, J. G. *et al.* Graphene nanosheets as novel adsorbents in adsorption, preconcentration and removal of gases, organic compounds and metal ions. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 502, p. 70–79, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896971401256X>. Acesso em: 25 nov. 2024.

YU, Q. *et al.* Enhancing anaerobic digestion of kitchen wastes via combining ethanol-type fermentation with magnetite: Potential for stimulating secretion of extracellular polymeric substances. **Waste Management**, [s. l.], v. 127, p. 10–17, may 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X21002208>. Acesso em: 27 nov. 2024.

YU, Q.; ZHANG, Y. Fouling-resistant biofilter of an anaerobic electrochemical membrane reactor. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–11, oct. 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-12838-7>. Acesso em: 11 jan. 2024.

YUAN, H.; ZHU, N. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 58, p. 429–438, may 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032115016445>. Acesso em: 12 jan. 2024.

YUAN, T. *et al.* Iron oxide alleviates acids stress by facilitating syntrophic metabolism between Syntrophomonas and methanogens. **Chemosphere**, [s. l.], v. 247, may 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653520300576>. Acesso em: 17 jan. 2024.

YUSUF, H. H. *et al.* A novel strategy for enhancing high solid anaerobic digestion of fecal slag and food waste using percolate recirculation and dosage of nano zero-valent iron. **Water Research**, [s. l.], v. 267, apr. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135424013769>. Acesso em: 25 nov. 2024.

ZENG, Y. *et al.* Riboflavin-loaded carbon cloth aids the anaerobic digestion of cow dung by promoting direct interspecies electron transfer. **Environmental Research**, [s. l.], v. 241, nov. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935123024647>. Acesso em: 11 jan. 2025.

ZHANG, C. *et al.* Water-energy-food nexus: Concepts, questions and methodologies. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 195, p. 625–639, sept. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652618315403>. Acesso em: 13 jan. 2025.

ZHANG, G. *et al.* Application of iron oxides modified volcanic rock in continuous phenol wastewater anaerobic treatment: Performance and underlying mechanisms. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 217, nov. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960148123011291>. Acesso em: 13 jan. 2025.

ZHANG, J. *et al.* Effects of graphene oxide on the performance, microbial community dynamics and antibiotic resistance genes reduction during anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, p. 850–859, aug. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417315316>. Acesso em: 12 jan. 2025.

ZHANG, J. *et al.* The bio-chemical cycle of iron and the function induced by ZVI addition in anaerobic digestion: A review. **Water Research**, [s. l.], v. 186, nov. 2020a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135420309404>. Acesso em: 12 jan. 2025.

ZHANG, L. *et al.* Genome-centric metagenomics analysis revealed the metabolic function of abundant microbial communities in thermal hydrolysis-assisted thermophilic anaerobic digesters under propionate stress. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 360, may 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422009038>. Acesso em: 14 jan. 2025.

ZHANG, S. *et al.* Adding activated carbon to the system with added zero-valent iron further improves anaerobic digestion performance by alleviating ammonia inhibition and promoting DIET. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 9, n. 6, dec. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343721015931>. Acesso em: 14 jan. 2025.

ZHANG, T.; TREMBLAY, P. L. Graphene: An Antibacterial Agent or a Promoter of Bacterial Proliferation? **iScience**, [s. l.], v. 23, n. 12, dec. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004220309846>. Acesso em: 15 jan. 2025.

ZHANG, Y. *et al.* A built-in zero valent iron anaerobic reactor to enhance treatment of azo dye wastewater. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 741–746, 2011. Disponível em: <https://iwaponline.com/wst/article-abstract/63/4/741/16187/A-built-in-zero-valent-iron-anaerobic-reactor-to?redirectedFrom=PDF>. Acesso em: 16 jan. 2025.

ZHANG, Y. *et al.* Granular activated carbon stimulated microbial physiological changes for enhanced anaerobic digestion of municipal sewage. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 400, may 2020b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894720319665>. Acesso em: 16 jan. 2025.

ZHAO, J. *et al.* Microbial driving mechanism of soil conditioner on reducing cadmium uptake by rice and improving soil environment. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [s. l.], v. 349, june 2023. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167880923001111>. Acesso em: 17 jan. 2025.

ZHAO, L. *et al.* Feasibility of anaerobic co-digestion of biodegradable plastics with food waste, investigation of microbial diversity and digestate phytotoxicity. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 393, nov. 2024a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852423014578>. Acesso em: 17 jan. 2025.

ZHAO, W. *et al.* Impact of co-substrate molecular weight on methane production potential, microbial community dynamics, and metabolic pathways in waste activated sludge anaerobic co-digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 400, apr. 2024b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242400381X>. Acesso em: 18 jan. 2025.

ZHAO, Z. *et al.* Towards engineering application: Potential mechanism for enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with different types of conductive materials. **Water Research**, [s. l.], v. 115, p. 266–277, may 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135417301665>. Acesso em: 12 jan. 2025.

ZHAO, Z. *et al.* Ferroferric oxide triggered possible direct interspecies electron transfer between Syntrophomonas and Methanosaeta to enhance waste activated sludge anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 250, p. 79–85, feb. 2018a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417319545>. Acesso em: 10 mar. 2024.

ZHAO, Z. *et al.* Comparing the mechanisms of ZVI and Fe₃O₄ for promoting waste-activated sludge digestion. **Water Research**, [s. l.], v. 144, p. 126–133, nov. 2018b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135418305712>. Acesso em: 11 mar. 2024.

ZHAO, Z. *et al.* Sparking Anaerobic Digestion: Promoting Direct Interspecies Electron Transfer to Enhance Methane Production. **iScience**, [s. l.], v. 23, n. 12, dec. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004220309913>. Acesso em: 12 mar. 2024.

ZHENG, S. *et al.* Combined effect of zero valent iron and magnetite on semi-dry anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 346, feb. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421017806>. Acesso em: 13 mar. 2024.

ZHONG, H. *et al.* Application of dissimilatory iron-reducing bacteria for the remediation of soil and water polluted with chlorinated organic compounds: Progress, mechanisms, and directions. **Chemosphere**, [s. l.], v. 352, mar. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653524003989>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ZHOu, L. *et al.* Recent advances in swine wastewater treatment technologies for resource recovery: A comprehensive review. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 924, feb.

2024. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896972401698X>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ZHOU, X.; LIANG, F. Application of Graphene/Graphene Oxide in Biomedicine and Biotechnology. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 855–869, mar. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468519423003774>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ZHU, D. *et al.* Multi-cycle anaerobic digestion of hydrothermal liquefaction aqueous phase: Role of carbon and iron based conductive materials in inhibitory compounds degradation, microbial structure shaping, and interspecies electron transfer regulation. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 454, feb. 2023a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894722054997>. Acesso em: 21 nov. 2024.

ZHU, L. *et al.* Effect of H₂ on reductive transformation of p-CINB in a combined ZVI-anaerobic sludge system. **Water Research**, [s. l.], v. 46, n. 19, p. 6291–6299, dec. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135412006173>. Acesso em: 22 nov. 2024.

ZHU, L. *et al.* Analysis of ZVI corrosion products and their functions in the combined ZVI and anaerobic sludge system. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 21, n. 22, p. 12747–12756, nov. 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-014-3215-y>. Acesso em: 23 nov. 2024.

ZHU, R. *et al.* Understanding the mechanisms behind enhanced anaerobic digestion of corn straw by humic acids. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 359, n. 189, sept. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422007830>. Acesso em: 24 nov. 2024.

ZHU, R. *et al.* Insights into the roles of humic acids in facilitating the anaerobic digestion process. **Waste Management**, [s. l.], v. 168, p. 25–34, june 2023b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X23004166>. Acesso em: 25 nov. 2024.

ZHU, Y. *et al.* Dual roles of zero-valent iron in dry anaerobic digestion: Enhancing interspecies hydrogen transfer and direct interspecies electron transfer. **Waste Management**, [s. l.], v. 118, p. 481–490, dec. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X20305158>. Acesso em: 20 jan. 2024.

ZHURAVLEVA, E. A. *et al.* Enhanced thermophilic high-solids anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste with spatial separation from conductive materials in a single reactor volume. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 363, may 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479724014208>. Acesso em: 20 nov. 2024.