

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TRATAMENTO DE EFLUENTES DA
SUINOCULTURA EM REATORES UASB:
AUTOINOCULAÇÃO, USO DE BIOCHAR E
QUANTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS
RESISTENTES A AMPICILINA**

Gabriela Arkchimor Paes Santos

Médica veterinária

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TRATAMENTO DE EFLUENTES DA
SUINOCULTURA EM REATORES UASB:
AUTOINOCULAÇÃO, USO DE BIOCHAR E
QUANTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS
RESISTENTES A AMPICILINA**

Gabriela Arkchimor Paes Santos

Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Marita Vedovelli Cardozo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2024

S237t

Santos, Gabriela Arkchimor Paes

Tratamento de efluentes da suinocultura em reatores UASB: autoinoculação,
uso de biochar e quantificação de enterobactérias resistentes a ampicilina /
Gabriela Arkchimor Paes Santos. -- Jaboticabal, 2024

91 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Marita Vedovelli Cardozo

1. Tratamento anaeróbio mesofílico. 2. Resistência em microrganismos. 3.
Arquéias metanogênicas. 4. Esterco Suíno. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: TRATAMENTO DE EFLUENTES DA SUINOCULTURA EM REATORES UASB: AUTOINOCULAÇÃO, USO DE BIOCHAR E QUANTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A AMPICILINA

AUTORA: GABRIELA ARKCHIMOR PAES SANTOS

ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

COORIENTADORA: MARITA VEDOVELLI CARDOZO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia e Ciências Exatas / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. LUCIANO DOS SANTOS RODRIGUES (Participação Presencial)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte/MG

Pesquisador Dr. ESTEVÃO URBINATI (Participação Presencial)
CATI - Coordenadoria de Assistência Técnica Integral / Franca/SP

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2024

DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR

Gabriela Arkchimor Paes Santos, nascida em Jundiaí, no Estado de São Paulo, no dia 05 de agosto de 1996. Com formações de nível técnico em Agropecuária, pelo Colégio Agrícola José Bonifácio da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, no período de 2011 a 2013 e em Farmácia, pela ETEC Deputado Salim Sedeh em Leme, SP, no período de 2019 a 2020. Obteve o título de Bacharel em Medicina Veterinária em dezembro de 2020 pela Faculdade Anhanguera de Leme, SP. Em janeiro de 2021 iniciou as atividades no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, em nível de mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, no Laboratório de Saneamento Ambiental do Departamento de Engenharia e Ciências Exatas, atuando na área de tratamento anaeróbio e recuperação de recursos de resíduos orgânicos.

AGRADECIMENTOS

À Deus e a minha família.

Ao Professor Dr. Roberto Alves de Oliveira, à Professora Dra. Rose Maria Duda e a Professora Dra. Marita Vedovelli Cardozo pela oportunidade de realização do curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, pela orientação e acompanhamento durante todo o experimento.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), em particular, o Laboratório de Saneamento Ambiental e o Departamento de Engenharia e Ciências Exatas, disponibilizando recursos e instalações para realizar este trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação; aos professores do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da UNESP – FCAV e aos funcionários do Setor de Engenharia Rural do Departamento de Engenharia e Ciências Exatas.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À FAPESP, processo:2019/19443-6.

A todos pela disposição, paciência e empenho para que esta pesquisa fosse realizada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Página

SUMÁRIO	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivos Gerais	7
2.2 Objetivos Específicos	7
3. REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1 Aspectos gerais da suinocultura	8
3.2 Problemas ambientais dos efluentes da suinocultura	10
3.3 Bactérias resistentes a antimicrobianos nos efluentes da suinocultura	12
3.4 Tratamento anaeróbio de efluentes da suinocultura	16
3.5 Partida de reatores UASB e formação do lodo	25
3.6 Microbiologia dos reatores UASB	32
3.7 Aditivos na digestão anaeróbia: Biochar de eucalipto	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Local	37
4.2 Instalação Experimental	37
4.3 Afluente	39
4.3.1 Adição de Bichar	39
4.4 Descrição da operação do sistema de tratamento	40
4.5 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos não metálicos nos afluentes, efluentes, lodo e biogás: amostragem, frequência e metodologias.	41
4.6 Produção de biogás	42
4.7 Microscopia eletrônica por varredura (MEV)	43
4.8 Quantificação Bacteriana	44
4.9 Biologia molecular	30
4.10 Análise estatística e forma de apresentação dos resultados	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
5.1 Demanda química de oxigênio, Sólidos Suspensos Totais e Voláteis e Produção de biogás	47
5.2 pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais	53
5.3 Macro e micronutrientes	56
5.4 Lodo	61
5.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	63
5.6 Quantificação Bacteriana	65
5.7 Diversidade Microbiana	70
CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79

TRATAMENTO DE EFLUENTES DA SUINOCULTURA EM REATORES UASB: AUTOINOCULAÇÃO, USO DE BIOCHAR, E QUANTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A AMPICILINA

RESUMO – Avaliou-se o desempenho de dois reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) instalados em série, autoinoculados e posteriormente suplementados com biochar, para o tratamento de águas residuárias da suinocultura. Os reatores UASB, em série, foram construídos em escala de bancada, com volumes de 13,7 e 10,6 L, para o primeiro (R1) e segundo (R2), respectivamente. O sistema (R1 + R2) foi operado por 529 dias, divididos em quatro fases, com o aumento gradual das cargas orgânicas volumétrica (COV) e o uso de biochar adicionado ao afluyente na última fase. Os tempos de detenção hidráulica (TDH) foram de 24,0 h no R1 e 18,7 h no R2. As COV médias aplicadas foram de 2, 8, 19 e 21 g DQO_{total} (L d)⁻¹ no R1, durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Nestas condições, o objetivo foi avaliar a produção de metano, a qualidade do efluente e a persistência de enterobactérias resistentes a ampicilina durante a partida e em condições de estabilidade. Verificaram-se variações de pH de 7,4 a 8,0 nos efluentes dos reatores UASB. Os valores das concentrações de ácidos voláteis totais variaram de 57 a 1140 mg L⁻¹ no R1 e 44 a 470 mg L⁻¹ no R2. Foram obtidas eficiências de remoção de DQO_{total} em torno de 80% com o aumento da COV, nas fases 2 a 4. A produção de biogás foi observada no R1 a partir do 91º dia de operação do sistema, o percentual de metano variou de 70 até 79% e a produção volumétrica média aumentou significativamente de 0,21 para 0,66 e alcançou 1,01 e 1,08 L CH₄ (L d)⁻¹, durante as fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Houve a detecção e quantificação de enterobactérias resistentes a ampicilina durante as quatro fases de operação do sistema. Nas fases 1 e 2, somente no lodo do R1 com contagem da ordem de 10⁴ UFC mL⁻¹. Na fase 3, com o aumento mais acentuado da COV, ocorreu a detecção nos efluentes do sistema, com concentração da ordem de 10⁴ UFC mL⁻¹. E na fase 4, com a manutenção de COV e a adição do biochar, permaneceram no afluyente e efluentes; retornaram ao lodo do R1, mas com redução de 1 log 10 UFC mL⁻¹ na contagem, e surgiram no lodo do R2 com contagem da ordem de 10³ UFC mL⁻¹. Portanto, os resultados indicam que a autoinoculação dos reatores UASB foi adequada, ocorrendo a partida num tempo relativamente curto, permitindo a obtenção de altas eficiências de remoção de DQO_{total}, com aumento significativo da produção de metano acompanhando os acréscimos de COV até 20 g DQO_{total} (L d)⁻¹. O uso do biochar não melhorou significativamente o desempenho do sistema. O aumento do tempo de operação, da concentração de DQO_{total} do afluyente e, conseqüentemente, da COV provocaram, inicialmente, a acumulação de enterobactérias resistentes a ampicilina no lodo e, posteriormente, o seu arraste com os efluentes dos reatores, indicando a necessidade de medidas adicionais para o controle da disseminação de bactérias resistentes a antibióticos a partir de efluentes da suinocultura.

Palavras-chave: biogás, digestão anaeróbia, metano, resistência a antibiótico.

SWINE WASTEWATER TREATMENT IN UASB REACTORS: SELF-INOCULATION, USE OF BIOCHAR, AND QUANTIFICATION OF AMPICILLIN-RESISTANT ENTEROBACTERIA

ABSTRACT – The performance of two anaerobic upflow reactors with sludge blanket (UASB) installed in series, autoinoculated and subsequently supplemented with biochar, for the treatment of wastewater from pig farming was evaluated. The UASB reactors, in series, were built on a bench scale, with volumes of 13.7 and 10.6 L, for the first (R1) and second (R2), respectively. The system (R1 + R2) was operated for 529 days, divided into four phases, with a gradual increase in volumetric organic loads (VOC) and the use of biochar added to the influent in the last phase. The hydraulic detention times (TDH) were 24.0 h in R1 and 18.7 h in R2. The average COV applied were 2, 8, 19 and 21 g COD_{total} (L d)⁻¹ in R1, during phases 1, 2, 3 and 4 respectively. Under these conditions, the objective was to evaluate methane production, effluent quality and the quantity of ampicillin-resistant enterobacteria during startup and in stable conditions. There were pH variations of 7.4 to 8.0 in the effluents from the UASB reactors. The values of total volatile acid concentrations were 57 to 1140 mg L⁻¹ in R1 and 44 to 470 mg L⁻¹ in R2. Total COD removal efficiencies of around 80% were obtained with the increase in VOC, in phases 2 to 4. Biogas production was observed in R1 from the 91st day of system operation, the percentage of methane varied from 70 to 79% and the volumetric production increased significantly from 0.21 to 0.66 and reached 1.01 and 1.08 L CH₄ (L d)⁻¹, during phases 1, 2, 3 and 4, respectively. Enterobacteriaceae resistant to ampicillin were detected and quantified during the four phases of the system's operation. In phases 1 and 2, only in R1 sludge with a count of around 10⁴ UFC mL⁻¹. In phase 3, with the most pronounced increase in VOC, detection occurred in the system's influent and effluents, with a concentration of around 10⁴ CFU mL⁻¹. And in phase 4, with the maintenance of VOC and the addition of biochar, they remained in the influent and effluents; they returned to the R1 sludge, but with a reduction of 1 log 10 CFU mL⁻¹ in the count, and appeared in the R2 sludge with a count of the order of 10³ CFU mL⁻¹. Therefore, the results indicate that the autoinoculation of the UASB reactors was adequate, with startup taking place in a relatively short time, allowing high COD removal efficiencies to be obtained, with a significant increase in methane production accompanying the additions of VOC up to 20 g COD total (L d)⁻¹. The use of biochar did not significantly improve system performance. The increase in operating time, total COD concentration of the influent and, consequently, VOC initially caused the accumulation of ampicillin-resistant enterobacteria in the sludge and, subsequently, their dragging with the reactor effluents, indicating the need for measures additional measures to control the spread of antibiotic-resistant bacteria from swine effluents.

Keywords: antibiotic resistant bacteria, anaerobic digestion, biogas, methane.

LISTA DE ABREVIATURAS

ARG - Genes resistentes a antibióticos

Al - Alcalinidade intermediária

AP - Alcalinidade parcial

AT - Alcalinidade total

AVT - Ácidos voláteis totais

AGV - Ácidos graxos voláteis

COD - Chemical oxygen demand

COV - Carga orgânica volumétrica

DA - Digestão anaeróbia

DQO - Demanda química de oxigênio

N-am - Nitrogênio amoniacal

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

P-total - Fósforo total

PEM - Produção específica de metano

pH - Potencial hidrogeniônico

PMV - Produção volumétrica de metano

SST - Sólidos suspensos totais

SSV – Sólidos suspensos voláteis

ST - Sólidos totais

SV - Sólidos voláteis

TDH - Tempo de detenção hidráulica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produção média diária de dejetos (kg) por animal por fase.	11
Tabela 2. Características físicas e químicas (em mg L ⁻¹ , exceto o pH) de dejetos brutos de suínos na fase de terminação.....	11
Tabela 3. Período de operação do sistema composto pelos reatores UASB em série e fases de operação.....	40
Tabela 4. Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos realizados no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores anaeróbios R1 e R2.	42
Tabela 5. Valores médios de COV, DQO _{total} , DQO _{diss} , e relação SSV/SST do afluente e do efluente do sistema de tratamento anaeróbio, em dois estágios (R1 e R2), durante as fases 1; 2; 3 e 4.	47
Tabela 6. Tabela de parâmetros operacionais de pesquisas com reatores anaeróbios tratando águas residuárias da suinocultura.	49
Tabela 7. Valores médios de porcentagem de metano; produção volumétrica de metano; produção específica de metano e energia produzida no reator R1 durante as fases 1; 2; 3 e 4.....	50
Tabela 8. Valores médios de remoção de DQO _{total} , DQO _{diss} , SST e SSV do sistema de tratamento anaeróbio, em dois estágios (R1 e R2), nas fases 1; 2; 3 e 4.	53
Tabela 9. Valores médios de pH, alcalinidade parcial (AP), intermediária (AI) e total (AT); relação AI/AP; ácidos voláteis totais (AVT) e relação AVT/AT, durante as fases 1; 2; 3 e 4 no afluente, R1 e R2.....	54
Tabela 10. Valores médios de NTK e N-am. no afluente, R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.	57
Tabela 11. Valores médios de P-total (Fósforo total) e ortofosfato, nos reatores R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.	58
Tabela 12. Valores médios das concentrações (em mg L ⁻¹) e coeficientes de variação (C.V.) de Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, K, Na, Zn e Ca durante as fases 1, 2 e 3 no afluente, e efluentes dos reatores R1 e R2.	60

Tabela 13. Valores médios de Sólidos Totais (ST) e Sólidos Voláteis (SV) Sólidos Fixos (SF) (valores em gL^{-1}) e relação SV/ST nos reatores durante as fases 1, 2, 3 e 4, nos pontos 1, 2, 3 e 4 dos reatores R1 e R2...	62
Tabela 14. Médias da população de enterobactérias controle e resistentes à diversas concentrações de ampicilina (AMP) nos afluentes, efluentes e lodo dos reatores UASB tratando águas residuárias de suinocultura nas fases 1 a 4.....	67
Tabela 15. Médias da população de enterobactérias controle e resistentes à diversas concentrações de ampicilina (AMP) nos afluentes, efluentes e lodo dos reatores UASB tratando águas residuárias de suinocultura nas fases 1 a 4.	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema ilustrado representando as fases da digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa. Fonte: CASSINI et al. (2014).	19
Figura 2. Desenho esquemático de um reator UASB.	23
Figura 3. Representação esquemática do sistema de tratamento composto por reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), em série (R1 e R2). P1, P2, P3 e P4: pontos de coleta de lodo.	38
Figura 4. Foto dos reatores R1 e R2 dentro da cabine de aquecimento para controle da temperatura a 35°C: 1- tanque do afluente, 2 – reator UASB (R1), 3 – reator UASB (R2), 4 – tanque de efluente, 5 – gasômetro; 6 – selo hidráulico e 7 – sistema de aquecimento.	38
Figura 5. Valores de carga orgânica volumétrica (COV); demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e produção volumétrica de metano (PVM).	49
Figura 6. Valores de pH, alcalinidade parcial (AP), intermediária (AI), total (AT), relação AI/ AP e Ácidos voláteis totais (AVT) no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores anaeróbios R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.	57
Figura 7. Aspecto macroscópico do lodo anaeróbio do reator R1, durante a fase 4.	64
Figura 8. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do lodo durante a fase 4.	64
Figura 9. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MVE) do Biochar de eucalipto utilizado no experimento.	65
Figura 10. Abundância relativa (%) dos filamentos de Bactérias e arqueias no Reator 1 (R1), durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.	72
Figura 11. Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias identificadas no reator 1 (R1) durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.	73

Figura 12. Abundância relativa (%) dos gêneros de arqueias identificadas no reator 1 (R1) durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.....	74
---	----

1 INTRODUÇÃO

A indústria pecuária contribui significativamente para a segurança alimentar global, fornecendo às pessoas aproximadamente 39% da sua proteína e 18% da sua ingestão calórica. Entre as proteínas de origem animal, a carne suína é um dos tipos de carne mais consumidos globalmente e representa a maior parcela da carne produzida na Europa e na Ásia (GISLASON et al., 2023).

Em números totais, é estimado que a produção de carne suína, cresça 9,3% até o ano de 2028 (TZANIDAKIS et al., 2021). Nesse sentido, são consumidas aproximadamente 100 milhões de toneladas dessa proteína por ano (DINNEBIER et al., 2021). O Brasil, está no 4º lugar do ranking mundial na produção de suínos, sendo um importante exportador. Em 2022, o montante nacional chegou a 44.393.930 cabeças. O abate de suínos somou 14,62 milhões de cabeças no 3º trimestre de 2023 (IBGE, 2023). De acordo com a ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal) as projeções para a produção de carne suína para o ano de 2024 é de 1% de aumento em relação ao ano anterior, a produção é estimada em até 5,15 milhões de toneladas. Além disso, a estimativa é que o consumo da carne suína per capita, irá se manter em cerca de 18 quilos por habitante (ABPA, 2023).

A suinocultura é uma atividade de grande importância econômica. A produção desses animais em granjas comerciais é relativamente rápida, geralmente, a produção de suínos é dividida em três fases: fase de creche, na qual os suínos permanecem em média 42 dias; fase de crescimento, onde eles ficam de 63 a 110 dias de vida e a fase de terminação que inicia aos 110 dias de vida, até o abate. Após o crescimento, os suínos atingem a massa corporal média de 70 kg e ao final da fase de terminação, devem chegar entre 100 e 120 kg. A suinocultura atual trabalha, em geral, de modo completamente confinado (ABCS, 2011).

O sistema de produção de suínos pode ser realizado de maneira extensiva, semi-extensiva e intensiva. Os sistemas intensivos utilizam tecnologias modernas e potencializam a produção animal. Dessa forma, o sistema intensivo de criação de suínos é predominante. Uma vez que, a intensificação da produção tem otimizado as pequenas áreas para a criação animal. Porém, a transição do sistema extensivo de criação para o intensivo induziu grandes mudanças (TZANIDAKIS et al., 2021).

Os sistemas intensivos com alta densidade animal causam muitos problemas ambientais, sendo que os mais desafiadores estão associados ao aumento substancial e a elevada concentração da produção de dejetos (XU; ADAIR; DESHUSSES, 2016). Além do impacto ambiental, o manejo inadequado dos dejetos de suínos pode causar odores, proliferação de insetos transmissores de doenças, além de problemas sanitários, em virtude da contaminação da água e do solo (SECCO et al., 2020).

Dessa forma, conforme a produção de suínos aumenta, a geração de efluentes da suinocultura continuará sendo elevada. Nas granjas produtoras de suínos, são produzidas grandes quantidades de águas residuárias, as quais são compostas pela urina, fezes, água de lavagem e alimentos (DINNEBIER et al., 2021). Elevado número desses animais estão em confinamentos com o manejo dos dejetos com uso intensivo de água. Nessas condições, o volume de água residual suína é de aproximadamente 7 a 15 L (suíno d) $^{-1}$ com DQO de 25 a 50 g L $^{-1}$ (DUDA et al., 2015). Esses valores são diretamente influenciados pela fase de criação animal. A quantidade de poluentes nas águas residuárias da suinocultura tem grandes variações, principalmente devido a quantidade de água utilizada durante a limpeza das instalações.

As águas residuárias da suinocultura, são caracterizadas por possuírem altas concentrações de matéria orgânica, coliformes termotolerantes, nitrogênio e fósforo (CHENG et al., 2018). Diante desses aspectos, o tratamento dos efluentes da suinocultura são de extrema importância ambiental e sanitária. Assim, o tratamento desses efluentes por meio da digestão anaeróbia, é uma solução de baixo custo e eficaz para águas residuárias com elevadas cargas orgânicas, como as provenientes da suinocultura (DUDA; OLIVEIRA, 2011).

Entre as alternativas de tratamento de efluentes da pecuária, a digestão anaeróbia apresenta elevada eficácia na redução dos poluentes biodegradáveis complexos, além da produção satisfatória de bioenergia. Neste contexto, a digestão anaeróbia é uma tecnologia com alto potencial na estabilização de águas residuárias com altas cargas poluentes, como os efluentes da suinocultura. A digestão anaeróbia é mediada por comunidades microbianas complexas, as quais degradam a matéria orgânica e como produto, tem-se biofertilizantes e o biogás. Esse processo biológico, garante recuperação energética, além de custo-benefício e menor produção de lodo. Não necessitando de elevados gastos energéticos, como também garante o controle

de odores e adequada remoção de matéria orgânica, quando o sistema é operado em estabilidade (LOURINHO et al., 2020).

O biogás oriundo da digestão anaeróbia é uma fonte de energia renovável. O biogás é composto de CH₄ (55 – 65%), CO₂ (35 – 45%), N₂ (0 – 3%) e H₂S (0 – 1%). Estudos sugerem que o uso do biogás gerado pela digestão anaeróbia reduz a liberação de gases de efeito estufa gerados pelo armazenamento e pela fermentação (WANG et al., 2023).

Além disso, na suinocultura, os antibióticos são utilizados para prevenir e tratar doenças, promover o crescimento e melhorar a produtividade animal. Os metabólitos desses fármacos são excretados nas fezes e na urina, sendo frequente a detecção de produtos farmacêuticos em várias matrizes ambientais, como em águas superficiais, subterrâneas, solos e sedimentos. Os antibióticos podem afetar organismos terrestres e aquáticos, além da possibilidade de levar ao desenvolvimento de cepas de microrganismos resistentes (WATANABE et al., 2010).

A maioria de cepas multirresistentes, pertence a bactérias condicionalmente patogênicas, das quais as bactérias Gram-negativas representam 71%, e as Enterobacteriaceae representam mais de 53%. E tem-se evidenciado cada vez mais cepas multirresistentes em Enterobacteriaceae (ZHENG et al., 2024). A família Enterobacteriaceae possui 53 gêneros, sendo que 26 desses já foram associados a infecções bacterianas em humanos (SANTOS et al., 2020).

As bactérias de maior prioridade para a prevenção de resistência aos antibióticos, listadas como críticas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), incluem *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobacteriaceae. Entre as Enterobacteriaceae, a *Escherichia coli* tem a maior probabilidade de transmissão animal-humano. Cepas patogênicas de *E. coli* colonizam o intestino de humanos e animais, além de ser onipresente no solo, nas plantas, nos vegetais e na água. Devido a isso, a *E. coli* é frequentemente escolhida como organismo sentinela para estudos relacionados a resistência aos antibióticos (ROUSHAM et al., 2018).

O uso de antimicrobianos na pecuária, contribui fortemente para a seleção e transmissão de bactérias resistentes. É evidente que o uso indiscriminado de antibióticos leva à disseminação de multirresistência entre cepas de bactérias patogênicas (GAWROŃSKA et al., 2022). A principal ameaça da presença de antibióticos no ambiente é o desenvolvimento e proliferação de genes de

resistência a antibióticos (ARG) e bactérias resistentes a antibióticos (ARB) (AZIZ et al., 2022).

A digestão anaeróbia é amplamente utilizada no tratamento de dejetos animais. Esse material digerido pode ser utilizado como adubo orgânico ou fertilizante (TIAN et al., 2021). E ainda, esse processo biológico utiliza a energia incorporada em compostos orgânicos para produzir o biogás (NAG et al., 2019).

Neste contexto, os reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) são considerados adequados e muito competitivos em virtude da produção de efluentes de alta qualidade, pouco consumo de energia, produção reduzida de lodo e produção de biogás com maiores teores de metano. Os reatores UASB representam um grande avanço na tecnologia para o tratamento secundário de águas residuárias. Tendo ainda como vantagem, serem compactos, não necessitando de grandes áreas para sua implantação (RAMIRES; OLIVEIRA, 2014). Embora o custo da implantação do reator UASB seja elevado, a recuperação do biogás torna a tecnologia econômica a longo prazo. Como também no tratamento de esgoto em regiões tropicais e subtropicais. Estudos mostram o potencial positivo do reator UASB na remoção de elementos potencialmente tóxicos e outros poluentes particulados. O tempo de retenção do lodo dentro dos reatores é maior, fazendo com que a eliminação do excesso deste seja feita com menor frequência, do que em tratamentos aeróbios. As cargas orgânicas aplicadas no reator podem ser elevadas, em razão da capacidade do reator em reter biomassa ativa (MOHAN & SWATHI, 2021).

E ainda, os sistemas de tratamento anaeróbio em duas fases, podem aumentar as remoções de sólidos em suspensão, nutrientes, metais, e bactérias coliformes (URBINATI; OLIVEIRA, 2014).

A principal justificativa para o uso de sistemas anaeróbios de tratamento de dois ou múltiplos estágios, são as diferenças das condições ambientais nas quais as bactérias são mais eficientes (KAMYAB & ZILOUEI, 2021). A digestão anaeróbia em dois estágios possui muitos benefícios, como por exemplo, a seleção e enriquecimento de distintos microrganismos funcionais, redução do efeito da variação de pH, maior eficiência de degradação e melhor produção líquida de energia quando comparada com um único reator (CHENG et al., 2016).

No entanto, para adequado funcionamento desses sistemas anaeróbios, é

necessário realizar uma partida (start-up) adequado dos reatores. Esse período transitório inicial, é marcado por instabilidades operacionais, sendo comum ocorrerem distúrbios no reator, ocasionando baixo desempenho, e reduzindo a eficiência na remoção de matéria orgânica (LECLERC et al., 2001) e a produção de metano.

Um dos maiores problemas da partida consiste na adaptação da população microbiana do lodo ao efluente. Assim, a operação de um reator somente se torna eficiente quando a biomassa está estabilizada. A partida de um reator UASB sem a utilização de inóculo pode demorar de 4 a 6 meses, dessa forma, é fundamental iniciar a alimentação dos reatores com cargas orgânicas reduzidas, e gradualmente elevá-la até a carga orgânica final (CHERNICHARO 1997).

A partida do reator UASB é o intervalo de tempo para alcançar uma operação estável em condições contínuas. Nesse período, a biomassa se ajusta às condições ambientais específicas, propiciando o desenvolvimento dos grânulos. O objetivo ao iniciar o reator anaeróbio de alta taxa é assegurar uma elevada concentração de biomassa ativa dentro do sistema. O reator UASB pode ser iniciado utilizando-se lodo granular e não granular. O tempo de inicialização do reator quando se faz uso de lodo não granular na inoculação, é aproximadamente 40% maior do que o tempo de adaptação de reatores inoculados com lodo granulado (MOHAN & SWATHI, 2021).

A inicialização de reatores anaeróbios tem grande importância no funcionamento dos digestores, uma vez que esse período afeta diretamente as comunidades microbianas envolvidas no tratamento de águas residuárias. A partida de reatores, é conhecida por envolver processos complexos e uma série de fatores que influenciam o tratamento anaeróbio, incluindo as características das águas residuárias, período de aclimação do lodo, presença de nutrientes e componentes tóxicos, pH, demanda química de oxigênio, carga orgânica aplicada e velocidade de fluxo ascendente. Portanto, os reatores anaeróbios de alta taxa devem ser iniciados aumentando gradualmente a carga orgânica volumétrica, afim de evitar o acúmulo de ácidos graxos voláteis e a diminuição do pH. Desse modo, as águas residuárias com elevadas concentrações de DQO, podem ser diluídas até valores aceitáveis, com o uso de águas residuais municipais, no processo de partida dos reatores (LIU et al., 2020). Iniciar o reator sem inóculo garante independência da propriedade onde será instalado o projeto

de reatores, sem a necessidade de coleta desse material de outros locais. Como também pode garantir maior segurança ambiental e sanitária em relação a possíveis contaminantes presentes nesse material.

Na busca por alternativas de melhorias nos tratamentos de águas residuárias, é possível destacar as propriedades do biochar. O biochar é uma substância granular sólida, produzida pela pirólise e carbonização da biomassa em condições anaeróbias. Possui vantagem econômica em relação ao carvão ativado tradicional, devido ao uso frequente de biomassa residual como matéria-prima. No entanto, suas propriedades e capacidade de adsorção são distintas devido às diferenças nas matérias-primas e aos processos utilizados. A adição de biochar em sistemas de tratamento anaeróbio, pode melhorar a capacidade tampão, garantir a estabilidade do sistema, melhorando a eficiência do tratamento. Além disso, os oligoelementos metálicos atuam na atividade das enzimas microbianas, estimulando o crescimento microbiano, influenciando a distribuição das comunidades, afetando os processos de produção de metano (SU et al., 2021).

Além disso, o biochar quando utilizado como carreador ou corretivo para alterar as propriedades de diferentes sistemas ambientais, promove a remoção de alguns poluentes. O biochar pode afetar as propriedades ambientais e/ou interagir com os genes de bactérias resistentes à antimicrobianos para controlar a proliferação e disseminação desses. As diversas funções e efeitos do biochar na mitigação de poluentes, proporcionam inúmeras possibilidades de aplicação desse em variados contextos de governança ambiental (SHAO et al., 2022).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo principal foi realizar a digestão anaeróbia de efluentes da suinocultura em dois reatores UASB, em série, autoinoculados e, posteriormente, suplementados com biochar, para avaliar a produção de metano, a qualidade do efluente e a quantidade de enterobactérias resistentes a ampicilina.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito do aumento das cargas orgânicas volumétricas (COV) no desempenho (produção de metano e remoção de material orgânico e nutrientes) de dois reatores UASB em série, autoinoculados, para o tratamento de águas residuárias de suinocultura.

Avaliar a remoção de bactérias resistentes a antibióticos de águas residuárias da suinocultura, por meio da detecção e quantificação de enterobactérias resistentes a ampicilina.

Avaliar a aplicação do biochar com o afluente no desempenho de dois reatores UASB, autoinoculados, sob COV de 20 g DQO (L d)⁻¹.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da suinocultura

Em números totais, é estimado que a produção de carne suína, cresça 9,3% até o ano de 2028 (TZANIDAKIS et al., 2021). De acordo com a ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal) as projeções para a produção de carne suína para o ano de 2024 é de 1% de aumento em relação ao ano anterior, a produção é estimada em até 5,15 milhões de toneladas. Além disso, a estimativa é que o consumo da carne suína per capita, se mantenha em cerca de 18 quilos por habitante (ABPA, 2023). Aproximadamente 1,4 bilhão de suínos são produzidos a cada ano para abastecer à elevada demanda (ZHAO et al., 2024).

Em relação a produção de carne suína, a China lidera o ranking de produção (43,87%), seguida da União Europeia e Reino Unido (22,62%) em terceiro lugar está os Estados Unidos (11,97%). O Brasil ocupa a quarta posição no ranking de produção de carne suína no mundo, com 3,88% da produção global. O abate de suínos em 2023 foi de 56,8 milhões de cabeças, aumento de 1,5% em comparação ao ano de 2022 (FAS USDA, 2023).

O rebanho suíno brasileiro, em 2021, era de 42.538.652 cabeças. No ano de 2022, 14.453.047 animais foram abatidos sob inspeção sanitária em frigoríficos e matadouros, com peso total de carcaças de 1.333.458.605 kg (IBGE, 2022).

Neste cenário, o Brasil é um importante exportador de carne suína e os valores de carne suína *in natura* em outubro/2022 totalizaram pouco mais de 90 mil toneladas. No acumulado, o déficit de embarques foi de apenas 4,4% em relação ao período de janeiro a outubro/2021 (ABCS, 2022).

A China é a maior produtora da carne suína em nível mundial e também a maior importadora do produto; contudo, no ano de 2022, reduziu em 55% as suas importações totais de carne suína, porém o Brasil reduziu somente 20% dos embarques para o país (ABCS, 2022).

No panorama geral, no ano de 2022, o crescimento da produção ficou em torno de 6% em relação a 2021, já as exportações mantiveram volumes similares

e com um novo recorde de consumo per capita ano de carne suína no Brasil, superando a marca dos 19 kg por habitante/ano (ABCS, 2022).

Para atender esta situação, no Brasil a produção intensiva é a mais amplamente utilizada na suinocultura comercial. Podendo as granjas trabalharem com o ciclo completo de produção, a qual contempla todas as etapas, desde a aquisição do material genético até a entrega dos suínos de abate na plataforma do frigorífico. Como também por meio de sistemas de produção que executam apenas partes das etapas, como a Unidade de Produção de Leitões (UPL), que produz leitões até a saída da creche, e a Unidade de Terminação (UT), que recebe os leitões de uma UPL e executa as fases de crescimento e de terminação, e sistemas ainda mais especializados, como são os crechários (sistemas especializados para criação dos leitões) (EMBRAPA, 2006).

O sistema intensivo e confinado para produção de suínos de forma comercial é predominante também nos Estados Unidos e na China. A maioria das novas instalações para suínos tem pisos de ripas que permitem a coleta de dejetos. Métodos adicionais de remoção de dejetos em instalações suínas incluem calhas e sistemas de raspagem, além do uso intensivo de água sob pressão (VARMA et al., 2021).

A produção de suínos em sistemas intensivos é uma das atividades pecuárias com maior uso de antimicrobianos. Em relação a produção animal, a vida útil dos suínos de engorda comerciais é em torno de seis a sete meses e abrange diferentes fases de produção (do nascimento ao desmame; pós-desmame e fase de crescimento; e período de terminação) com diversas necessidades de uso de antimicrobianos (MORENO, 2013).

As principais instalações na suinocultura comercial, são granjas de alvenaria, com sistemas de climatização adequada para cada fase da criação. A otimização do espaço, está intensificando a produção animal, alocando cada vez mais animais em espaços menores. Nesse sentido, normas que regulamentam o bem-estar animal estão em vigor no Brasil. Na produção de suínos destaca-se a Instrução Normativa nº 113 de 2020, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária, que estabelece as boas práticas de manejo e bem-estar animal nas granjas de suínos de criação comercial (BRASIL, 2020).

No entanto, além das questões de bem-estar animal, a relação da produção animal com o meio ambiente também é um ponto crítico, que vem sendo observado há décadas. As águas residuárias da suinocultura, provenientes da lavagem das instalações, a qual dilui os dejetos, urina e restos de alimentos, possuem altas concentrações de sólidos suspensos, matéria orgânica, nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo), coliformes e vários compostos tóxicos, como metais pesados, antibióticos e hormônios, que podem causar sérios problemas ambientais e de saúde pública. Nesse sentido, a procura por alternativas de tratamentos adequado para esses efluentes é fundamental (CHENG et al., 2020).

3.2 Problemas ambientais causados pelos efluentes da suinocultura

Observa-se, como consequência da elevada produção animal, generalizada poluição hídrica em virtude, principalmente, da alta carga orgânica e da presença de coliformes termotolerantes provenientes dos dejetos, que somada aos problemas de efluentes domésticos e industriais, tem causado sérios problemas ambientais. Além disso, medicamentos veterinários e elementos potencialmente tóxicos, podem ser encontrados com frequência nos resíduos da suinocultura, o que dificulta o adequado tratamento desse efluente em sistemas convencionais (ROMERO et al., 2020).

Vários fatores influenciam o volume de dejetos produzidos, tais como o manejo, tipo de bebedouro, sistema de higienização adotado (frequência e volume de água utilizada), bem como, o número e categoria de animais (Tabela 1). No Brasil, na maioria das granjas realizam a limpeza das baias com lavadora de alta pressão como medida sanitária para controle de vetores que põem ovos em material orgânico remanescente (MORETTI et al., 2020). Na Tabela 2, são apresentados valores médios da composição físico-química dos dejetos de suínos.

Tabela 1. Produção média diária de dejetos (kg) por animal por fase.

Categoria de suínos	Dejeto suíno	
	BEZERRA (2002)	VARMA et al. (2021)
25 - 100 kg	2,3	4,3
Porcas em gestação	3,6	3,4
Porcas em lactação	6,4	10,2
Machos	3	3,3
Leitão desmamado	0,35	1,2
Média	2,35	4,4

Fonte: Adaptado, BEZERRA (2002); VARMA et al. (2021).

Tabela 2. Características físicas e químicas (em mg L⁻¹, exceto o pH) de dejetos brutos de suínos na fase de terminação.

Parâmetros	Média	
	BEZERRA (2002)	MORETTI et al. (2020)
pH	7,75	5,9
DBO	10.250	13.187
DQO	25.625	54.500
Sólidos Totais	22.399	43.559.8
Sólidos Voláteis	16.389	32.235
Sólidos Fixos	6.010	11.324
Nitrogênio Kjeldahl	2.374	1.670
Fósforo total	578	415

Fonte: Adaptado, BEZERRA (2002); MORETTI et al. (2020).

De acordo com CHEN et al. (2019), as concentrações normalmente encontradas desses poluentes nas águas residuárias de suínos são: 2.000 a 30.000 mg L⁻¹ de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), 200 a 2.055 mg L⁻¹ de nitrogênio total, 110 a 1.650 mg L⁻¹ de N-amoniaco, e 100 a 620 mg L⁻¹ de fósforo total. Os dejetos suínos são frequentemente coletados com água de lavagem das instalações, resultando em um baixo teor de Sólidos Totais (ST <10%), no entanto esses valores sofrem grandes variações, SONG et al. (2023) apresentam valores para alguns parâmetros das águas residuária da suinocultura: ST entre 5 – 25%; relação C/N de 10 – 20 %; tempo de detenção hidráulica recomendado para operação estável de 20 – 40 dias; potencial de rendimento de metano entre 0,20 – 0,35 g L⁻¹ SV; Teor de CH₄ do Biogás produzido de 30 a 70%.

Conforme descrito, também estão presentes nos efluentes da suinocultura cobre, zinco e antibióticos, em virtude do uso na alimentação e no manejo sanitário dos animais, o que leva a excreção desses produtos nos dejetos (CHEN et al., 2017).

A suinocultura é considerada a segunda maior contribuinte para as emissões de gases de efeito estufa (GEE) do setor pecuário, com cerca de 13% das emissões totais da produção animal. As emissões de CO₂ dos suínos provêm de duas fontes: exalação pelos suínos e os dejetos. Em relação as emissões de metano, essas têm origem na degradação anaeróbia da matéria orgânica dos dejetos realizada por bactérias e arqueas no trato digestivo dos suínos e nos dejetos (PHILIPPE & NICKS, 2015).

3.3 Bactérias resistentes a antimicrobianos nos efluentes da suinocultura

O uso de antimicrobianos na pecuária tem um papel fundamental na sanidade animal. Entretanto a utilização indiscriminada desses fármacos está sendo associada a seleção e disseminação de bactérias resistentes (MICHELON et al., 2021).

A resistência antimicrobiana é uma preocupação crescente de saúde pública global e um risco ambiental considerável. Os genes de resistência são contaminantes emergentes, os quais precisam ser monitorados e mitigados (LI et al., 2019).

Nesse sentido, é notável que a suinocultura é uma atividade com potencial para a disseminação de genes de resistência a antimicrobianos, em razão do uso generalizado de antibióticos, elementos potencialmente tóxicos e biocidas nas rações (LI et al., 2022).

Na pecuária, os antibióticos são utilizados para prevenir e tratar doenças, promover o crescimento e melhorar a produtividade animal. Os metabólitos desses fármacos são excretados nas fezes e na urina, sendo frequente a detecção desses em várias matrizes ambientais, como em águas superficiais, subterrâneas, solos e sedimentos. Os antibióticos podem afetar organismos terrestres e aquáticos, além da possibilidade de levar ao desenvolvimento de cepas de microrganismos resistentes (WATANABE et al., 2010).

A utilização de antimicrobianos de forma intensiva na pecuária, tem grande repercussão ambiental. Os antibióticos podem atingir diretamente o

ambiente por meio dos dejetos de animais em pastejo ou, então, podem ser indiretamente disseminados ao ambiente pela aplicação de dejetos animais no solo. Os antimicrobianos mais utilizados na produção de suínos e bovinos a nível mundial são: beta-lactâmicos (ex.: penicilinas), macrólidos (ex.: eritromicina e tilosina); sulfonamidas (ex.: sulfadimidina e sulfametoxazol), trimetoprima, tetraciclina (ex.: clortetraciclina, doxiciclina, oxitetraciclina e tetraciclina) e a monensina. Normalmente, as concentrações de antibióticos nos dejetos de animais de produção estão entre 1 a 10 mg/kg⁻¹ ou L⁻¹, mas podem atingir níveis ≥ 200 mg/kg⁻¹ ou L⁻¹ (MASSÉ et al., 2014).

A utilização de antibióticos em suínos é complexa e está associada a fatores inter-relacionados a saúde animal, bem-estar animal e economia. O consumo de antimicrobianos na suinocultura é mais elevado quando comparado a outras espécies de animais de produção. Estima-se que 70% do consumo de antibióticos na Europa é direcionado para a produção animal. Alguns dos antibióticos rotineiramente utilizados em animais, são classificados como Antimicrobianos Criticamente Importantes (CIA) para o tratamento de infecções em seres humanos. A Classificação de Importância dos Agentes Antimicrobianos (CIA) da Organização Mundial da Saúde (OMS) divide os antimicrobianos em três categorias: importantes, altamente importantes e criticamente importantes. A categoria "criticamente importante" é subdividida em "alta prioridade" (aminoglicosídeos, aminopenicilinas e carbapenêmicos) e "maior prioridade" (cefalosporinas de terceira, quarta e quinta geração, glicopeptídeos, macrólidos, polimixina ou colistina e quinolonas). Essa classificação tem o intuito de orientar o uso responsável de antimicrobianos para evitar o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos (LEKAGUL et al., 2020).

O relatório da Vigilância Europeia do Consumo de Antimicrobianos Veterinários, relata que as vendas de agentes antimicrobianos veterinários na União Europeia em 2017, mostrou que as penicilinas e as tetraciclina foram as classes de antimicrobianos mais frequentemente vendidas na Itália, o que vai de encontro com resultados de uma pesquisa realizada entre 2015 a 2017 em 36 propriedades de produção de suínos de engorda no norte da Itália, onde as penicilinas, tetraciclina e lincosamidas representaram, respectivamente, 22 – 31%, 19 – 24% e 19 – 24% do total de antimicrobianos administrados nas propriedades amostradas, representando as classes de medicamentos mais frequentemente utilizadas na produção de suínos (TARAKDIJIAN et al., 2020).

Os sistemas intensivos de produção de suínos, predispõe os animais a contraírem patógenos ambientais, como também, as elevadas densidades populacionais favorecem na propagação de doenças respiratórias e entéricas. Dessa forma, esses fatores contribuem para o uso de antibióticos para controlar e prevenir surtos infecciosos nas suinoculturas. Nesse sentido, em um inquérito sobre os rebanhos suínos na Alemanha, os autores identificaram que porcos com expectativa de 200 dias de vida receberam antimicrobianos durante 48,5 dias. Já um estudo brasileiro identificou que os suínos receberam em média 7 antibióticos com princípios ativos diferentes durante 73,7% de sua vida (ALBERNAZ-GONÇALVES et al., 2022).

A principal ameaça da presença de antibióticos no ambiente é o desenvolvimento e proliferação de genes de resistência a antibióticos e bactérias resistentes a antibióticos (AZIZ et al., 2022). Nesse sentido, os efeitos adversos dessa ocorrência, incluem sofrimento humano, doenças e morte. Pode aumentar o custo geral e resultar em atrasos no tratamento e na incapacidade de curar infecções. A evolução e a disseminação de organismos multirresistentes aceleraram dramaticamente nos últimos 50 anos, possivelmente em razão do uso mais difundido de antibacterianos (FRIEDMAN; TEMKIN; CARMELI, 2016). Já pode ser considerada uma ameaça global e a Organização das Nações Unidas (ONU) estima que até 2050 aproximadamente 10 milhões de pessoas podem morrer anualmente de infecções causadas por superbactérias (MONITCHELE, 2023).

Aproximadamente 66.667 toneladas de antibióticos são atualmente usadas na pecuária em todo o mundo a cada ano. A poluição generalizada com resíduos de antibióticos através da aplicação terrestre de dejetos animais não tratado é cada vez mais percebida como um problema. Isso é atribuído principalmente à atividade antibacteriana que pode afetar a estrutura e a função das comunidades microbianas dos solos (MENZ et al., 2019).

O aumento da resistência antimicrobiana em patógenos humanos e animais é uma preocupação global e seu controle é um dos objetivos da saúde pública. Bactérias portadoras de genes resistentes de animais podem ser transmitidas aos humanos por contato direto através da cadeia alimentar ou indiretamente através do meio ambiente (PISSETTI et al., 2021).

Vários países proibiram o uso de antimicrobianos para a promoção do crescimento de animais para alimentação e eliminaram ou reduziram o uso

daqueles classificados como antimicrobianos de importância crítica de maior prioridade para fins profiláticos e terapêuticos (FANG et al., 2019). Uma alta proporção (30 a 90%) de antibióticos não são absorvidos pelo trato gastrointestinal de humanos e animais (SARMAH et al., 2006) e ainda, bactérias que possuem genes de resistência são frequentemente detectadas em dejetos de suínos. Geralmente, os principais antibióticos e mais comuns em águas residuárias de suínos são as tetraciclinas, sulfonamidas e macrolídeos (CHENG et al., 2018).

As bactérias desenvolvem resistência a antibióticos por três métodos: liberando enzimas de degradação de antibióticos, produzindo as bombas de efluxo ou modificando os alvos de ligação aos antibióticos. Uma vez que as bactérias se tornam resistentes, sua disseminação começa por dois mecanismos básicos, ou seja, transferência gênica vertical e transferência gênica horizontal (AZIZ et al., 2022).

A disseminação de resistência aos antibióticos ocorre principalmente pela transferência horizontal de material genético, podendo ocorrer através da conjugação, transformação ou transdução, e na grande parte está associada a elementos genéticos móveis, como os plasmídeos, transposons e integrons (FERRI et al., 2015).

Os genes de resistência a antimicrobianos, em sua maior parte, estão relacionados com os antimicrobianos: β -lactâmicos (*bla*), tetraciclinas (*tet*), macrólido-lincosamida-estreptogramina B (MLSB) (*erm*), sulfonamidas (*sul*), colistina (*mcr*), fluoroquinolona, quinolona, florfenicol, cloranfenicol e anfenicol (*fc*), aminoglicosídeos (*aac*) e vancomicina (*van*). Nos resíduos animais, os genes mais frequentemente encontrados, fazem parte das classes; *tet*, *fca*, *sul*, *erm* e *bla*. Os quais tem relação direta com os principais antibióticos utilizados na produção animal (KENNETH et al., 2023).

O que gera preocupação no aspecto de saúde pública, é que três destes cinco genes (*bla*, *fca* e *erm*) conferem resistência a antibióticos criticamente importantes na medicina humana, enquanto os dois restantes estão associados a antibióticos altamente importantes, distinção feita com base na disponibilidade de terapias alternativas e na frequência de utilização de substâncias ativas em humanos. A Autoridade Europeia de Medicamentos fez outra classificação agrupando os antimicrobianos em quatro classes de acordo com as potenciais consequências para a saúde pública quando utilizados em animais: A (evitar –

não autorizado em medicina veterinária), B (restringir), C (cautela) e D (prudência), na tentativa de mitigar problemas relacionados a resistência aos antimicrobianos (KENNETH et al., 2023; TARAKDIJIAN et al., 2020).

Nesse sentido, as alternativas de tratamento para dejetos oriundos da suinocultura e da pecuária de modo geral, foram originalmente projetadas para remover matéria orgânica, coliformes, nitrogênio e fósforo para a proteção das águas a jusante contra a depleção de oxigênio, a eutrofização e a contaminação microbiológica (LAN et al., 2019). No entanto, é necessário verificar a sua atuação mediante a esses poluentes emergentes.

Atualmente, os processos de tratamento biológico representam uma estratégia promissora para remover efetivamente antibióticos e bactérias resistentes. Esses processos de tratamento biológico incluem a digestão anaeróbia. Portanto, para uma remoção efetiva dos poluentes dos dejetos provenientes da suinocultura será necessária uma combinação de diferentes tecnologias (ZAREI-BAYGI et al., 2021).

3.4 Tratamento anaeróbio de efluentes da suinocultura

A digestão anaeróbia, é uma tecnologia promissora, a qual pode ser utilizada para o tratamento de diferentes resíduos, além de remover odores e patógenos, como também produzir o biogás. O tratamento eficaz dos dejetos é de grande importância para mitigar os seus efeitos prejudiciais. A alta complexidade da composição dos dejetos animais, é um desafio para a decomposição e transformação adequada desses em subprodutos. Além disso, a composição do dejetos animal está relacionada a vários fatores como, principalmente, a alimentação fornecida, idade, raça, entre outros fatores, e é rico em compostos orgânicos, incluindo carboidratos, lipídios e proteínas (CHEN et al., 2023).

O tratamento anaeróbio de resíduos e dejetos animais tem como principal função, reduzir os problemas ambientais e atender a legislação ambiental vigente. Além disso, durante a digestão anaeróbia é produzido o biogás e biofertilizante. Os custos associados à destinação e tratamento de resíduos sólidos podem ser reduzidos quando se considera a possível venda dos subprodutos, como, por exemplo, os nutrientes contidos no biofertilizante e a energia produzida a partir do biogás (LUO et al., 2023).

A digestão anaeróbia é um processo fermentativo, no qual os microrganismos responsáveis pelas transformações estão presentes no meio ambiente (CRAVEIRO et al., 1982). É considerada um processo que visa decompor a matéria orgânica, reduzindo-a a biogás e a um efluente estabilizado, a qual ocorre por meio de reações metabólicas de um complexo de microrganismos anaeróbios facultativos e estritos.

Esse processo ocorre naturalmente em áreas pantanosas e também no sistema digestivo de alguns animais (CREMONEZ et al., 2021). Atualmente, a digestão anaeróbia é um processo amplamente utilizado para o tratamento de dejetos suínos (BONUGLI-SANTOS et., 2022). É possível dividir o processo de digestão anaeróbia em quatro fases: (Figura 1).

Fase hidrolítica: enzimas hidrolíticas extracelulares degradam moléculas complexas de substratos solúveis em moléculas menores que são transportadas para dentro das células. Nessa fase ocorre a transformação de proteínas em aminoácidos, de carboidratos em açúcares solúveis e de lipídeos em ácidos graxos de cadeia longa e glicerina (SOUZA, 2005). Alguns dos principais gêneros de bactérias que participam desta etapa incluem *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Bacteroides* e *Eubacterium* (BONUGLI-SANTOS et., 2022).

A hidrólise é geralmente considerada uma etapa limitante da taxa porque está relacionada à conversão de matéria orgânica complexa. O desempenho dos sistemas de digestão anaeróbia, pode ser inibido pela amônia acumulada ou AGVs (YUAN et al., 2017).

Fase de acidogênese: ocorre o metabolismo intermediário do substrato, levando a formação de ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, isobutírico e fórmico), hidrogênio (H_2) e dióxido de carbono (CO_2) (OLIVEIRA, 2004). *Clostridium*, *Bacteroides* e *Ruminococcus* são gêneros pertencentes à fase acidogênica (BONUGLI-SANTOS et., 2022).

Fase de acetogênese: as bactérias acetogênicas, produtoras de hidrogênio transformam os produtos gerados na acidogênese em dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio (H_2), e ácidos orgânicos de cadeia curta (acetato e fórmico) (SOUZA, 2005) As bactérias acetogênicas são *Desulfovibrio*, *Desulfococcus* e *Desulfotomaculum*, entre outras (BONUGLI-SANTOS et., 2022).

Fase metanogênica: as arqueas metanogênicas convertem os ácidos orgânicos de cadeia curta, principalmente o acético, e também o dióxido de

carbono (CO_2) e o hidrogênio (H_2) em metano (CH_4) (OLIVEIRA, 2004). Alguns desses microrganismos metanogênicos incluem *Methanosarcina Barkeri*, *Methanobacterium sohngei* e *Methanobacterium thermoautotrophum* (BONUCCI-SANTOS et al., 2022).

Uma alternativa para melhorar a digestão anaeróbica e diminuir a possibilidade de problemas durante a metanogênese é realizar a separação da etapa metanogênica da etapa acidogênica no sistema de tratamento. Isto pode ser realizado por meio de um sistema com reatores anaeróbios em série (reator acidogênico seguido de reator metanogênico). Em razão da pressão seletiva imposta pela separação de fases, no primeiro reator prevalecem as reações microbianas de hidrólise de matéria orgânica complexa e geração de produtos de fermentação solúveis (ácidos orgânicos e solventes), enquanto no segundo reator predominam arqueas metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas, que promovem a conversão desses subprodutos em metano. CARNEIRO et al. (2022) operou reatores anaeróbios de biofilme de leito fixo (AFBBR) em condições metanogênicas convencionais (monofásica), e em sistema sequencial bifásico, reator acidogênico seguido de reator metanogênico. Os resultados indicaram que a alimentação do reator metanogênico com o efluente acidogênico proporcionou menor período de entrada em operação (11 e 32 dias para reator monofásico e sistema bifásico, respectivamente), maior geração de alcalinidade ($0,14$ e $0,41 \text{ g CaCO}_3 \text{ g DQO}_{\text{removido}}^{-1}$ para o reator monofásico e sistema bifásico, respectivamente), e a otimização da produção de biogás (CARNEIRO et al., 2022).

A toxicidade do sulfeto para arqueias metanogênicas, está relacionada à sua concentração no substrato e à concentração de H_2S na fase gasosa. O potencial do sulfeto no tratamento de diversos resíduos contaminados com compostos sulfurosos oxidados e metais pesados tem sido positivo. O sulfato pode ser biologicamente reduzido a sulfeto de hidrogênio pelas bactérias redutoras de sulfato. Reagindo com ele, íons de metais pesados dissolvidos podem ser convertidos em sulfetos metálicos quimicamente estáveis para remoção. HU et al. (2022) utilizaram um reator UASB (volume de 6 L) com temperatura controlada de $35 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, no tratamento de águas residuais sintéticas, a fórmula foi baseada nas águas residuais de produtos químicos orgânicos, contendo aproximadamente 1.000 mg L^{-1} de acetato, 1.000 mg L^{-1} de etanol e 3.000 mg L^{-1} de sulfato, apontou que o choque de pH e a concentração

de H_2S podem alterar os resultados da competição entre bactérias redutores de sulfato e arqueias metanogênicas. A redução de sulfato não foi afetada enquanto a produção de metano foi completamente inibida em concentrações de H_2S superiores a 200 mg L^{-1} . A redução completa do sulfato foi mantida a longo prazo com uma remoção de sulfato e DQO orgânica de 99,0% e 70,4%, respectivamente (HU et al., 2022).

A Figura 1 ilustra as fases da digestão anaeróbia, partindo de matéria orgânica complexa.

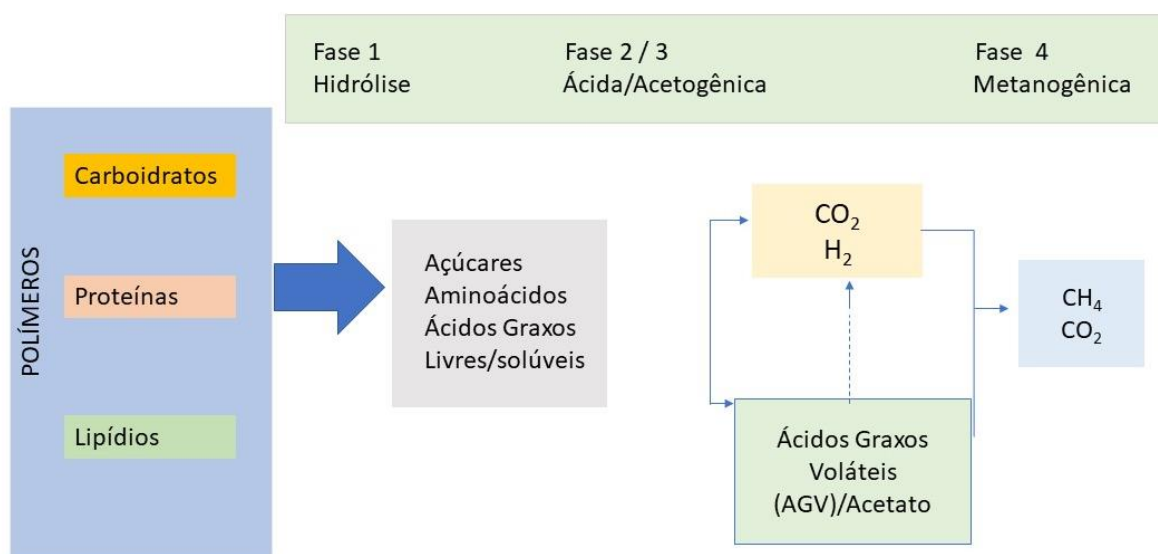


Figura 1. Esquema ilustrado representando as fases da digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa. Fonte: Adaptado de CASSINI et al. (2014).

Dessa forma, a digestão anaeróbia de resíduos da produção animal resulta na geração de biogás, composto principalmente por metano e dióxido de carbono. Além dos benefícios ambientais, como a redução da matéria orgânica, de coliformes e nutrientes no efluente tratado, e também das emissões de gases de efeito estufa, esse processo pode conferir valor econômico à produção, promovendo sustentabilidade.

Dentre as principais vantagens do tratamento anaeróbio, destacam-se a baixa produção de sólidos, aproximadamente de 2 a 8 vezes inferior àquela observada nos processos aeróbios, diminuindo problemas relacionados ao descarte desse material. Baixo consumo de energia e elevada produção de biogás, rico em metano, geralmente associado a uma elevada eficiência, resulta em custos operacionais reduzidos, além de requerer quantidades de área reduzida. Como também, destaca-se a tolerância a elevadas cargas orgânicas, além da aplicabilidade tanto em pequena quanto em grande escala. Assim, o

tratamento por meio da digestão anaeróbia, tem sido amplamente aplicado nas últimas décadas. O potencial de produção de metano dos dejetos suínos depende de vários fatores, incluindo as concentrações de matéria orgânica, o tempo de permanência dos dejetos dentro dos galpões e a fase de produção animal. A eficiência de conversão do biogás em energia elétrica é função da qualidade do gerador e das características do dejetos suíno, 1 m³ de dejetos suíno em uma unidade de terminação pode gerar entre 13,7 e 22,01 kWh. No Brasil, os valores reportados estão entre 1,12 e 1,8 kWh por metro cúbico de biogás (CHERNICHARO, 1997; CHENG et al., 2020; TÁPPARO et al., 2020).

O biogás pode ser utilizado para produzir eletricidade de formas renováveis reduzindo assim a dependência da energia proveniente de combustíveis fósseis. A digestão anaeróbia de resíduos agroindustriais também pode acrescentar valor significativamente, uma vez que a gestão de resíduos representa um custo importante para as propriedades. Na Austrália, por exemplo, os custos de gestão de resíduos no setor da carne vermelha foram estimados em aproximadamente 100 – 200 milhões de dólares australianos por ano (TAIT et al., 2021).

Atualmente, a produção de bioeletricidade a partir de biomassa vem sendo implementada em muitos lugares. Vários países europeus, atualizaram as suas políticas e regulamentos para utilizar a bioeletricidade no setor energético. A escolha de recursos renováveis alternativos para gerar bioeletricidade é uma opção promissora ao consumo de combustíveis fósseis. Os resíduos orgânicos gerados a partir da produção pecuária e das águas residuais do processamento industrial são o principal recurso para a produção de biogás na digestão anaeróbia (LAGANATH & SENOPHIYAH-MARY 2020).

As águas residuais da suinocultura contêm alta concentração orgânica (DQO) e alto teor de sólidos suspensos, aproximadamente 15.000 mg O₂ L⁻¹ e 15.000 mg TSS L⁻¹, as quais são adequadas para a produção do biogás (HAOSAGUL et al., 2020). No entanto, para o sucesso da digestão anaeróbia é necessário avaliar inúmeros parâmetros de projeto e operacionais, os quais influenciam diretamente na funcionalidade dos sistemas de tratamento. A carga orgânica volumétrica e o tempo de detenção hidráulica são fatores essenciais durante a digestão anaeróbia de águas residuárias de suínos, podendo levar ao acúmulo de ácidos graxos voláteis, diminuição do pH e da alcalinidade, arraste

de sólidos do lodo, redução da produção de biogás e até colapso do sistema de tratamento (CHENG et al., 2020).

A temperatura é outro parâmetro importante para a digestão anaeróbia no tratamento de águas residuárias da suinocultura, a qual afeta as taxas de reações bioquímicas e a atividade das enzimas, acarretando em rendimentos variados de CH_4 e afetando na qualidade do efluente final. Existem várias condições de temperatura em que a digestão anaeróbia ocorre frequentemente em psicrófila ($<30^\circ\text{C}$), mesófila ($30 - 40^\circ\text{C}$) e termófila ($50 - 60^\circ\text{C}$) que a produção de biogás através da digestão anaeróbica geralmente favorece altas temperaturas. No entanto, em estações de tratamento de grande escala, a manutenção das condições termofílicas nos reatores durante a digestão anaeróbia, exige um gasto de energia significativa, o que levará a despesas operacionais mais elevadas, especialmente em países que chegam a temperaturas negativas no inverno. Além disso, problemas relacionados a falta de energia ou erros de operação na manutenção, colocam em risco o sistema de tratamento. O desempenho dos reatores aeróbios baseado na produção de metano, melhora com o aumento da temperatura. A temperatura ideal para a operação do reator anaeróbico é de 35 a 37°C , que está dentro da faixa mesofílica. Manter essa faixa de temperatura favorece a atividade dos microrganismos que atuam nessa temperatura, garantindo melhor estabilidade no processo (SUDIARTHA et al., 2022; MOHAN e SWATHI, 2021). No entanto, essa manutenção constante nem sempre é alcançada, uma vez que pode gerar custos adicionais ao sistema de tratamento.

SUDIARTHA et al. (2022) evidencia a importância da temperatura na digestão anaeróbica no tratamento de águas residuais da suinocultura, uma vez que a temperatura pode afetar a atividade das enzimas e, portanto, a taxa de reações bioquímicas. A digestão anaeróbia em condições termofílicas apresentou taxa de produção de biogás superior ($0,56 \text{ L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) do que em condições mesófilas ($0,36 \text{ L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Porém, é necessário verificar a viabilidade econômica da manutenção da faixa de temperatura termofílica durante o tratamento. A faixa de temperatura favorável para o reator UASB está dentro da faixa mesofílica ($30 - 40^\circ\text{C}$) para maior remoção de DQO e produção de biogás para a manutenção de metanógenos. No entanto, a faixa adotada na maioria dos trabalhos fica entre 20 e 25°C . Nesta faixa de temperatura a proliferação de metanógenos foi considerada boa, resultando em adequado desempenho do

reator. Além disso, a produção de metano estava fortemente relacionada com a temperatura na faixa mesófila (SUDIARTHA et al., 2022; MOHAN e SWATHI, 2021).

Já em relação a concentração orgânica das águas residuárias da suinocultura, essas normalmente são altas, com DQO variando de 3.000 a 30.000 mg L⁻¹. Além disso, outros indicadores de poluentes, incluindo nitrogênio total, nitrogênio amoniacal e fósforo total, são 200 – 2055 mg L⁻¹, 110 – 1650 mg L⁻¹ e 100 – 620 mg L⁻¹, respectivamente. A presença de nutrientes como a amônia, pode ser crítica para a digestão anaeróbia. A relação C/N geral das águas residuárias da suinocultura situa-se em torno de 4,0 a 7,0, enquanto a faixa ideal para a digestão anaeróbica está entre 15 e 30. Valores entre 80 a 150 mg L⁻¹ de nitrogênio amoniacal livre podem afetar de modo negativo o processo, causando inibição do mesmo (ZHANG et al., 2011; MOHAN E SWATHI, 2021).

Os reatores de alta taxa permitem reduzir significativamente o volume necessário, se comparado aos sistemas tradicionais. Entre esta ampla categoria, o reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo do inglês a sigla UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) é o sistema mais amplamente aplicado em todo o mundo. O reator UASB foi desenvolvido na década de 1970 na Holanda e sua aplicação aumentou rapidamente em razão do seu desempenho. A principal característica de um reator UASB é a camada de lodo granular suspensa, a qual retém biomassa microbiana, altamente ativa com excelente capacidade de sedimentação, na câmara de digestão do reator, para o tratamento contínuo e/ou intermitente dos efluentes. À medida que as águas residuárias atravessam a camada de lodo, os microrganismos anaeróbios degradam os compostos orgânicos presentes na água residuária. A composição dos efluentes a serem tratados e sua subsequente cinética de degradação, afetam a flexibilidade do processo da digestão anaeróbia. Muitas vezes, pode ser necessário o pré-tratamento do material, para uma melhora efetiva na remoção dos poluentes (OLIVEIRA, 2001; LATIF et al., 2011; SHINDE et al., 2023).

Os reatores UASB são amplamente utilizados para o tratamento de águas residuárias, possuindo um curto tempo de detenção hidráulica, pois pode reter altas concentrações de biomassa com alta atividade específica na forma de lodo granular. Outra vantagem é que para sua operação não é necessário grande quantidade de equipamentos elétricos (LIM, KIM., 2014).

No reator UASB (Figura 2), o afluente a ser tratado, entra pelo fundo do reator e flui verticalmente através de uma manta de lodo, formada por um leito granular. Essa configuração permite uma eficiente mistura entre a biomassa e as águas residuárias. O funcionamento do reator é baseado na expansão do leito de lodo granular à medida que as águas residuárias sobem. Os microrganismos associados às partículas de lodo desempenham um papel primordial na remoção dos poluentes presentes. A qualidade do biofilme e a proximidade do contato entre o lodo e o afluente a ser tratado, são fatores determinantes para o sucesso do reator UASB. O biogás é gerado durante o processo, e um separador trifásico (gás-líquido-sólido) está presente na parte superior o qual tem a função de separar o biogás, do efluente líquido e das partículas de lodo, mantendo essas dentro do reator, transferindo apenas 5 a 10% da matéria orgânica das águas residuárias para a fração de lodo (MAINARDIS et al., 2020).

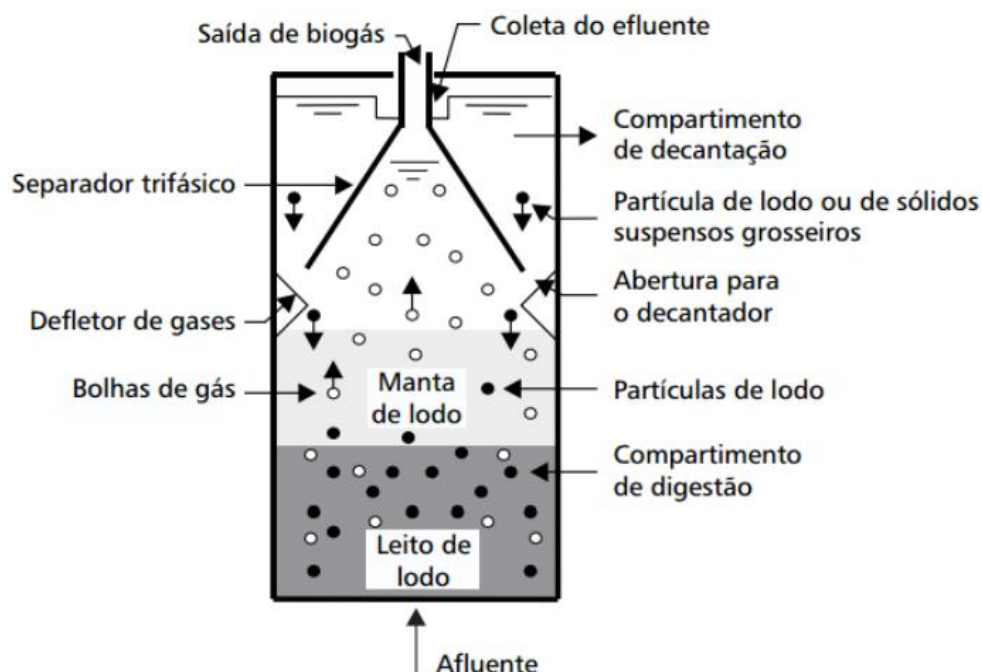


Figura 2. Desenho esquemático de um reator UASB. Fonte: ADRIANUS et al. (1999).

Em relação as características dos efluentes, as águas residuárias da suinocultura contendo alta concentração de nitrogênio amoniacal e sólidos suspensos foram consideradas desfavoráveis à formação de grânulos. A eficiência da digestão anaeróbica pode ser aumentada com a adição de lodo granular proveniente de outros reatores anaeróbios. Em comparação com as águas residuais brutas de suínos, as águas residuais diluídas ou separadas

sólido-líquido com menor concentração de matéria orgânica e nutrientes têm a vantagem de serem mais econômicas, uma vez que seu tratamento é mais fácil (DENG et al., 2023).

MASSÉ et al. (2014) demonstraram que o processo de digestão anaeróbia atual ainda não consegue atingir 100% de remoção de todos os tipos de antimicrobianos dos dejetos de animais tratados por esses sistemas. A presença de antimicrobianos nos efluentes da suinocultura, podem interferir negativamente nos processos de tratamento biológico desses resíduos. Estes poluentes podem levar a supressão dos microrganismos anaeróbios e reduzir a produção de biogás (GURMESSA et al., 2020).

No entanto, durante o tratamento do efluente da produção animal em reatores anaeróbios há significativa redução de patógenos no efluente tratado. Essa redução está aparentemente associada aos processos de adsorção nos sólidos. No entanto, a eficiência na retenção dos sólidos desempenha um papel crucial; se essa retenção não for eficiente, a remoção dos patógenos pode não ocorrer (DA SILVA et al., 2015). Nesse sentido, não existe um único fator que determina a persistência de antibióticos e genes de bactérias resistentes nos resíduos de animais após o tratamento. O perfil farmacocinético dos antibióticos, parâmetros abióticos como o tipo de solo, pH, temperatura, incidência de raios solares e características dos dejetos animais, além de parâmetros bióticos, como a atividade catabólica dos microrganismos presentes no lodo, no solo e no ambiente aquático podem interferir (KHINE et al., 2023).

KHINE et al. (2023), realizaram a análise genômica comparativa de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos, isolada de suínos, humanos e águas residuárias da suinocultura. O sequenciamento híbrido do genoma completo foi aplicado a seis cepas de *E. coli* positivas para *mcr* isoladas de porcos, um trabalhador rural e águas residuárias. Um total de 31 ARGs foram identificados entre as seis cepas, sendo aqueles que codificam resistência a aminoglicosídeos, betalactâmicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, trimetoprima, macrolídeos, cloranfenicol, sulfonamidas e tetraciclina. Notavelmente, a resistência bacteriana aos compostos acima referidos poderia favorecer a co-selecção e a co-expressão de vários genes de resistência a antibióticos.

A digestão anaeróbia pode reduzir a abundância relativa de genes de resistência a antibióticos em dejetos suínos em 3,5% – 71,0%. Sendo que os

genes de resistência mais comumente encontrados nesse resíduo, são contra sulfonamidas, tetraciclina e macrólidos. Foi demonstrado que a digestão anaeróbia reduz o número de cópias de *tetX*, *ermB*, *mefA*, *ermF* e *sul2* em dejetos suínos em $0,72 - 1,34 \log$ (TIAN et al., 2022).

TIAN et al. (2022) avaliou a digestão anaeróbia de dejetos suínos diluídos com as seguintes características: ST de $123 \pm 3 \text{ g L}^{-1}$; SV de 91 ± 3 ; DQO_{total} de $158\,200 \pm 2\,307 \text{ mg L}^{-1}$; Nitrogênio amoniacal de $2.150 \pm 50 \text{ mg L}^{-1}$ e pH de $5,98 \pm 0,01$. A pesquisa foi realizada em digestores com volume total de 320 m^3 , com temperatura entre $30 - 35 \text{ }^\circ\text{C}$ e TDH de 8 dias.

3.5 Partida de reatores UASB e formação do lodo

Em muitos casos, a inicialização de um reator anaeróbio leva 4 meses ou mais de um ano para processos termofílicos antes que um estado estacionário em relação à eficiência de remoção seja alcançado. A redução do tempo de start-up (partida) é um fator importante para aumentar a competitividade econômica dos processos anaeróbios. Nesse sentido, na maioria dos casos, os reatores anaeróbios são inoculados em lote (ESCUDIÉ et al., 2011). Porém a aquisição do inóculo pode ser um problema, seja ele de custo para a propriedade, elevadas quantidades e dificuldades no transporte desse material, como também a inexistência de um inóculo adaptado para o tipo de resíduo a ser tratado.

O inóculo fornece microrganismos e contribui como matéria-prima de co-digestão, fornecendo nutrientes e aumentando a capacidade tampão do sistema. Um inóculo adequado ao tipo de resíduo, pode aumentar a taxa de degradação, melhorar a produção de biogás, diminuir o tempo de partida e estabilizar o sistema. Os inóculos mais utilizados na digestão anaeróbia são o lodo digerido e o fluido ruminal. O lodo digerido pode ser facilmente coletado de digestores anaeróbios. O fluido ruminal é um inóculo altamente ativado para matérias-primas lignocelulósicas, mas aplicá-lo em digestores comerciais é um desafio porque não é possível garantir quantidades suficientes (WI et al., 2023).

WI et al. (2023) verificou a qualidade do inóculo de dejetos bovinos, o qual possui 30 - 70% de microrganismos anaeróbios obrigatórios, além disso, contém elevada quantidade de macro e micronutrientes que favorecem o crescimento bacteriano durante a digestão anaeróbia. Usando reatores de escala laboratorial, mantidos na faixa mesófila, observaram que o dejetos suínos no estado sólido, inoculado com dejetos leiteiros, poderia ser digerido sem inibição causada pelo

acúmulo de amônia e ácidos graxos voláteis. O maior potencial de produção de metano foi observado nas relação inóculo-substrato de 1 e 0,3, com 133 e 145 mL CH₄ g⁻¹ SV, respectivamente. A fase de partida apenas com dejetos suínos foi mais prolongada, de 41 a 47 dias, do que outros tratamentos contendo dejetos leiteiros. Na digestão anaeróbia de dejetos suínos pode ocorrer inibição ácida no estágio inicial, devido ao alto conteúdo de sólidos voláteis biodegradáveis. A inoculação seria interessante na modulação dessa ocorrência.

O lodo de esgoto digerido como inóculo de reatores anaeróbios para o tratamento de águas residuárias da suinocultura também é uma alternativa que vem sendo utilizada. Outro estudo avaliou o lodo de esgoto digerido e dejetos bovino como inóculo para aumentar a produção de biogás durante a digestão anaeróbia de resíduos agrícolas, sendo produzido 26% mais biogás ao usar dejetos bovino em vez de digerido de lodo de esgoto (NEO et al., 2012).

TAVERA-RUIZ et al. (2023) em uma pesquisa, mostram que o principal inóculo utilizado nos testes de potencial bioquímico de metano é o dejetos estabilizado de vacas e de suínos. A concentração de sólidos voláteis do inóculo é um fator importante pois está relacionada ao conteúdo de biomassa microbiana ativa e determina se a diluição é necessária. Vários artigos relataram o conteúdo de sólidos voláteis variando de 15 a 84,5 g SV kg⁻¹ e 7,9 a 80,5 g kg⁻¹ para inóculos granulares/floculares e de dejetos, respectivamente.

Os reatores UASB são amplamente utilizados no tratamento de águas residuárias da suinocultura e representam uma grande proporção dos reatores anaeróbios de alta taxa atualmente em uso no mundo. O início da operação de um reator UASB depende das características do inóculo utilizado, o qual serve como fonte microbiana que irá iniciar o processo de degradação dos substratos. Nesse sentido, a escolha de um inóculo adequado é essencial para obter bons resultados durante o processo de partida de um reator anaeróbio. Assim, a partida é de extrema importância para a adequada funcionalidade do reator UASB, sendo determinante para o tratamento eficiente dos efluentes. Normalmente é realizada com inóculo de reatores já estabilizados. Uma inoculação suficiente deve ser fornecida no início da operação para reduzir desvantagens como sensibilidade do processo, vulnerabilidade do reator a sobrecargas, emissão de odores e longo período de partida. O início da operação do reator UASB normalmente requer que 10 a 30% do volume seja inoculado com biomassa granular ativa (LIM & KIM, 2014; LUO et al., 2023).

O lodo anaeróbio é o componente principal do reator UASB. A eficácia do tratamento no reator UASB é derivada da interação contínua entre as águas residuárias e a microbiota associada às partículas de lodo. A formação de agregados de lodo torna-se particularmente significativa, uma vez que esses grânulos não apenas suportam biofilmes ativos, mas também proporcionam flutuabilidade e sedimentação, facilitando o contato entre grânulos e o líquido a ser tratado no reator. Em resumo, os grânulos são partículas densas, formadas por microrganismos anaeróbios simbióticos. Sendo considerados uma unidade funcional, onde estão presentes diferentes microrganismos necessários para a degradação anaeróbia da matéria orgânica até metano. A associação entre os microrganismos é necessária, uma vez que nenhuma espécie de forma isolada consegue transformar completamente os componentes orgânicos da água residuária. A granulação parece ser uma resposta natural de autodefesa ao ambiente hostil (como pH extremo) ou a outros fatores. Os grânulos propiciam e sustentam um micro-habitat adaptado, garantindo a ocorrência da biotransformação da matéria orgânica (ABBASI & ABBASI, 2012; SHOW et al., 2020).

A formação dos grânulos anaeróbios é um processo complexo, afetado por diversos parâmetros biológicos e físico-químicos. As características dos grânulos anaeróbios podem ser influenciadas por diversos fatores, como por exemplo as espécies de microrganismos presentes e a taxa de crescimento e morte desses nos grânulos. Em relação a parte inorgânica dos grânulos anaeróbios, essa também pode ser impactada por diversos fatores, incluindo as características das águas residuárias e as condições de operação. Foi verificado, que a quantidade de cinzas nos grânulos desenvolvidos em águas residuárias complexas é inferior à dos grânulos formados em águas residuárias mais simples, como aquelas compostas por acetato, propionato ou butirato. A operação adequada dos reatores UASB depende da autosseleção e autoagregação de microrganismos durante a formação do lodo granular. O inóculo tem influência na composição da comunidade microbiana e assim afeta o sistema de tratamento positivamente ou não. Além disso, uma característica peculiar dos grânulos anaeróbios é que eles podem ser armazenados por longos períodos, sem a perda da sua integridade. Isso se deve a capacidade de deterioração endógena drasticamente diminuída durante esse período sem substrato (SAKAR et al., 2009; LUO et al., 2023; SHOW et al., 2020).

LUO et al. (2023) verificaram o efeito de dois inóculos em reatores UASB (volume efetivo de 2,8 L) tratando águas residuárias da suinocultura (DQO de $21,2 \pm 0,8 \text{ g L}^{-1}$) com COV inicial de $5 \text{ kg DQO m}^3 \text{ d}^{-1}$ mantidos a temperatura de $35 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. O primeiro reator foi inoculado com lodo anaeróbico proveniente do tratamento de águas residuárias de suinocultura, e o segundo com lodo anaeróbico proveniente do tratamento de esgoto de destilaria. Como resultado, este estudo demonstra que no processo de digestão anaeróbia de águas residuárias de suínos, a eficiência de produção de metano em reatores UASB inoculados com lodo proveniente de tratamento de águas residuárias da suinocultura foi superior ao do UASB inoculado com lodo de destilaria. O que pode ter ocorrido em razão da abundâncias de *Clostridium* e *Methanosarcina* no primeiro reator serem significativamente maiores do que no segundo reator. O possível efeito sinérgico desses microrganismos, pode ter acelerado o processo de digestão anaeróbia. Em relação as características do lodo nos reatores o tratamento se mostra mais eficiente quando a proporção de lodo com granulometria $\geq 0,5 \text{ mm}$ foi superior a 16,0%. Em resumo, nota-se a vantagem na utilização de lodo homologado nos reatores UASB tratando águas residuárias da suinocultura.

Os grânulos são formados por diferentes camadas de composições microbianas. O núcleo interno compreende predominantemente metanógenos que servem como núcleos para a formação de grânulos. Tanto os microrganismos produtores quanto os utilizadores de hidrogênio são depositados nos núcleos formando a camada intermediária. Diversas espécies de microrganismos anaeróbios estão presentes na camada mais externa. Em relação a conformação dos grânulos é observado que existem cavidades na superfície desses, as quais podem ser usadas como canais de transporte de gases, substrato ou metabólitos. As colônias de bactérias sintróficas são mais frequentemente observadas na região mais interna dos grânulos. As bactérias acidogênicas e as arqueas consumidoras de hidrogênio coexistiam na camada externa dos grânulos e a maior parte das bactérias e arqueas que utilizam acetato estão localizadas no núcleo dos grânulos (SHOW et al., 2020; MACLEOD et al., 1990).

Os grânulos apresentam dimensões que variam de 0,1 a 5 mm e se distinguem do lodo floculado devido à sua maior resistência ao cisalhamento. O lodo granuloso possui uma boa capacidade de sedimentação, possibilitando

taxas hidráulicas elevadas. Esses grânulos conseguem suportar elevadas tensões de cisalhamento por gases e líquidos sem se desintegrarem. Além disso, oferecem uma resistência superior a choques devido a presença de toxinas e outros agentes nocivos, quando comparados aos microrganismos dispersos. Os sistemas anaeróbios de lodo granular são caracterizados por cargas orgânicas mais elevadas, variando de 5 a 20 kg DQO m³ d⁻¹. Em comparação, as cargas para a maioria dos processos aeróbios são limitadas abaixo de 3 kg m³ d⁻¹. A diferença se deve pelo fato de que a degradação anaeróbica não necessita de oxigênio. Assim, suas taxas de reação bioquímica não são limitadas pela difusão de oxigênio (TIWARI et al., 2006; SHOW et al., 2020).

SCHMIDT E AHRING (1996), descreveram como inicia a formação dos grânulos: 1 - Transporte das células para um substrato; 2 - Adsorção reversível inicial ao substrato por forças físico-químicas; 3 - Adesão irreversível de células ao substrato por apêndices e/ou polímeros microbianos; e por fim, a multiplicação de células e desenvolvimento dos grânulos. Em reatores UASBs, o líquido de fluxo ascendente fornece uma pressão de seleção ao remover partículas leves e dispersas, enquanto retém partículas densas. O rápido desenvolvimento de grânulos pode ser alcançado através da aglomeração de partículas do lodo floculante induzida pelo estresse hidráulico. Este lodo pode ser transformado em grânulos ativos aplicando um curto tempo de detenção hidráulica (menos de 8 horas). Em contrapartida, a granulação não ocorreu sob condições de pressão de seleção hidráulica moderada ou tempo de detenção longo. Dessa forma, tudo indica que a manipulação adequada da pressão de seleção em termos de velocidade do fluxo ascendente do líquido é fundamental para a formação de grânulos (SHOW et al., 2020).

Normalmente, os reatores UASB são inoculados com lodo proveniente de outros reatores já em operação. No entanto, esse lodo pode não estar disponível nas proximidades da propriedade, e haverá custos adicionais relevantes para o transporte de grandes quantidades necessárias. As características do lodo de inóculo podem afetar a composição de ácidos graxos voláteis e diminuir os rendimentos de metano, assim como, sua capacidade tampão elevada e o alto teor de nutrientes, podem aumentar significativamente o rendimento de CH₄. Nesse sentido, a seleção de um inóculo inicial adequado é essencial para garantir o sucesso da digestão anaeróbia.

RICO et al. (2017) avaliaram três diferentes tipos de lodo de inóculo para semear reatores UASB, o primeiro lodo digerido espessado, oriundo de uma planta agroindustrial de biogás que trata dejetos suínos e resíduos de abatedouro (108,7 g ST kg⁻¹ de lodo e 86,7 g SV kg⁻¹ de lodo), o segundo lodo anaeróbico foi retirado de um digestor anaeróbico de uma estação de tratamento de água residuária (33,5 g ST kg⁻¹ de lodo e 18,4 g SV kg⁻¹ de lodo) e o terceiro inóculo foi a biomassa granular de um reator industrial UASB tratando águas residuais da produção de bioetanol (90,2 g ST kg⁻¹ de lodo e 71,3 g SV kg⁻¹ de lodo). Foram utilizados reatores UASB em escala de laboratório (volume operacional de 1 L). Os reatores foram alimentados com dejetos suínos brutos peneirados (DQO de 21,5±1,3 g L⁻¹) provenientes de uma granja de produção de suínos de ciclo completo. Os reatores foram alimentados em ciclos de 15 minutos e a temperatura foi mantida a 36 ± 1 °C. Como resultado RICO et al. (2017) apontam que o dejetos líquido de suínos pode ser tratado eficientemente no reator UASB após a remoção dos sólidos sedimentáveis, mostrando o melhor desempenho da biomassa granular o qual teve maior eficiência (6,1 L CH₄ L⁻¹ de dejetos líquido). O lodo digerido espessado era inadequado para o processo UASB em razão da flotação do lodo. E ainda, o lodo de esgoto anaeróbico pode ser uma alternativa para o tratamento de águas residuárias da suinocultura em reatores UASB, quando não é possível utilizar ou não há disponibilidade da biomassa granular.

ZAHEDI et al. (2022), investigaram o tratamento anaeróbico de efluentes da suinocultura, utilizando lodo de inóculo proveniente de um digestor anaeróbico de uma estação de tratamento de esgoto municipal, com as seguintes características: pH de 7.3 ± 0.2; ST de 18.0 ± 0.1 (g L⁻¹); SV de 11.8 ± 0.1 e DQO_{total} de 18.100±350 (mg L⁻¹). As características do dejetos suínos utilizados na pesquisa eram: pH de 7.2 ± 0.1; DQO_{total} de 101,600 ± 135 (mg L⁻¹); ST de 73.0 ± 1.5 (g L⁻¹) e SV de 54,73 ± 1,06 (g L⁻¹). Os testes foram realizados nas condições mesofílicas (35°C) e termofílica (55°C) realizados em frascos de 250 mL. Em relação aos ARGs nota-se diferenças significativas entre o inóculo e o dejetos suínos, sendo mais abundante no dejetos suínos. Além disso, a estrutura da comunidade microbiana presente nos dejetos suínos diferiu significativamente da presente no inóculo utilizado. No entanto, o tratamento em condições termofílicas resultou numa comunidade microbiana significativamente diferente em comparação com o inóculo, provavelmente devido ao facto de apenas uma

fração dos microrganismos presentes no inóculo ter conseguido sobreviver nestas condições. Várias bactérias patogênicas conhecidas pertencem aos gêneros *Streptococcus*, *Clostridium* e *Pseudomonas* que apresentaram maior abundância no presente estudo. Porém, apenas *Streptococcus* diminuiu em todos os tratamentos após digestão anaeróbia. Além disso a ocorrência de antimicrobianos foi investigada, sendo a marbofloxacin, (bactericida com amplo espectro de atividade utilizado principalmente para infecções respiratórias em suínos), foi o mais abundante no dejetos suíno (>1000 µg/kg nas frações sólidas). Outros compostos, como ciprofloxacina ou norfloxacina (fluoroquinolonas), oxitetraciclina (tetraciclina), sulfadiazina (sulfonamida), lincomicina (lincosamida) ou o anti-helmíntico flubendazol, foram detectados no dejetos suíno em concentrações medianas entre 100 e 1000 µg/kg nas fases sólidas, respectivamente, e tiamulina e tilmicosina (macrólidos) e clortetraciclina foram detectadas no dejetos suíno em concentrações medianas abaixo de 100 µg/kg nas fases sólidas. Em relação ao inóculo, a ciprofloxacina e a norfloxacina (fluoroquinolonas) foram as mais predominantes (>1000 µg/kg na fase sólida), seguidas da oxitetraciclina e clortetraciclina (tetraciclina) (<110 µg/kg nas fases sólidas). Em relação a remoção desses compostos, o tratamento anaeróbio operado na faixa termofílica, nesse estudo, se mostrou mais eficiente.

A ampicilina é um dos antibióticos β -lactâmicos mais importantes usados atualmente e a primeira penicilina de amplo espectro usada para o tratamento de infecções causadas por *Enterobactérias*. E ainda, outro objetivo no uso da ampicilina, diz respeito à medicina preventiva, que visa melhorar a produtividade da produção pecuária (GAWROŃSKA et al., 2022).

As Enterobacteriaceae tornaram-se um dos principais patógenos responsáveis por infecções nosocomiais (infecção no hospital) no sistema de saúde, especialmente devido à sua notável capacidade de adquirir múltiplos mecanismos de resistência a uma ampla gama de antimicrobianos. Além disso, são capazes de sobreviver e se replicar mesmo sob estresse e/ou ambientes hostis, devido à sua tolerância a fatores adversos, como mudanças de temperatura, umidade e pH. As populações de Enterobacteriaceae são predominantes em digestores operados em temperaturas mesófilas utilizando dejetos animais como substrato (MENEZES et al., 2024).

3.6 Microbiologia do lodo de reatores UASB

Os microrganismos filamentosos podem exercer a função de matriz estrutural, na qual as células formadoras de grânulos possam aderir, uma vez que os reatores UASB convencionais não possuem meio suporte. As células de arqueas metanogênicas têm dimensões em torno de 0,2 a 5 μm , contudo, as filamentosas, como a *Methanosaeta* sp, podem formar feixes de até 100 μm . O revestimento celular desses microrganismos tem importância na proteção contra agentes físicos ou químicos. Acredita-se que essa aderência ocorra por meio da excreção de exopolissacarídeos. Os grânulos são formados por consórcios microbianos com diferentes espécies. Possuem alta retenção de biomassa, podendo conter milhões de organismos por grama com capacidade de tratar efluentes com alta carga orgânica. As bactérias hidrolíticas mais comumente encontradas nos inóculos são: *Bacteroidota*, *Firmicutes* e *Proteobacteria*, enquanto as arqueas são dominadas por *Euryarchaeota*, *Methanosaeta* e *Methanomicrobia* (LIU et al., 2004; MENG et al., 2023).

Os microrganismos formadores de metano, predominantes em digestores anaeróbios operados na faixa mesófila de temperatura, são dos gêneros: *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanospieillum*, *Methanoculleus* e *Methanocorpusculum*, que são Archaeas que utilizam o hidrogênio, e dos gêneros *Methanosarcina* e *Methanosaeta*, que são Archaeas que utilizam o acetato, para a formação do metano. SONG et al. (2010) tratando águas residuárias da suinocultura, em escala piloto de 35 m³, TDH de 3,5 dias (COV, $5,8 \pm 0,3 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), mantidos na faixa de temperatura mesófila e iniciado o reatores com lodo de inóculo proveniente de uma estação de tratamento para águas residuais de destilaria de álcool, verificaram que os metanógenos hidrogenotróficos (*Methanobacteriales* e *Methanomicrobiales*) compreenderam $95,8 \pm 2,2\%$ das concentrações totais do gene metanogênico 16S rRNA. Notando que a metanogênese hidrogenotrófica é a principal via de formação de metano no processo de tratamento de águas residuárias de suínos que contém alta concentração de amônio, com curto TDH (CHERNICHARO, 2007; SONG et al., 2010).

As arqueas metanogênicas acetoclásticas apresentam crescimento relativamente lento, quando comparadas com as hidrogenotróficas. No entanto, são os microrganismos dominantes em reatores anaeróbios, sendo possível

verificar a abundância de bactérias filamentosas (*Methanosaeta* sp.). Nesse sentido, quanto mais volumosos e consistentes os feixes filamentosos de bactérias, e quanto mais denso for o agregado desenvolvido por *Methanosaeta*, a camada externa de *Methanosarcina* pode vir a ser reduzida (CAMPOS, 1990).

3.7 Aditivos na digestão anaeróbia: biochar

O biochar é um material carbonoso gerado pela conversão termoquímica de biomassas e resíduos orgânicos. É amplamente aplicado na remediação de contaminantes ambientais e como aditivo na digestão anaeróbia para facilitar o processo de transferência direta de elétrons e melhorar a capacidade tampão do processo. Também, a microporosidade do biochar favorece um ambiente ideal para a colonização microbiana (AWASTHI, 2022).

A temperatura de pirólise (processo térmico a que a biomassa é submetida na presença controlada de oxigênio) é outro fator que influencia as propriedades físico-químicas do biochar. Com o aumento da temperatura de pirólise, o teor de carbono, pH, teor de cinzas, estabilidade e tamanho dos poros aumentam, enquanto o rendimento do biochar, os teores de hidrogênio e de oxigênio e as relações H/C e O/C diminuem. O tamanho das partículas também afeta as propriedades do biochar, o qual pode ser triturado em partículas em nanoescala, por meio de processos físicos e/ou químicos, e adquirir melhor capacidade de migração na matriz do solo e de transporte em ambientes terrestres e aquáticos. A concentração do biochar também é um ponto importante e altos valores levam a aglomeração, reduzindo a sua atividade. Por outro lado, em concentrações elevadas fez com que altos níveis de matéria orgânica dissolvida e algumas outras substâncias fossem liberadas na matriz ambiental, afetando assim o comportamento de genes de bactérias de resistência a antimicrobianos (SHAO et al., 2022).

O biochar apresenta diversas vantagens sobre outros aditivos: pode ser produzido com uma ampla variedade de propriedades físico-químicas, controlando-se a matéria-prima e as condições operacionais da pirólise; possui elevadas porosidade, área superficial específica e capacidade de adsorção, e também excelente capacidade de troca catiônica e estabilidade. Além disso, o seu uso como adsorvente para eliminar antibióticos é uma abordagem viável economicamente. Assim, a adição de biochar aos reatores anaeróbios diminui os inibidores, aumenta a atividade microbiana, reduz o tempo da fase de partida

e melhora a transferência de elétrons entre microrganismos acetogênicos e metanogênicos. O biochar foi útil para promover a proliferação microbiana e melhorar atividade metabólica da digestão anaeróbia. Os papéis fundamentais do biochar na proliferação e crescimento microbiano podem ser divididos em quatro categorias: 1) sua estrutura porosa garante uma grande área superficial que fornece habitat e abrigo adequados para colonização bacteriana; 2) os vários tipos de nutrientes e oligoelementos liberados do biochar complementam a demanda de crescimento microbiano; 3) a elevada capacidade de adsorção do biochar é favorável na redução do estresse tóxico; 4) porções redox ativas de superfície servem como mediador para acelerar a transferência de elétrons. (CHIAPPERO et al., 2020; ZHAO et al., 2024).

Reatores anaeróbios suplementados com biochar aumentaram a produção de biogás em 22 a 40% e propiciaram a redução do tempo de partida em 28 a 64%. Além disso, a abundância de arqueas metanogênicas e microrganismos eletrotróficos aumentou em 24,6 a 43,8% (WANG, et al., 2018).

A capacidade de sorção do biochar promove a mitigação de contaminantes como amônia, sulfeto e outros inibidores, que afetam negativamente a metanogênese na digestão anaeróbia. Os inibidores são adsorvidos na superfície do biochar por meio de precipitação, atração eletrostática ou troca iônica (AMBAYE et al., 2021). Um grama de biochar aplicado a um reator anaeróbio reduziu as emissões de sulfeto de hidrogênio em, aproximadamente, 78% (WANG et al. 2019). Também pode reduzir a concentração, a biodisponibilidade e a mobilidade de metais pesados potencialmente tóxicos por adsorção (SHAO et al., 2022).

E ainda, é notável a capacidade tampão do biochar, o qual supera condições ácidas e/ou alcalinas encontradas na digestão anaeróbia. Isso ocorre devido à alta concentração de grupos funcionais ácidos e/ou alcalinos como os carboxílicos, fenólicos e as aminas produzidos durante o processo de pirólise. Os íons metálicos potássio, sódio, cálcio e magnésio presentes no biochar também contribuem para essas características (ZHAO et al., 2021).

Em relação a melhoria das características do biogás, o biochar tem sido considerado um adsorvente eficaz para a remoção de dióxido de carbono, em razão da sua porosidade e aumento da área superficial. Os muitos grupos funcionais e características de alcalinidade, em particular, podem promover a sorção química de dióxido de carbono. O biochar também pode ser usado como

meio suporte e transportador de arqueas metanogênicas hidrogenotróficas facilitando a conversão de dióxido de carbono em metano (AMBAYE et al., 2021). A adição de biochar diminui a concentração de antibióticos de modo direto por adsorção e indiretamente pelo aumento da degradação microbiana e enzimática (SHAO et al., 2022).

WANG et al. (2023), operaram dois reatores de membrana anaeróbica (AnMBR) com volume útil de 2,5 L, tratando águas residuárias da suinocultura ($ST = 26,5 \text{ g L}^{-1}$; $SV = 18,2 \text{ g L}^{-1}$; $COV = 5,2$ a $29,1$). Um sem uso do biochar (controle), e outro utilizando biochar derivado de serragem com dosagem de 5 g/L , com tamanho de partícula de $0,25 - 1 \text{ mm}$. Verificaram que quando COV de $7,1 - 10,2 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$, os dois reatores tiveram taxas de hidrólise semelhantes de $73,8 - 75,5\%$. À medida que a COV aumentou para $13,5 - 21,1 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$, a taxa de hidrólise diminuiu para $51,1 - 58,0\%$, implicando pouca influência do biochar na hidrólise. Em contraste, a adição de biochar acelerou as taxas de acidogênese, acetogênese e metanogênese em $6,0\% - 12,3\%$, $7,1\% - 10,5\%$ e $5,9 - 9,6\%$, dependendo da variação da COV . O aumento da acidogênese com a assistência do biochar foi provavelmente devido à alta área de superfície específica do biochar que apoia o crescimento de bactérias acidogênicas, o que impulsionou sua atividade metabólica.

JIANG et al. (2022), avaliaram quatro tipos de biochar diferentes, no tratamento de águas residuais da suinocultura por meio da digestão anaeróbia em lote, realizada em frasco fosco de 1 L. Quatro tipos de biocarvão (derivado de serragem, digerido de dejetos suínos seguido de modificação de amônia, digerido de dejetos suínos seguido de modificação de permanganato de potássio e derivado do lodo da fábrica de papel) foram utilizados. Os desempenhos de digestão no reator adicionado com derivado de serragem foram os segundos melhores. O biochar de dejetos suínos seguido de modificação de amônia inibiu a atividade metanogênica. O biochar de dejetos suínos seguido de modificação de permanganato é o único biocarvão fracamente ácido e apresentou o melhor efeito de imobilização do Cu. O biochar de lodo da fábrica de papel se destacou por conter $87,35\%$ de cinzas, possuir estrutura porosa composta por macroporos e mesoporos, com pH elevado ($8,95$). A aplicação do biochar no processo de digestão anaeróbia revelou que o lodo da fábrica de papel poderia melhorar significativamente os rendimentos acumulados e diários de metano, o qual

poderia levar melhorias no desempenho da digestão anaeróbia e na redução da biodisponibilidade de metais pesados.

Os resultados de estudos indicam evidentemente que o tipo de biochar e a concentração de oligoelementos no biochar desempenham um papel crucial na determinação da eficácia da sua adição, na melhoria da eficiência da remoção de matéria orgânica. O efeito do biochar na digestão anaeróbia do lodo de esgoto causou aumento na eficiência de remoção de SV e no rendimento de metano devido à presença de diferentes compostos com efeitos estimuladores do processo como Ca, Co, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni e Zn no biochar utilizado (SÁNCHEZ et al., 2022).

YANG et al. (2021) utilizaram palha de trigo como substrato para produção de biochar. As temperaturas da pirólise foram de 500°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min e depois mantidas constantes a 500°C por 4 horas. Após resfriamento à temperatura ambiente, o biochar obtido foi triturado e peneirado em frações de diâmetro inferior a 0,20 mm para posterior utilização. Uma fração desse biochar foi modificada com solução de dihidrogenofosfato. As características das águas residuárias da suinocultura utilizadas no experimento foram de: ST 14,17%; SV 7,22%; nitrogênio total 8,62 g·L⁻¹ e pH de 6,65. Uma série de frascos com volume útil de 500 mL foram utilizados para experimentos em lote, simulando a digestão anaeróbia.

Como resultado, nas concentrações de 5% e 10% de biochar modificado, verificou-se os melhores efeitos na mitigação e melhor imobilização de Cr, Cu e Pb, essa melhora foi atribuída principalmente à formação de precipitações de fosfato. A produção de metano foi significativamente maior quando utilizado biochar do que na amostra controle. Em comparação com o controle, o rendimento total de metano no final da digestão anaeróbia aumentou 9 – 25% e 4 – 39% nos tratamentos biochar e biochar modificado, respectivamente. O valor do pH durante a digestão anaeróbia em todos os tratamentos esteve dentro da faixa razoável (pH = 7,2 – 8,1), o que foi adequado para manter a operação estável do sistema de digestão.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local

A pesquisa foi desenvolvida nas instalações experimentais e no Laboratório de Saneamento Ambiental, do Departamento de Engenharia e Ciências Exatas, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal. O clima da região, segundo classificação de Koppen, é Cwa (subtropical úmido, seco no inverno e com chuvas no verão) e temperatura média anual de 22,3 °C (UNESP, 2019).

4.2 Instalação Experimental

O sistema de digestão anaeróbia empregado na pesquisa foi composto por dois reatores UASB, em série, com volumes de 13,7 e 10,6 litros para o primeiro (R1) e segundo (R2) reatores, respectivamente, conforme descrito por SANTANA JÚNIOR (2013) e SANTANA JÚNIOR et al. (2019) (Figuras 3 e 4).

A alimentação do afluente nos reatores foi realizada por meio de uma bomba diafragmática dosadora acoplada ao R1, e o efluente gerado no R1 escoava para o R2 por gravidade. Para manter a temperatura controlada a 35 °C, os reatores foram mantidos em cabines com sistema de aquecimento (Figura 4). Os pontos de coleta de lodo nos reatores foram distribuídos em relação a entrada do afluente da seguinte forma: no primeiro reator (R1) distribuíram-se quatro pontos (P1, P2, P3 e P4) posicionados a 9, 29, 44 e 64 cm da base. No segundo reator (R2), havia três pontos (P1, P2 e P3) distribuídos a 9, 29 e 44 cm da entrada.

4.3 Afluentes

Os dejetos de suínos utilizados como afluente nos reatores UASB foram coletados em uma granja comercial de ciclo completo na região de Barretos - SP. A coleta dos dejetos foi realizada em baias da fase de terminação, com lâmina d'água, as quais estavam localizadas em edificação de alvenaria revestida com argamassa e piso de concreto. De acordo com o protocolo fornecido pela propriedade, os animais eram alimentados duas vezes ao dia, com ração à base de milho, soja e sorgo com complemento vitamínico e mineral, além de agentes antimicrobianos (florfenicol, doxiciclina, tetraciclina, amoxicilina e tilosina). Os dejetos coletados foram congelados a -18°C , e armazenados de forma fracionada. No momento da sua utilização eram diluídos em água nas proporções descritas na Tabela 3, e posteriormente peneirados em malha quadrada de 2 mm.

4.3.1 Adição de biochar

O biochar utilizado teve como matéria prima eucalipto, o qual foi obtido através da pirólise com temperatura final de 450°C em reator tipo mufla, na ausência de oxigênio, durante 4 horas de carbonização. O pH e a condutividade elétrica do biochar, após esse ser triturado, foi realizada através da metodologia proposta por RAJKOVICH et al. (2011), sendo determinados em solução com água destilada. O pH do biochar foi de 7,8 e a condutividade elétrica foi de $228\ \mu\text{S}/\text{cm}$.

A partir do 452º dia de operação dos reatores (fase 4) foi adicionada, diariamente, ao afluente a quantia de 19 g de biochar de eucalipto, ou seja, concentração diária de $1,4\ \text{g L}^{-1}$ no R1, e com isso alcançar dosagens semanais acumuladas de $10\ \text{g L}^{-1}$ no R1. Na revisão apresentada por CHIAPPERO et al. (2020), as dosagens de biochar aplicadas em reatores anaeróbios em batelada foram de 1 a $33\ \text{g L}^{-1}$ e em reatores UASB de $2,5$ a $5,0\ \text{g L}^{-1}$. Esta adição foi realizada com o intuito de verificar possíveis melhorias de desempenho dos reatores, principalmente, na produção de biogás e redução de bactérias resistentes a antimicrobianos. Após a pirólise, esse material foi triturado e peneirado em malha de 0,5 mm, sendo transformado em um pó, armazenado em frasco de vidro a temperatura ambiente e pesado, adicionado e homogeneizado, diariamente, ao afluente do R1.

4.4 Descrição da operação do sistema de tratamento

A partida dos reatores UASB (R1 e R2) foi realizada sem utilização de lodo para inóculo, ou seja, por meio de autoinoculação a partir da microbiota do afluente. A faixa de DQO do afluente foi de 2075; 7540; 19004 e 20631 durante as fases 1, 2, 3 e 4, com tempo de detenção hidráulica de 24 horas. Após a partida, as cargas orgânicas volumétricas (COV) foram aumentadas gradativamente de 0,5 para 2 kg DQO (L d)⁻¹ na fase 1 (primeiros 100 dias de operação) a segunda fase iniciou com COV de 2 kg DQO (L d)⁻¹ passando para 4 kg DQO (L d)⁻¹ até ser alcançada a média de 8 kg DQO (L d)⁻¹ na fase 2, que encerrou no 224º de operação. A fase 3 teve início com elevação da COV média para 12 kg DQO (L d)⁻¹ chegando a COV média de 20 kg DQO (L d)⁻¹, onde a partir de então passou-se a manter constante até o final da fase 3 e em toda fase 4. A elevação da COV era realizada à medida que era obtida a estabilidade dos reatores. Dessa forma, as COV aplicadas no R1 foram crescentes de 0,5 a 32,5 kg DQO (L d)⁻¹. O tempo de detenção hidráulico (TDH) foi de 24 h no R1 e de 18,6 h no R2 durante todo o experimento. Os reatores foram mantidos na faixa mesofílica, controlada na temperatura ótima de 35º C para a multiplicação de microrganismos, de acordo com GERARDI (2003). O experimento teve um total de 529 dias de operação ininterruptos, divididos em quatro fases, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Período de operação do sistema composto pelos reatores UASB em série e fases de operação.

Parâmetro	Fases			
	1	2	3	4
Diluição (g de dejetos (L d) ⁻¹)	7	61	80	80
DQO _{total}	2076	7540	19005	20632
COV (g DQO _{total} (L d) ⁻¹)	2	8	19	21
Duração (dias)	100	123	215	91
Período de operação	25/05/22 a 02/09/22	03/09/22 a 04/01/23	05/01/23 a 07/08/23	08/08/23 a 08/11/23

Diluição (gramas de dejetos/ Litros de água), DQO_{total} - demanda química de oxigênio (mg L⁻¹), COV - carga orgânica volumétrica (g DQO_{total} (L d)⁻¹) e duração (d).

4.5 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos não metálicos nos afluentes, efluentes, lodo e biogás: amostragem, frequência e metodologias.

A avaliação de desempenho dos reatores UASB foi realizada por meio das análises de amostras composta dos afluentes e dos efluentes tratados do R1 e do R2, coletadas durante, aproximadamente, 4 h. As amostras dos afluentes e efluentes foram coletadas nas torneiras de amostragem na alimentação (saída da bomba dosadora) e nas saídas dos reatores R1 e R2 (Figuras 3 e 4). A frequência de amostragem foi de duas vezes por semana (Tabela 4). Foram determinados o pH, a demanda química de oxigênio total (DQO_{total}), a demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}), os sólidos suspensos totais (SST), os sólidos suspensos voláteis (SSV), de acordo com metodologias descritas por APHA, AWWA, WPCF (2005). A alcalinidade total, parcial e intermediária (AT, AP e AI) e os ácidos voláteis totais (AVT), conforme metodologias descritas por JENKINS et al. (1983) e DILALLO & ALBERTSON (1961), respectivamente. O volume de biogás produzido foi medido diariamente, em gasômetros, como descrito por FERNANDES & OLIVEIRA (2006), e a composição do biogás foi analisada, em cromatografia gasosa, conforme descrito por APHA, AWWA, WPCF (2005). A Tabela 4 apresenta a descrição das análises realizadas e suas frequências.

Tabela 4. Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos realizados no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores anaeróbios R1 e R2.

EXAMES E DETERMINAÇÕES	FREQUÊNCIA	REFERÊNCIAS
Afluente e efluentes		
pH	Duas vezes \ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500 H ⁺ B)
Demanda química de oxigênio total (DQO _{total})	Duas vezes \ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Método: 5220 – B); (16).
Demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{diss})	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Método: 5220 – B); (16).
Alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI)	Duas vezes \ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005), JENKINS et al. (1983), (L. E. RIPLEY, W. C. BOYLE, 1986)
Sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF)	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Métodos: 2540 - C e 2540 – E)
Ácidos voláteis totais (AVT)	Duas vezes \ semana	DILALLO e ALBERTSON (1961)
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	Quinzenalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500-N-C)
Nitrogênio amoniacal	Duas vezes \ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método Semi-Micro Kjeldahl)
Fósforo total	Quinzenalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500-P-C)
K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu e Zn	Mensalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005)
Coliformes totais e termotolerantes	Uma vez no final da fase	(técnica dos tubos múltiplos)
Lodo		
Sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)	Uma vez no final da fase	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método 2540 – B e 2540 – E)
Biogás		
Produção	Diariamente	SANTANA & OLIVEIRA (2005) (Método: Gasômetros)
Composição	Uma vez no final da fase	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: cromatografia gasosa)

4.6 Produção de biogás

A produção de biogás foi determinada pelo volume de biogás produzido diariamente, medindo-se a temperatura do biogás e o deslocamento vertical dos gasômetros (SANTANA & OLIVEIRA, 2005). Para o cálculo da produção de biogás, o volume foi corrigido para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP, 0°C e 1 atm), e efetuada por meio da expressão que resulta da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac na qual: Vo é o volume corrigido do

biogás; P_o a pressão corrigida do biogás (10332,72 mm coluna de água); T_o a temperatura corrigida do biogás, em K; V_1 o volume do biogás nas condições de leitura (área do gasômetro multiplicada pela leitura, sendo as áreas de 0,0615 m², para os gasômetros dos reatores R1 e R2); P_1 a pressão do biogás no gasômetro, em mm de coluna de água (pressão atmosférica do local (9632,43) + pressão interna do gasômetro e T_1 a temperatura do biogás no instante de leitura, em K. As análises de composição do biogás foram realizadas uma vez por mês, para a determinação dos teores de metano. As amostras eram coletadas e posteriormente analisadas em cromatográfico de fase gasosa, conforme descrito por APHA, AWWA, WPCF, 2005). A fórmula utilizada está descrita a seguir:

$$\frac{V_o \times P_o}{T_o} = \frac{V_1 \times P_1}{T_1}$$

A produção estimada de energia foi calculada pela fórmula descrita por KYTHREOTOU et al. (2012), onde:

$$E_{EL} \text{ (kWh)} = BG \text{ (m}^3\text{)} \times CH_4 \text{ (\%)} \times EF_{EL} \text{ (\%)} \times p_{CH_4} \text{ (kg/m}^3\text{)} \times EN_{CH_4} \text{ (MJ/kg)} \\ / 3.6 \text{ (MJ/ kWh)}.$$

Considerando que:

E_{EL} : produção de energia elétrica em kWh,

BG: total de biogás produzido de acordo com cada método utilizado em m³,

CH_4 : teor percentual de metano no biogás,

EF_{EL} : eficiência elétrica do gerador em %,

p_{CH_4} : densidade do metano em kg/m³

EN_{CH_4} : densidade de energia do metano em MJ/kg

4.7 Microscopia eletrônica por varredura (MEV)

Foi realizada a microscopia eletrônica por varredura do biochar de eucalipto utilizado durante a fase 4 do experimento. Como também do lodo do R1 durante a fase 4. Informações sobre o equipamento e as condições utilizadas:

Zeiss; evo 10-33-75;
 EHT=10.00 kv
 WD = 9.5
 I Probe = 40pa
 Signal A = SE1
 Track Z = off
 Scan rot = on
 Grun vacuum =1000.000 mbar
 Scan speed = 8
 Auto BC = off
 Optibeam = resolution

4.8 Quantificação de enterobactérias resistentes à ampicilina e coliformes totais e termotolerantes. biologia molecular

A escolha da quantificação de enterobactérias nesse estudo, deve-se a importância dessas populações nas infecções, além disso, a capacidades de desenvolverem resistência a antimicrobianos. Como também, *Escherichia coli*, *Enterococos* e coliformes totais são indicadores de contaminação fecal, o que guia a verificação da eficiência dos tratamentos aplicados nas águas residuárias, em relação a microbiologia. E a escolha da ampicilina nessa pesquisa é pautada na ação do antibiótico na família Enterobacteriaceae, e ainda na sua ampla utilização na produção animal.

O processo de quantificação de enterobactérias resistentes das amostras foi realizado pela técnica de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) por mL dos afluentes, efluentes e lodos dos reatores UASB (R1 e R2), descrito por KONEMAN et al. (1997). Para isso, realizou-se o processo de diluição seriada, onde 100µL de cada amostra foram transferidos para microtubos contendo 900µL de solução salina 0,85% estéril, caracterizando assim uma diluição na proporção 1:10. Este processo foi repetido mais quatro vezes, até o grau de diluição final de 10^{-5} .

Após a diluição seriada, uma alíquota de 5µL de cada diluição foi transferida para placas de Petri contendo ágar MacConkey (KASVI, Brasil) suplementado com ampicilina em diferentes concentrações e incubadas a 37°C por até 48 horas para o crescimento das colônias.

Após a incubação, realizou-se a contagem das UFC, levando em consideração o fator de correção matemático referente ao inóculo de 5µL utilizado, onde o número de colônias contadas foi multiplicado por 200 (visto que 5µL é 200 vezes menor do que 1mL) e o resultado multiplicado pelo grau de diluição escolhido. O resultado final foi então expresso em notação científica na base 10.

As concentrações testadas foram de 10; 32; 45 e 64 µg mL⁻¹ de ampicilina. Também foi realizada a amostra controle. É necessário ressaltar que não foi utilizado lodo de inóculo nos reatores, o que retira a variável dessas bactérias resistentes serem provenientes de outro material que não do próprio afluente.

4.9 Biologia Molecular

Em relação a biologia molecular, foi realizado a extração de DNA bacteriano em amostras utilizando o ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research) seguindo as instruções do fabricante. As amostras de DNA foram imediatamente congeladas em freezer a -20°C até análise molecular.

O Sequenciamento foi na plataforma Illumina: a biblioteca foi preparada utilizando *primers* para a região V4 do 16S rRNA (~300 bp, amplificado com *primers* 515F x 806R), e amplicons bacterianos foram sequenciados pela plataforma Illumina (PE 250, 50-100 mil leituras de dados brutos por amostra). Sequência dos iniciadores 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3').

Em geral, os dados brutos foram fornecidos no formato fastq; a família, o filo e análise de gênero em formato txt; a análise no QIIME 2 com banco de dados Silva 138 99% de sequências completas de OTUs (ASV, Chao 1, ACE, Shannon, Simpson, diversidade alfa e beta). As análises de metabolismo foram geradas com PICRUST 2 softwares. Por fim, gerou-se um relatório com os principais resultados. Os dados de sequência foram processados e analisados com QIIME [Quantitative Insights Into Microbial Ecology, versão 2022.2.0 (<https://qiime2.org/>)]. Inicialmente, durante as etapas de demultiplexação e corte, as leituras de baixa qualidade foram removidas, como leituras até Q30, leituras com comprimento insatisfatório e quimeras foram removidas com QIIME. As leituras limpas foram usadas na definição do ASV (Variante de Sequência de Amplicon). Para medir as taxas presentes nas amostras, um modelo preditor de

V4 região foi usada (sequências completas de SILVA 138,99% OTUs). As unidades taxonômicas operacionais (OTUs) serão agrupadas por leituras de cluster com 99% de similaridade. A taxonomia será atribuída às OTUs usando SILVA 138 banco de dados de referência. A curva de rarefação será feita utilizando QIIME. A diversidade alfa foi calculada aplicando diferentes métricas.

Foram calculados índices de Fisher que representam a diversidade de espécies.

Previsão da função bacteriana: O perfil funcional preditivo de comunidades bacterianas foi identificado por Investigação Filogenética de Comunidades por Reconstrução de Não Observados Estados 2 (PICRUST2, versão 2.4.2). As OTUs bacterianas exportadas do QIIME2 em formato padrão foram importados para PICRUST2. Análise de exploração da genômica os dados foram realizados em Python (versão 3.7).

4.10 Análise estatística e forma de apresentação dos resultados

Os resultados de DQO, SST, SSV, pH, nitrogênio total, amoniacal e orgânico, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês, sódio e zinco, coliformes totais e termotolerantes alcalinidade, ácidos voláteis totais, produção e composição do biogás; eficiências de remoção de DQO, sólidos suspensos, e produções volumétrica e específica de metano foram tabulados e apresentados em gráficos em função do tempo de operação e os valores médios e coeficientes de variação em tabelas. Foi aplicado teste F para análise de variância e as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas através do teste de Tukey com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software SISVAR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Demanda química de oxigênio, Sólidos Suspensos Totais e Voláteis e Produção de biogás

Na Tabela 5, estão apresentados os valores médios de COV, DQO_{total} , DQO_{diss} , e relação SSV/SST do afluyente e do efluente do sistema de tratamento anaeróbico, em dois estágios (R1 e R2), durante as fases 1; 2; 3 e 4.

Tabela 5. Valores médios de COV, DQO_{total} , DQO_{diss} , e relação SSV/SST do afluyente e do efluente do sistema de tratamento anaeróbico, em dois estágios (R1 e R2), durante as fases 1; 2; 3 e 4.

Parâmetros		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
COV (g DQO_{total} (L d) ⁻¹)	Afluyente	2,1 a	7,5 b	19 c	21 c	46	67,9**
	R1	0,8 a	2,4 a	4,5 b	2,4 c	67	28,0**
DQO_{total} (mg L ⁻¹)	Afluyente	2075 a	7540 b	19004 c	20631 c	46	67,9**
	R1	630 a	1820 a	3483 b	4914 c	67	28,0**
	R2	450 a	1328 b	2091 c	2168 c	62	20,6**
$DQ_{Dissolvida}$ (mg L ⁻¹)	Afluyente	589 a	3525 b	6416 c	8644 c	53	24,8**
	R1	379 a	1232 b	2943 c	3211 c	50	27,5**
	R2	317 a	784 ab	1702 c	1442 ac	58	15,5**
SST (g L ⁻¹)	Afluyente	596 a	2577 a	7477 a	6792 a	132	3,6*
	R1	99 a	2976 a	1009 a	1869 a	341	0,7 ns
	R2	96 a	209 a	2454 a	1036 a	526	0,4 ns
SSV (g L ⁻¹)	Afluyente	537 a	1381 a	6990 a	4505 a	138	4,5**
	R1	80 a	2903 a	839 a	866 a	391	0,74 ns
	R2	67 a	145 a	2370 a	656 a	566	0,4 ns
SSV/SST	Afluyente	0,85 a	0,86 a	0,90 a	0,74 a	21	1,2 ns
	R1	0,75 b	0,78 b	0,84 b	0,53 a	18	6,9**
	R2	0,72 a	0,65 a	0,79 a	0,68 a	28	1,3 ns

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$); p-probabilidade. COV: carga orgânica volumétrica (g DQO_{total} (L d)⁻¹); DQO_{total} - demanda química de oxigênio total; DQO_{diss} - demanda química de oxigênio dissolvida; SST - sólidos suspensos totais; SSV - sólidos suspensos voláteis; SSV/SST – Relação sólidos suspensos voláteis e sólidos suspensos totais.

Os valores médios de DQO_{total} do afluente foram de 2.075; 7.540; 19.045 e 20.631 durante os ensaios 1; 2; 3 e 4 respectivamente.

As cargas orgânicas volumétricas (COV) aplicadas no reator R1 variaram de 0,50 a 32,45 g DQO_{total} (L d)⁻¹ (Figura 5). As variações foram estatisticamente significativas entre as fases 1 e 2, as fases 3 e 4 não variaram.

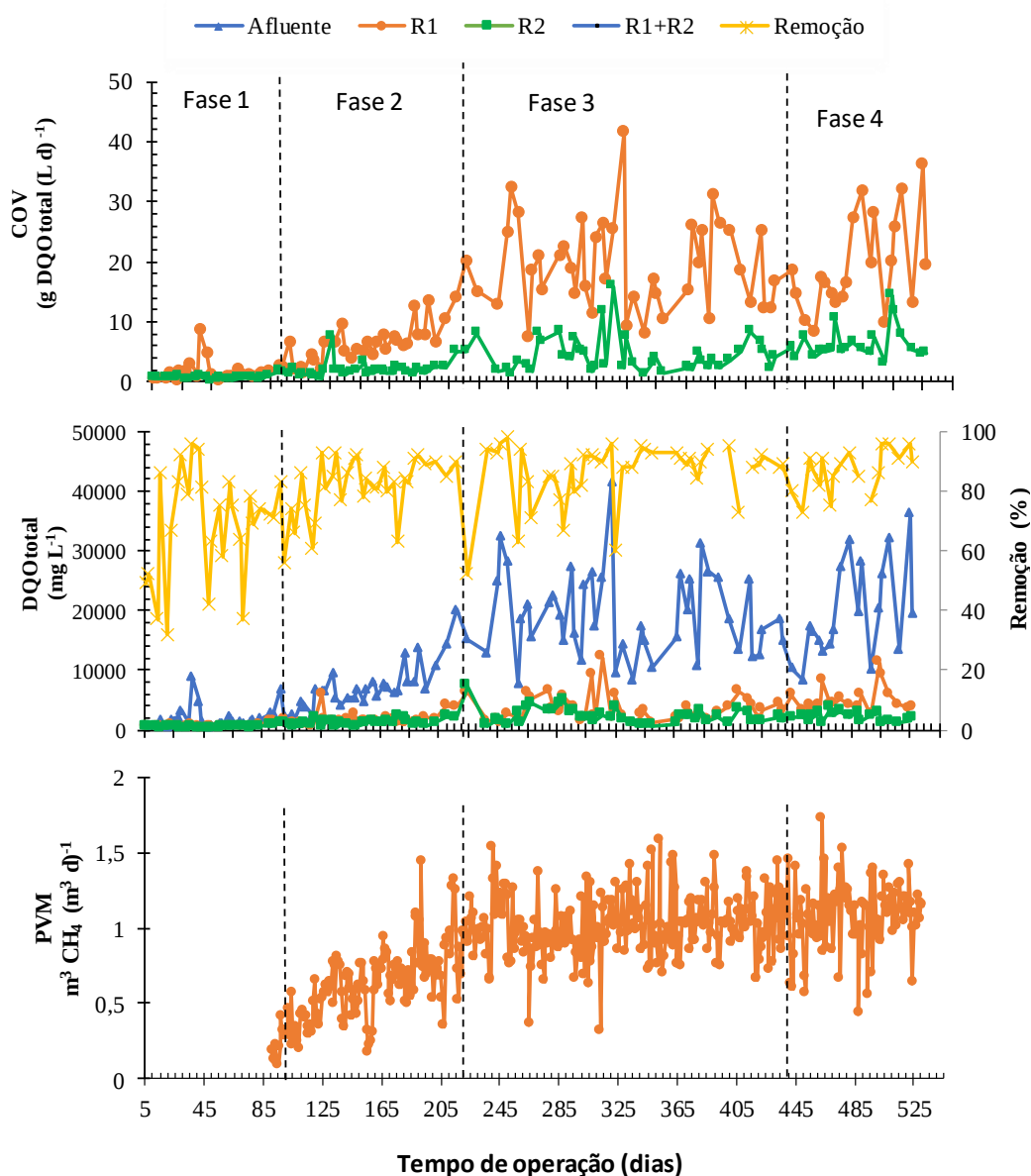


Figura 5. Valores de carga orgânica volumétrica (COV); demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e produção volumétrica de metano (PVM).

A tabela 6 apresenta parâmetros operacionais de reatores anaeróbios tratando águas residuárias da suinocultura.

Tabela 6. Tabela de parâmetros operacionais de pesquisas com reatores anaeróbios tratando águas residuárias da suinocultura.

Sistema de tratamento	Volume (L)	TDH (horas)	Temperatura de operação (°C)	COV (g DQO _{total} (L d) ⁻¹)	Remoção de DQO (%)	Produção volumétrica de metano (m ³ CH ₄ (m ³ d) ⁻¹)	Produção específica de metano (m ³ CH ₄ kg ⁻¹ DQO _{removida})	Referência
Reatores UASB	10,5	30; 20; 12 e 8	25 – 30	8 a 80	75 a 92	1,660		DE OLIVEIRA; FORESTI (2004)
Reatores UASB em dois estágios	908 e 188	62,3 e 31,1 - 12,9 e 6,5		34 a 144	87 a 93	0,594 – 1,139	0,289	SANTANA, DE OLIVEIRA (2005)
Reator anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB)	530 e 120	56 a 18 - 13 a 4	18 – 25	28,3 a 96,3	41 a 50	0,755	0,053	FERNANDES; DE OLIVEIRA (2006)
Reator anaeróbio compartimentado + reator UASB	530 e 120	60 a 24 - 13,6 a 5,4	19 – 25	4,21 a 13,29	34 a 58	0,455	0,056 – 0,084	SOARES DE ABREU (2007)
Reator UASB e filtro anaeróbio em série seguidos de filtro biológico percolador	300 e 190	24,0 e 11,7 - 12,0 e 5,8		12,4; a 26,3	99	0,816	0,067 – 0,082	DUDA; DE OLIVEIRA (2011)
Reatores UASB em dois estágios	908 e 188	19,3; 29,0 e 57,9 R1+R2	22 – 25	55 a 40	85 a 95	0,721		URBINATI; DUDA, DE OLIVEIRA (2013)
Reatores UASB em série		36, 24 e 12 R1 +R2	21 – 24	19,0 a 102,5	88	1,609	0,047 – 0,123	GUARIZ, DE OLIVEIRA (2013)
Reatores UASB em dois estágios	908 e 188	36 e 18 - 7,5 e 3,7		5,5 a 34,4 e 5,1 a 45,2	82 a 93		0,27	RAMIRES; DE OLIVEIRA (2014)
Reator anaeróbio em escala laboratorial	16 e 10	240		29,4	84 a 89	0,44		TIAN et al. (2022)
Reator UASB em escala laboratorial	3,25	6 - 12		103 a 201	83 a 94	0,06 – 1,02		SILVA et al. (2023)
Reator UASB em escala laboratorial	2,8	24		50 a 250	66 a 85	0,018 – 0,026		LUO et al. (2023)

É possível verificar que os valores de COV aplicados no tratamento anaeróbio de águas residuárias da suinocultura tem grande variação (Tabela 6). Os valores utilizados nesse estudo estão dentro dos valores de outras pesquisas. No entanto, em razão da inicialização do reator sem lodo de inóculo, optou-se por iniciar partindo de uma COV reduzida, sendo gradativamente aumentada conforme a estabilidade do sistema e com a verificação da formação de lodo nos reatores.

Os valores médios de porcentagem de metano; produção volumétrica de metano; produção específica de metano e energia produzida no reator R1 durante as fases 1; 2; 3 e 4 estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Valores médios de porcentagem de metano; produção volumétrica de metano; produção específica de metano e energia produzida no reator R1 durante as fases 1; 2; 3 e 4.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
COV (g DQO _{total} (L d) ⁻¹)	Afluente	2,1 a	7,5 b	19 c	21 c	46	67,9**
Produção volumétrica de metano (L CH ₄ (L d ⁻¹))	R1	0,21 a	0,66 b	1,01 c	1,08 c	25	118,3**
Produção específica de metano (L CH ₄ (g DQO _{removida}) ⁻¹)	R1	0,10 ab	0,14 b	0,08 a	0,08 a	73	27,1**
Produção específica de metano (L CH ₄ (g DQO _{dissolvida}) ⁻¹)	R1	0,22 a	0,34 a	0,27 a	0,21 a	63	10,7**
Concentração de metano no biogás (%)	R1	79 b	70 a	73 a	79 b	6	71,2**
Produção de energia (kWh)	R1	1,03 a	3,21 b	4,91 c	5,2 c	25	118,2**

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$); p-probabilidade. COV: carga orgânica volumétrica.

Os valores médios das eficiências de remoção de DQO_{total} no reator R1 foram de 57; 74; 75 e 70%, e no sistema de tratamento anaeróbio (R1+R2) foram de 68; 81; 82 e 83% durante as fases 1; 2; 3 e 4 respectivamente. As maiores eficiências de remoção de DQO_{total} utilizando-se do sistema de tratamento

anaeróbio (R1+R2), foram observadas na terceira fase. RAMIRES E OLIVEIRA (2014), operando reatores UASB em série, aplicando COV de 5,5 a 34,4 g DQO (L d)⁻¹ no R1, e observaram valores médios de eficiência de remoção de DQO no R1 foram 80, 55, 85, 73%, durante os ensaios, valores estes, próximos aos observados neste trabalho. No entanto RAMIRES e OLIVEIRA (2014), partiram o reator utilizando inóculo adaptado. Mostrando a possibilidade de partir o reator sem o lodo de inóculo e alcançar eficiências de remoções adequadas.

CHEN et al. (2023) observava em um estudo tratando água residuária da suinocultura, onde foi utilizado para a partida do reator uma mistura de lodo de inóculo (lodo de um reator anaeróbico mesófilo em escala de laboratório para águas residuárias ricas em glutamato e de lodo de esgoto de um tanque de sedimentação), a remoção de DQO foi de 86% quando os valores de DQO aumentaram de 2,3 g L⁻¹ para 7,4 g L⁻¹. De acordo com o estudo, o aumento na remoção de DQO ocorreu em virtude à adaptação do lodo às condições ambientais do reator UASB.

SILVA et al. (2023), tratando água residuária da suinocultura em reatores UASB, com COV de 10,4 ± 0,9 kgDQO m⁻³ d⁻¹ e TDH de 12 horas, utilizando lodo proveniente de experimentos anteriores, do mesmo grupo de pesquisa, inoculado com cerca de 50% do volume efetivo de cada reator, observaram eficiências de remoção de DQO próximas a 90% nos reatores UASB já estabilizados.

De acordo com OLIVEIRA et al. (2020), a capacidade dos reatores anaeróbios em estabilizar a matéria orgânica pode ser observada com a redução dos valores de DQO. Dessa forma, verifica-se nesse estudo que após a adaptação do sistema com os aumentos das cargas, as eficiências de remoção foram mais significativas. A temperatura também tem grande importância na adaptação do sistema. YANG e colaboradores (2019), aponta que a 35 °C, reatores UASB, tratando efluentes da suinocultura, obtiveram valores máximos de produção volumétrica de metano de 1,234 L⁻¹ d⁻¹ na taxa de carregamento orgânico de 8 g ST L⁻¹ d⁻¹. Indicando que a temperatura é um fator de grande importância, que afeta a digestão anaeróbia de águas residuárias da suinocultura. No entanto, é difícil manter a temperatura ideal (35° C) no inverno usando métodos tradicionais de aquecimento (LIU et al., 2018).

Sistemas de tratamentos adaptados possuem como características estabilidade nos valores de pH, valores de alcalinidade suficientes para

tamponamento satisfatório do sistema de tratamento, além de valores reduzidos de ácidos voláteis. A eficiência de remoção de DQO pode ser indicativa de um sistema adaptado, como também a produção de biogás constante.

A produção de biogás no R1, iniciou-se após 3 meses de operação. Com 91 dias de operação, foi possível constatar a presença do deslocamento do gasômetro acoplado ao R1. Não ocorreu produção de gás no reator R2 em nenhuma das quatro fases.

Os valores médios do percentual de CH_4 no biogás foram, respectivamente nas fases 1, 2, 3 e 4 no R1, de 75,4; 68,7, 74,6 e 78%. Os valores da produção volumétrica de CH_4 média, no R1 foram de 0,21; 0,66; 1,01 e 1,08 $\text{m}^3 \text{CH}_4 (\text{m}^3 \text{ reator d})^{-1}$, durante as fases 1; 2; 3 e 4 respectivamente. Com o aumento da COV obteve-se acréscimos na produção volumétrica de metano. As produções específicas de metano no R1 foram de 0,10 e 0,14 $\text{m}^3 \text{CH}_4 (\text{kg DQO}_{\text{total removida}})^{-1}$ nas fases 1 e 2 e de 0,08 $\text{m}^3 \text{CH}_4 (\text{kg DQO}_{\text{total removida}})^{-1}$ nas fases 3 e 4.

SÁNCHEZ et al. (2021), em uma pesquisa tratando efluentes da suinocultura por meio da digestão anaeróbia em reatores semi-contínuos, na faixa mesófila, com taxa de carga orgânica entre faixa de 2–7 g SV $(\text{L d})^{-1}$ verificou que a adição de biochar de palha de trigo e palha de milho, resultou em um aumento na produção de biogás. No reator a produção antes da adição foi de $1,37 \pm 0,14 \text{ L d}^{-1}$ no reator 1 para $1,71 \pm 0,21 \text{ L d}^{-1}$ após a adição. Enquanto a produção de metano aumentou de $0,77 \pm 0,08$ para $0,99 \pm 0,13 \text{ L d}^{-1}$. Do mesmo modo, no reator 2, a produção de biogás aumentou de $1,31 \pm 0,06$ para $1,80 \pm 0,42 \text{ L d}^{-1}$, enquanto a produção de metano aumentou de $0,61 \pm 0,03$ para $1,05 \pm 0,26 \text{ L d}^{-1}$.

SANTANA & OLIVEIRA (2005), trabalharam com dois reatores UASB tratando efluentes da suinocultura, com COV na faixa de 3,40 a 14,44 $\text{kg DQO}_{\text{total}} \text{m}^{-3} \text{ reator d}^{-1}$ no Reator 1, onde obtiveram teores médios de CH_4 no biogás variando de 79,9 a 84 %, produção volumétrica média de CH_4 variando de 0,594 a 1,130 $\text{m}^3 \text{CH}_4 \text{m}^{-3} \text{ reator d}^{-1}$ e 0,160 a 0,513 $\text{m}^3 \text{CH}_4 \text{m}^{-3} \text{ reator d}^{-1}$ respectivamente, nos reatores R1 e R2. No entanto, os autores partiram os reatores utilizando inóculo adaptado, o que não ocorreu neste trabalho. Isto indica, que é possível partir reatores UASB para o tratamento de águas residuárias de suinocultura, sem a inoculação inicial.

Os valores médios das concentrações de SST e SSV do afluente foram de 596; 2.577; 7.477 e 6.792 mg L⁻¹ e de 537; 1.381; 6.990 e 4.505 mg L⁻¹, nas fases 1; 2; 3 e 4, respectivamente. No efluente do R1, os valores médios de SST e SSV foram de 99; 2976; 1009; 1869 mg L⁻¹ e de 80; 2.903 e 839; 866 mg L⁻¹, e no R2 os valores médios de SST e SSV foram de 96; 209; 2.452; 1036 mg L⁻¹ e 67; 145; 2.370 e 656 mg L⁻¹ nas fases 1; 2; 3 e 4, respectivamente. A tabela 8 apresenta os valores de remoção de DQO_{total}, DQO_{diss}, SST e SSV do sistema de tratamento anaeróbio, em dois estágios (R1 e R2), nas fases 1; 2; 3 e 4.

Tabela 8. Valores médios de remoção de DQO_{total}, DQO_{diss}, SST e SSV do sistema de tratamento anaeróbio, em dois estágios (R1 e R2), nas fases 1; 2; 3 e 4.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
Remoção DQO _{total} (%)	R1	57 a	74 b	75 b	70 ab	29	4,9**
	R2	28 a	29 a	30 ab	46 b	75	2,8*
	R1+R2	68 a	81 b	82 b	83 b	22	4,4*
Remoção DQO _{dissolvida} (%)	R1	32 a	60 b	49 ab	60 b	39	6,0**
	R2	23 a	34 ab	40 ab	53 b	64	3,0*
	R1+R2	38 a	73 b	71 b	83 b	29	13,2**
Remoção SST (%)	R1	68 a	54 a	75 a	73 a	46	1,2*
	R2	28 a	68 a	59 a	42 a	105	1,0 ns
	R1+R2	73 a	75 a	88 a	85 a	27	1,4 ns
Remoção SSV (%)	R1	73 a	57 a	81 a	78 a	36	2,2 ns
	R2	26 a	59 a	65 a	29 a	60	4,4 **
	R1+R2	77 a	80 a	93 a	85 a	16	4,1 **

DQO_{total} - demanda química de oxigênio total; DQO_{diss} - demanda química de oxigênio dissolvida; SST - sólidos suspensos totais; SSV - sólidos suspensos voláteis; c.v. - coeficiente de variação. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05); p-probabilidade.

5.2 pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais

Os valores de pH do efluente em todas as fases foram superiores aos do afluente, indicando a capacidade de tamponamento nos reatores, em virtude da remoção de ácidos voláteis e ao processo de amonificação (DUDA et al. 2009).

Os valores de pH do efluente no R1 e R2 foram superiores na fase 1, no entanto durante o trabalho não houve problemas relacionados a queda do pH, o sistema de tratamento manteve o pH acima de 7,5 durante todas as fases.

Os valores e a estabilidade do pH em sistemas anaeróbios são comentados por VAN HAANDEL & LETTINGA (1994) como de extrema importância. Os valores de pH menores que 6,3 ou maiores que 7,8 resultam em uma rápida diminuição na velocidade de metanogênese. A alcalinidade presente deve ser suficiente para manter o pH nestes valores. A Tabela 9 apresenta a média dos valores de pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais, durante as fases 1; 2; 3 e 4.

Tabela 9. Valores médios de pH, alcalinidade parcial (AP), intermediária (AI) e total (AT); relação AI/AP; ácidos voláteis totais (AVT) e relação AVT/AT, durante as fases 1; 2; 3 e 4 no afluente, R1 e R2.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
pH	Afluente	7,53 c	6,49 b	6,18 a	6,16 a	7	61,6**
	R1	8,26 c	7,81 b	7,67 ab	7,59 a	4	25,8**
	R2	8,43 b	8,04 a	7,9 a	8,05 a	5	11,1 **
Alcalinidade Parcial (mg L ⁻¹)	Afluente	273 a	460 b	297 ab	341 ab	70	3,4*
	R1	550 a	1822 a	2437 ac	2843 ac	43	35,8**
	R2	604 a	1691 b	2470 c	2617 c	41	38,1**
Alcalinidade Intermediária (mg L ⁻¹)	Afluente	271 a	1033 b	1268 b	1227 b	47	28,6**
	R1	130 a	363 b	581 b	394 ab	107	5,6**
	R2	80 a	268 b	471 b	468 b	113	5,7**
Alcalinidade Total (mg L ⁻¹)	Afluente	543 a	1494 b	1566 b	1589 b	40	25,5**
	R1	680 a	2185 b	3018 b	3236 b	42	35,8**
	R2	685 a	1960 a	2942 b	3085 b	44	71,2**
AI/AP	R1	0,29 a	0,71 b	1,13 b	0,77 ab	106	5,2**
	R2	0,16 a	0,51 b	1,04 b	0,89 b	112	5,6**
Ácidos voláteis totais (mg L ⁻¹)	Afluente	440 a	1506 b	2199 b	1775 c	39	47,8**
	R1	185 a	276 ab	329 bc	381 c	47	9,6**
	R2	122 a	193 b	216 bc	257 c	40	13,1**
AVT/AT	R1	0,30 b	0,12 a	0,14 a	0,12 a	57	23,9**
	R2	0,18 b	0,09 a	0,09 a	0,08 a	63	11,8**

c.v. - coeficiente de variação. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$); p-probabilidade.

A faixa ótima de pH para o desenvolvimento das arqueias metanogênicas é de 6,6 a 7,4, no entanto é possível verificar estabilidade na formação de metano na faixa de pH entre 6,0 a 8,0 (CHERNICHARO; 2007).

CHENG et al. (2018) sugerem um valor de pH entre 7,0 e 7,4 para o tratamento de efluentes da suinocultura. Assim, os valores obtidos se apresentam dentro das faixas recomendadas, e os autores ainda apontam que

os processos de tratamento anaeróbio são suficientemente tamponados para minimizar as flutuações de pH.

O pH da fase 1 manteve-se com valores mais elevados devido à alta diluição dos dejetos suínos. Sendo que tem uma redução do valor progressiva durante as fases 2; 3 e 4. A alcalinidade total tem valores menores durante a fase 1 sendo que este também aumenta com o decorrer das fases. Promovendo estabilidade ao sistema, em razão da capacidade tampão alcançada pelos valores elevados (Figura 6).

A quantidade de ácidos voláteis totais se eleva gradativamente, no decorrer das fases, chegando aos valores máximos durante a fase 4 (381 e 257 mg L⁻¹ no reator 1 e 2 respectivamente). A relação AVT/AT é reduzida da primeira para a segunda fase, mantendo valores muito semelhantes nas demais.

Em relação aos valores médios da relação AI/AP, durante a fase 2, 3 e 4 esses foram de 0,71; 1,13 e 0,77 no reator 1 e de 0,51; 1,04 e 0,89 no reator 2.

O monitoramento de tamponamento do sistema, pode ser feito pela alcalinidade e a relação AI/AP, em que a alcalinidade intermediária fornece valores relacionados à alcalinidade por bicarbonato, e a alcalinidade parcial fornece valores dos ácidos voláteis. Segundo KUNZ et al. (2019), o valor ideal da relação entre AI/AP é entre 0,3 – 0,4. A manutenção desses valores, indica uma faixa ótima para produção de biogás.

No entanto, o presente estudo obteve valores superiores de relação AI/AP, visto que os valores de ácidos voláteis totais foram superiores a 200 mg L⁻¹. Dessa forma, mesmo com valores de AI/AP acima da relação ideal, não ocorreu problemas com o sistema de tratamento, obtendo valores adequados de eficiência de remoção de DQO_{total} durante essas 3 fases, com valores médios de 81; 82 e 83% quando é avaliado o conjunto R1+R2, durante as 3 fases, respectivamente.

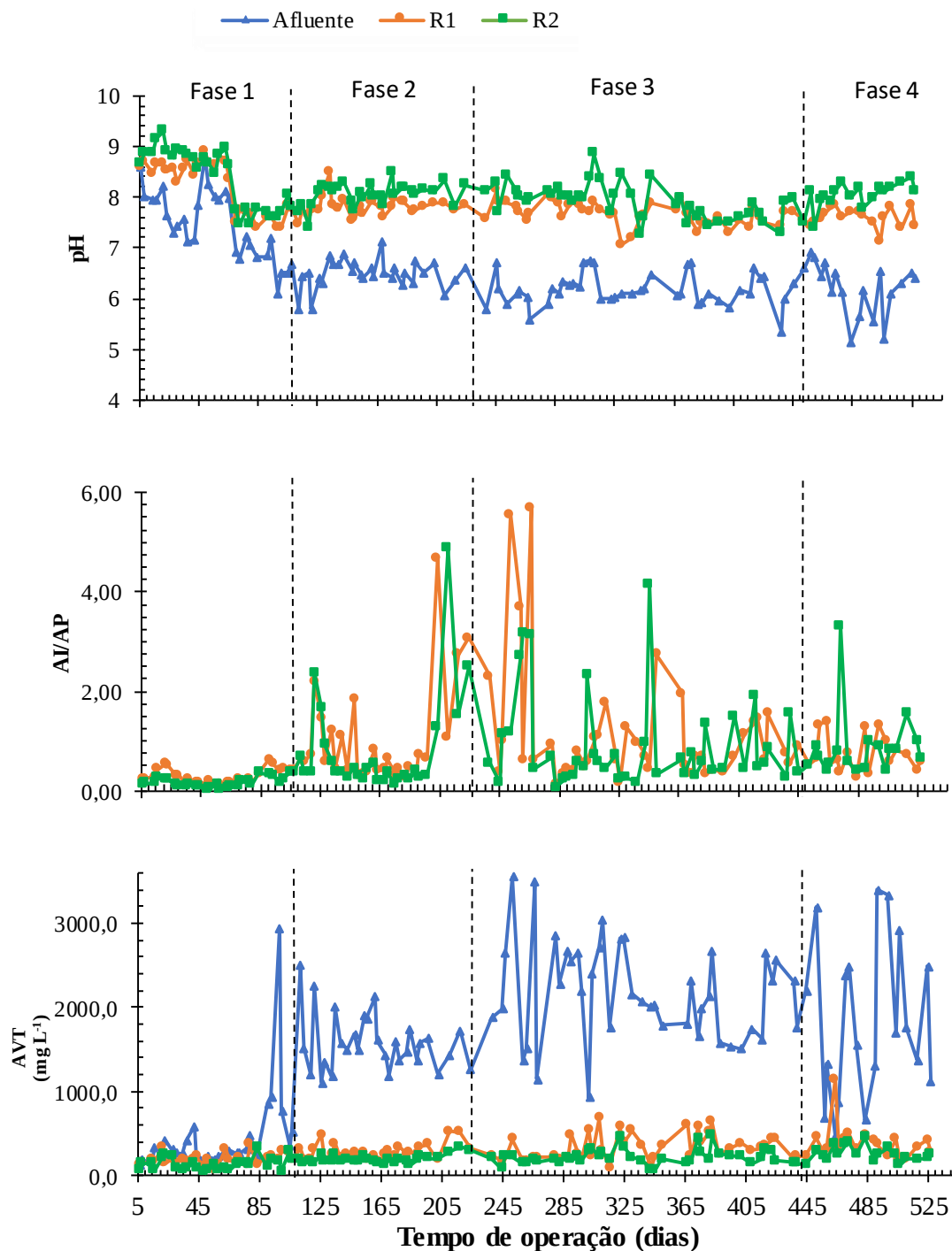


Figura 6. Valores de pH, alcalinidade parcial (AP), intermediária (AI), total (AT), relação AI/ AP e Ácidos voláteis totais (AVT) no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores anaeróbios R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.

5.3 Macro e micronutrientes

Os valores médios de NTK no afluente foram de 119; 368; 835 e 717 mg L⁻¹. No R1 e R2 foram observados valores de 99; 429; 511 e 777 mg L⁻¹ e de 84; 429; 633 e 713 mg L⁻¹, durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Já os

valores médios de N-am no afluente, R1 e R2 foram de 80; 269; 359 e 423 mg L⁻¹ de 93; 352; 504 e 571 mg L⁻¹ e de 78; 310; 408 e 538 mg L⁻¹, durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios de NTK e N-am. no afluente, R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
NTK (mg L ⁻¹)	Afluente	119 a	368 a	835 b	717 b	44	21,7**
	R1	99 a	429 b	511 b	777 c	37	26,6**
	R2	84 a	429 b	633 c	713 c	32	38,8**
N-am. (mg L ⁻¹)	Afluente	80 a	269 ab	359 b	423 c	89	13,3**
	R1	93 a	352 b	504 c	571 c	28	100,3**
	R2	78 a	310 b	408 c	538 d	25	133,1**

c.v. - coeficiente de variação; NTK – Nitrogênio total kildol; N-am. – Nitrogênio amoniacal. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05); p-probabilidade.

É possível verificar diferença estatísticas significativa, durante as fases. Tem-se um aumento claro dos valores de NTK no afluente devido ao aumento de carga durante as fases. Como esperado, o N-am. acompanha essa elevação. No entanto além do aumento evidente da fase 1 para a fase 2, o acúmulo ocorrido durante o tratamento refletiu a conversão de nitrogênio orgânico como resultado da biodegradação anaeróbica. A inibição da amônia foi relatada em valores acima de 1,7 g L⁻¹ para biomassa não aclimatada (ALIA et al., 2022), o que não ocorreu neste trabalho. As concentrações de nitrogênio amoniacal aumentaram no reator UASB devido a reações de amonificação. O mesmo ocorre com o fosfato, que também é liberado na quebra das cadeias orgânicas, elevando os níveis no reator UASB (JUNIOR et al., 2022). Os valores de NTK no R1 são superiores ao valor de NTK do afluente, durante a fase 2 e 4, e no R2 durante a fase 2 e 3, pode estar relacionada ao arraste de lodo, o que pode ser constatado com os valores de sólidos suspensos totais. Uma vez que os valores de sólidos suspensos totais durante a fase 2 no R1 também foi superior ao valor do afluente (2577g L⁻¹ SSV no afluente e 2976 g L⁻¹ de SSV no efluente do R1 g L⁻¹).

Os valores de fósforo total (P-total) (Tabela 11) no afluente foram de 213; 133; 115 e 180 mg L⁻¹. No R1 os valores foram de 69; 54; 40 e 60 mg L⁻¹ e no

R2 de 51; 53; 44 e 50 mg L⁻¹ nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. A remoção de P-total foi de 76; 74 e 44 e 68% no sistema composto pelos reatores R1+R2, nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Os valores de ortofosfato no afluente foram de 16; 30 e 142 e 105 mg L⁻¹, e de 10; 15; 25 e 17 mg L⁻¹ e de 8; 11 e 14 e 10 mg L⁻¹ durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

Os valores de ortofosfato tiveram variações significantes durante as fases, sendo que durante a fase 3 e 4 alcançaram os maiores valores, assim também como maiores porcentagens de remoção pelos reatores.

Tabela 11. Valores médios de P-total (Fósforo total) e ortofosfato, nos reatores R1 e R2, durante as fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
Ortofosfato (mg L ⁻¹)	Afluente	16 a	30 a	143 b	105 b	69	20,4**
	R1	10 a	15 a	25 b	17 ab	48	8,2**
	R2	8 ab	11 ab	14 b	10 ab	47	3,6*
	Remoção (%)						
	R1+R2	44 a	62 a	85 b	90 b	24	18,7**
P-total (mg L ⁻¹)	Afluente	213 a	133 a	115 a	180 a	51	2,0 ns
	R1	69 a	54 a	40 a	60 a	50	1,8 ns
	R2	51 a	53 a	44 a	50 a	55	1,3 ns
	Remoção (%)						
	R1+R2	76 a	74 a	44 a	68 a	40	2,8 ns

c.v. - coeficiente de variação. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05); p - probabilidade.

SCHOTT et al. (2022), trataram efluentes da suinocultura em reatores partidos com a utilização de lodo de inóculo. O afluente nesse caso foi bombeado a cada 2 h por 1 minuto para atingir uma alimentação de 1200 mL d⁻¹, o que corresponde a uma taxa de carga orgânica de 1 g DQO (L⁻¹ d⁻¹). Nessa pesquisa foi adicionado cálcio, o que mostrou um efeito positivo na estabilidade e eficiência do tratamento, aumentando a remoção de fósforo, a qual foi de 60% sem adição de cálcio para 74% com adição do cálcio. No presente estudo não foi utilizado nenhum aditivo com o intuito direto de remoção de fósforo.

OLIVEIRA & SANTANA (2011) trataram efluentes da suinocultura em reatores UASB em série. Para a partida dos reatores UASB, preencheram-se de 20 a 30% do volume de cada reator com lodo de inóculo. Foram aplicadas cargas

orgânicas volumétricas que variaram de 14,8 a 24,4 g DQO (L d)⁻¹. Os TDH foram de 28 e 11 h e de 14 e 6 h no primeiro e segundo reatores UASB, respectivamente, onde obtiveram remoção de fósforo de até 57% no conjunto R1+R2, e apontam que a retenção e/ou precipitação de P-total na manta de lodo pode ser intensificada com maiores tempos de contato. No presente estudo, os valores de remoção de fósforo diminuíram durante a fase 3, mas volta a valores similares a outros estudos durante a fase 4, onde alcançou a remoção de 68%.

Os valores dos nutrientes Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Co e Na (Tabela 12) foram avaliados durante as 4 fases, é possível notar a maior abundância desses elementos no afluente, como também a maior quantidade desses na fase 1, tanto no afluente, como nos efluentes. A maior presença de nutrientes no afluente pode estar fortemente relacionada a elevada excreção desses nos dejetos de suínos, uma vez que esses animais recebem uma dieta rica nestes componentes, no entanto não conseguem absorver de forma total, o que leva a excreção e sua presença nos dejetos. Os valores de nutrientes mais elevados na fase 1, pode estar diretamente relacionado à alimentação fornecida aos animais.

Os efluentes da suinocultura comercial convencional, possuem quantidade significativas de zinco e cobre, os quais são utilizados como aditivos nutricionais na dieta de crescimento desses animais. Porém, esses metais pesados quando liberados no meio ambiente podem migrar para águas subterrâneas e superficiais, e até mesmo se acumular em solos e culturas, exercendo um efeito profundo e negativo na saúde ambiental e humana (ZHOU et al., 2022).

Especificamente o zinco em excesso no organismo humano pode causar incômodos gástricos, alterações dermatológicas, anemia, danos ao pâncreas, distúrbios no metabolismo de proteínas e arteriosclerose. A exposição ocupacional pode causar a “febre do metal”. Além disso pode se acumular em peixes, podendo se bioacumular na teia alimentar. Em relação a contaminação dos solos por esse elemento, pode ocorrer a contaminação dos animais de produção, como também afetar a lavoura. Já em relação a exposição ao cobre, concentrações elevadas podem provocar irritação e corrosão das mucosas em humanos e animais, afetar as funções hepáticas e renais. E pode ainda afetar o sistema nervoso central (CASTRO, 2006). Nesse sentido, a remoção desses metais pesados é de grande importância para posterior uso como biofertilizante

por exemplo.

Tabela 12. Valores médios das concentrações (em mg L⁻¹) e coeficientes de variação (C.V.) de Ca, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Na e Zn durante as fases 1, 2, 3 e 4 no afluente, e efluentes dos reatores R1 e R2.

Parâmetro		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
Cálcio	Afluente	1776 b	377 a	165 a	195 a	100	11,5**
	R1	673 b	299 ab	197 a	227 a	86	3,7*
	R2	611 a	191 a	176 a	157 a	121	2,6 ns
Cobalto	Afluente	0,05 a	0,02 a	0,07 a	0,08 a	83	2,9*
	R1	0,04 ab	0,02 a	0,08 bc	0,13 c	60	0,13**
	R2	0,02 a	0,05 a	0,12 a	0,08 a	87	3,3*
Cobre	Afluente	5,9 a	2,5 a	2,4 a	9,1 a	141	1,7 ns
	R1	1,6 ab	1,2 a	2,4 ab	4,3 b	89	2,7 ns
	R2	0,83 a	2,4 a	4,2 a	1,5 a	104	2,2 ns
Ferro	Afluente	63,9 a	46,7 a	67,7 a	96,0 a	90	0,7 ns
	R1	16,4 a	12,3 a	3,6 a	3,0 a	108	3,0*
	R2	18,0 a	24,8 a	41,8 a	19,9 a	99	1,2 ns
Magnésio	Afluente	527 b	261 ab	76,9 a	133 a	104	4,4**
	R1	364 b	202 ab	83,5 a	85,9 a	88	4,4*
	R2	276 b	159 ab	66,7 a	90,8 a	69	6,0**
Manganês	Afluente	1,99 a	1,64 a	1,10 a	0,01 a	112	1,7 ns
	R1	0,30 ab	0,48 ab	0,56 b	0,01 a	76	3,3*
	R2	0,15 a	0,21 a	0,85 a	0,01 a	193	1,9 ns
Níquel	Afluente	0,14 a	0,12 a	0,4 b	0,4 b	43	13,9**
	R1	0,12 a	0,13 a	0,36 b	0,38 b	48	10,2**
	R2	0,10 a	0,10 a	0,40 b	0,38 b	43	18,5**
Sódio	Afluente	106 a	145 a	426 b	356 b	39	17,7**
	R1	94,1 a	146 a	458 b	388 b	45	15,0**
	R2	120 a	161 a	460 b	339 b	56	8,1**
Zinco	Afluente	5,48 a	1,40 a	1,13 a	1,83 a	174	1,8 ns
	R1	1,48 a	2,34 a	1,11 a	1,80 a	103	0,8ns
	R2	0,84 a	0,92 a	1,81 a	1,80 a	58	3,3*

c.v. - coeficiente de variação. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$); p-probabilidade. ND – Não detectado.

A média de remoção de zinco no presente estudo foi de 40, 33, 51 e 25 %, durante as fases 1, 2, 3 e 4 no sistema de tratamento composto pelos reatores

R1 + R2. Já em relação a remoção de cobre os valores médios foram de 71, 64, 56 e 72%, no sistema de tratamento composto pelos reatores R1 + R2. RAMIRES & OLIVEIRA (2014), obtiveram valores de 20 a 77% de remoção de zinco e de 53 a 89% de cobre, tratando efluentes da suinocultura em reatores UASB já inicializados com inóculo, utilizando COV de 5,5 a 34,4 $DQO_{total} (L d)^{-1}$, valores superiores aos encontrados neste trabalho.

Houve remoção de outros nutrientes, como o ferro; manganês e cálcio. Os valores médios de remoção de ferro no conjunto R1 + R2 foram de 60, 65, 69 e 84% durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. A remoção média de manganês foi de 76, 83, 70 e 31 %, já em relação aos valores médios de remoção de cálcio, esses foram de 82, 57, 12 e 79% durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

5.4 Lodo

Os valores de sólidos totais e sólidos voláteis do lodo estão descritos na Tabela 13. Durante a fase 2, não foi possível realizar a coleta de lodo nos pontos mais altos (P3 e P4), devido a quantidade reduzida e inconsistente de lodo nesses pontos do reator. Já na fase 3, é evidente a presença de lodo nos pontos 3 e 4, o que aponta o desenvolvimento de uma manta de lodo nos reatores.

É possível acompanhar a formação da manta de lodo durante as fases de operação. Na fase 1, a quantidade de sólidos totais é inferior as demais fases. Lembrando que o ponto 1 do reator está localizado na parte inferior do reator. Nessa região é esperado a maior concentração de sólidos e é nesse ponto que se inicia a formação do lodo, e aos poucos ocorre a formação da manta de lodo do reator, evidenciada nas fases seguintes nos pontos 3 e 4, localizado acima do ponto 1. Em relação aos sólidos voláteis esses também foram estatisticamente diferentes entre as fases 1 e as demais. Isso se deve principalmente a carga orgânica aplicada, e ao início da formação do lodo.

Tabela 13. Valores médios de Sólidos Totais (ST) e Sólidos Voláteis (SV) Sólidos Fixos (SF) (valores em g L^{-1}) e relação SV/ST nos reatores durante as fases 1, 2, 3 e 4, nos pontos 1, 2, 3 e 4 dos reatores R1 e R2.

Reator R1		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
Ponto 1	ST	43 a	146 b	124 ab	124 ab	21	7,4*
	SV	24 a	85 b	80 b	85 b	19	9,7**
	SF	19 a	61 b	44 ab	39 ab	26	4,8 ns
	SV/ST	0,59 a	0,58 a	0,64 a	0,68 a	10	1,0 ns
Ponto 2	ST	21 a	69 a	160 a	136 a	11	0,4 ns
	SV	13 a	50 a	45 a	52 a	86	0,5 ns
	SF	8 a	19 a	115 a	84 a	134	0,8 ns
	SV/ST	0,62 a	0,73 a	0,72 a	0,68 a	14	0,61 ns
Ponto 3	ST		57 a	96 b	94 b	8	62,1**
	SV		45 a	69 a	72 a	57	0,3 ns
	SF		12 a	27 a	22 a	67	0,6 ns
	SV/ST		0,79 a	0,71 a	0,82 a	9	1,7 ns
Ponto 4	ST		42 a	76 a	37 a	120	0,96 ns
	SV		34 b	58 c	19 a	11	49,5**
	SF		8 a	18 a	18 a	200	1,3 ns
	SV/ST		0,80 a	0,76 a	0,61 a	16	1,4 ns

Reator R2		Fases				C.V. %	Teste F
		1	2	3	4		
Ponto 1	ST	17 a	26 a	61 a	74 a	56	2,1 ns
	SV	12 a	21 a	60 a	54 a	44	4,2 ns
	SF	5 a	5 a	1 a	20 a	121	1,8 ns
	SV/ST	0,68 a	0,79 a	0,98 b	0,76 a	6	19,2**
Ponto 2	ST	2 a	4,5 a	59,8 a	52 a	50	7,4*
	SV	1 a	4 a	59 b	43 ab	47	9,3**
	SF	1 a	0,5 a	0,8 a	9 a	97	5,1 ns
	SV/ST	0,55 a	0,88 b	0,98 b	0,82 b	9	13,7**
Ponto 3	ST		4 a	3,7 a	63 b	1	1
	SV		2 a	3 a	53 b	31	32**
	SF		2 a	0,7 a	10 a	34	35 ns
	SV/ST		0,48 a	0,85 b	0,84 b	11	14,8**
Ponto 4	ST		8,7 a	4 a	5 a	46	1,4 ns
	SV		8 a	3 a	3 a	71	1,6 ns
	SF		0,7 a	1 a	2 a	42	2,4 ns
	SV/ST		0,85 a	0,69 a	0,59 a	17	18 ns

Valores (g L^{-1}) c.v. - coeficiente de variação. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% e probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$); p-probabilidade.

Acompanhou-se a formação da manta de lodo dos reatores anaeróbios, e suas diferenças entre as fases. A Figura 7, mostra a foto lodo anaeróbio, do reator 1 durante a fase 4. É possível identificar um lodo de aspecto granular.



Figura 7. Aspecto macroscópico do lodo anaeróbio do reator R1, durante a fase 4. Lodo bruto e lodo lavado, respectivamente.

5.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Durante a fase 4, foi realizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) do lodo do reator 1 (Figura 8). Verificou-se arranjos dispersos das morfologias semelhantes a *methanosaeta*.

A carga orgânica aplicada ao reator UASB, também tem influência na formação microbiológica do lodo granular, e na prevalência das espécies. Quando a COV é aumentada, o gênero *Methanosaeta* evoluem para a forma de bastonetes, garantindo a formação de agregados mais compactos (SCHMIDT & AHRING, 1996).

Na imagem Figura 8, em (A) é possível verificar o grânulo de lodo, o qual é formado pelos arranjos de bactérias. Em (B) observa-se uma região mais interna do lodo. Em (C) a seta branca indica a predominância de bactérias filamentosas. Em (D) tem-se bactérias na forma de bacilos (seta branca) e coccus (sarcinas), indicada pela seta preta. Os agregados de cocos são semelhantes ao gênero *Methanosarcina*.

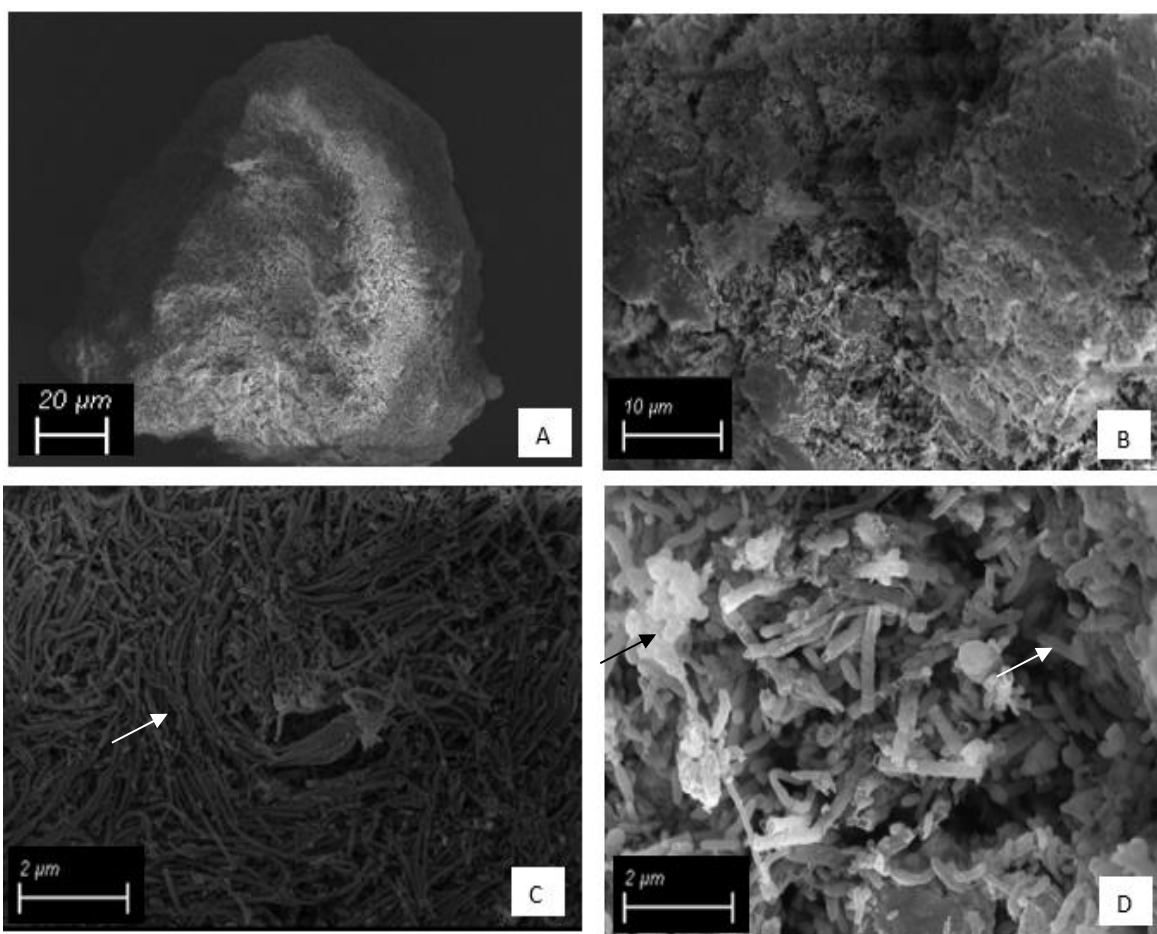


Figura 8. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do lodo durante a fase 4.

A Figura 9, mostra a microscopia eletrônica do biochar, é possível verificar a porosidade do material e o aspecto microscópico da sua superfície.

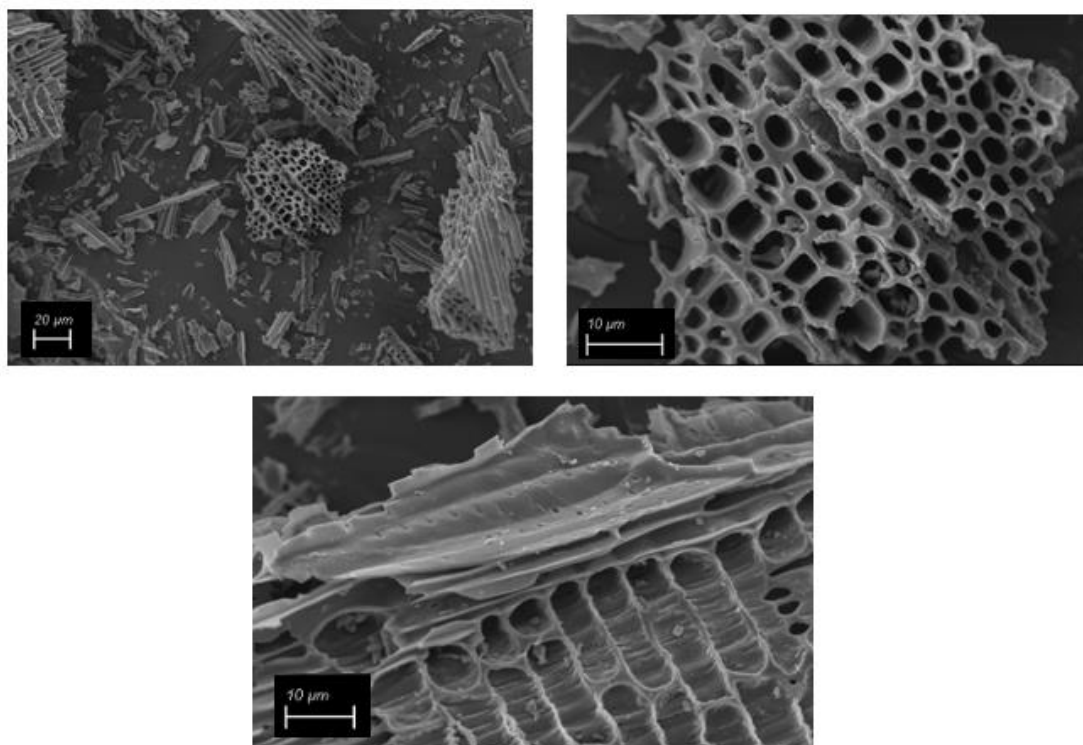


Figura 9. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MVE) do Biochar de eucalipto utilizado no experimento.

5.6 Quantificação Bacteriana

A tabela 14 apresenta os valores de coliformes totais e coliformes termotolerantes, com as médias geométricas do Número Mais Provável, no dejetto bruto (sem diluição), no afluente e efluente dos reatores R1 e R2 durante as fases 1; 2 e 3. A tabela 15 apresenta as médias da população de Enterobactérias controle e resistentes à diversas concentrações de Ampicilina, durante as fases 1; 2; 3 e 4.

Tabela 14. Valores médios do Número Mais Provável (NPM) de coliformes totais e termotolerantes no dejetto bruto, nos afluentes e efluentes dos reatores R1 e R2, e eficiência de remoção, ao final da fase 1, 2 e 3.

Fase	Amostra	Coliformes Totais (NMP/mL)	Coliformes Termotolerantes (NMP/mL)
1	Dejeto bruto*	$1,1 \times 10^6$	$9,3 \times 10^4$
	Afluente	$> 1,1 \times 10^6$	$> 1,1 \times 10^6$
	R1	$1,5 \times 10^6$	2×10^5
	R2	$2,1 \times 10^5$	3×10^3
	Remoção R1+R2 (%)	80,90	99,72
2	Afluente	$> 1,1 \times 10^6$	$> 1,1 \times 10^6$
	R1	$> 1,1 \times 10^6$	$> 1,1 \times 10^6$
	R2	$2,1 \times 10^6$	$3,6 \times 10^4$
	Remoção R1+R2 (%)	81,81	96,72
3	Afluente	$> 1,1 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$
	R1	$> 1,1 \times 10^6$	$9,3 \times 10^4$
	R2	$1,5 \times 10^5$	$7,5 \times 10^3$
	Remoção R1+R2 (%)	86,36	95,00

* NMP/g

A concentração de coliformes totais e termotolerantes foram superiores no afluente, sendo as menores concentrações no reator 2 durante as três fases. A maior eficiência de remoção de coliformes totais ocorreu durante a fase 3, na qual ocorreu remoção de menos que uma unidade logarítmica, em termos percentuais de 86,36% de remoção quando avaliado o sistema de tratamento (R1+R2). Já em relação a remoção de coliformes termotolerantes, a maior remoção ocorreu na fase 1, alcançando a remoção de duas unidades logarítmicas, em termos percentuais de 99, 72% de remoção (R1+R2).

RAMIRES e DE OLIVEIRA (2014) tratando águas residuárias da suinocultura com parâmetros operacionais de TDH de 36 e 18 h e COV de 5,5 a 34,4 g DQO (L d)⁻¹, evidenciaram valores superiores de concentrações de coliformes totais e termotolerantes no afluente, os quais variaram de $6,64 \times 10^8$ NMP (100 mL)⁻¹ a $1,15 \times 10^{10}$ NMP (100 mL)⁻¹ e $5,54 \times 10^8$ NMP (100 mL)⁻¹ a $4,89 \times 10^9$ NMP (100 mL)⁻¹, respectivamente. No sistema de tratamento em dois estágios, com reatores UASB, onde houve reduções nas concentrações de

coliformes totais de 99,81 para 99,99% e de coliformes termotolerantes de 99,73 para 99,99%.

Tabela 15. Médias da população de enterobactérias controle e resistentes à diversas concentrações de ampicilina (AMP) nos afluentes, efluentes e lodo dos reatores UASB tratando águas residuárias de suinocultura nas fases 1 a 4.

Contagem de enterobactérias (UFC/mL)	Ágar Mac-Conkey (controle)	Ágar Mac-Conkey + AMP (10 µg mL ⁻¹)	Ágar Mac-Conkey + AMP (32 µg mL ⁻¹)	Ágar Mac-Conkey+ AMP (45 µg mL ⁻¹)	Ágar Mac-Conkey + AMP (64 µg mL ⁻¹)
Fase 1	Afluente	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	R1	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	R2	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	Lodo R1	1,5×10 ⁵	8,0×10 ⁴	3,0×10 ⁴	7,0×10 ⁴
	Lodo R2	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
Fase 2	Afluente	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	R1	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	R2	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	Lodo R1	7,8×10 ⁵	3,2×10 ⁵	3,6×10 ⁵	3,7×10 ⁵
	Lodo R2	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
Fase 3	Afluente	3,2×10 ⁵	2,5×10 ⁵	1,7×10 ⁵	1,7×10 ⁵
	R1	3,4×10 ⁴	7,0×10 ⁴	8,0×10 ⁴	6,0×10 ⁴
	R2	6,5×10 ⁵	3,5×10 ⁵	9,0×10 ⁵	7,0×10 ⁵
	Lodo R1	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
	Lodo R2	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10	≤1,0×10
Fase 4	Afluente	2,4×10 ⁴	2,4×10 ⁴	2,4×10 ⁴	2,4×10 ⁴
	R1	4,5×10 ⁵	3,2×10 ⁵	3,0×10 ⁵	3,4×10 ⁴
	R2	3,2×10 ⁵	3,0×10 ⁵	3,0×10 ⁵	8,0×10 ⁴
	Lodo R1	6,0×10 ⁴	5,0×10 ³	4,0×10 ³	2,0×10 ³
	Lodo R2	1,4×10 ⁴	7,0×10 ³	5,0×10 ³	2,0×10 ³

UFC – unidade formadora de colônia.

A presença de Enterobactérias resistentes a ampicilina no afluente e efluentes da fase 1 é inferior a fase 4, isso se deve principalmente a carga orgânica volumétrica reduzida ($2\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$), aplicada nos reatores.

Durante a fase 1, é notória a presença desses microrganismos no lodo do reator R1, possivelmente devido a formação da manta de lodo e acúmulo nesta. Na análise controle (sem adição de antibiótico) o valor encontrado foi de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL e, conforme o aumento da concentração de antibiótico é possível acompanhar a redução dos microrganismos resistentes. Na concentração mais elevada, de $64 \mu\text{g/mL}$ tem-se o valor de 4×10^4 . Nas demais amostras da mesma fase não foram encontrados valores elevados.

Durante a fase 2, é observado o mesmo padrão encontrado na fase 1, porém em quantidades mais elevadas, a COV na fase 2 era de $2\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$. No lodo do reator 1, são encontradas bactérias resistentes a ampicilina. Na amostra controle, esse valor é superior as demais concentrações utilizadas, sendo que o valor ($7,8 \times 10^5$) é maior que o encontrado na fase 1 ($1,5 \times 10^5$).

Durante a fase 2, as bactérias resistentes ainda são encontradas na amostra com concentração máxima de ampicilina ($4,7 \times 10^5$); valor superior as demais concentrações, porém em menor quantidade que na amostra controle.

Durante a fase 3 onde a COV é consideravelmente elevada ($19\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$), tem-se valores de bactérias resistentes no afluente sendo a amostra controle o maior valor, reduzindo durante as outras concentrações e encontrando-se um aumento na concentração máxima ($2,8 \times 10^5$).

No reator R1 e R2 as bactérias resistentes também estão presentes em quantidades consideráveis, estando em quantidades inferiores no reator R1. No entanto durante a fase 3 não foi detectado bactérias resistentes no lodo do reator R1 e no lodo do reator R2.

Durante a fase 4, onde o valor médio da COV foi de $21\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, foram detectadas bactérias resistentes no afluente em todas as concentrações de $2,4 \times 10^4$. Esses valores não são reduzidos nos R1 e no R2, no entanto aparecem inferiores no lodo do R1 e R2, sendo de $2,0 \times 10^3$ no lodo dos dois reatores na concentração de $64 \mu\text{g/mL}$. No entanto nessa fase é possível verificar a redução de bactérias resistentes no lodo dos reatores.

Pu et al. (2018) relataram que a digestão anaeróbia enriquece bactérias resistentes a antibióticos. Em geral, a razão para o enriquecimento de ARGs em produtos de digestão anaeróbica não foi razoavelmente explicada. Autores

relataram que ARGs, incluindo genes de resistência aumentou após digestão anaeróbica em quatro sistemas de tratamento de águas residuais de granjas de suínos.

MACHADO et al. (2021) quantificou a ocorrência de bactérias resistentes a ampicilina durante o tratamento de esgoto de uma estação de tratamento de esgoto (ETE), com reatores anaeróbios (UASB) seguidos de filtros biológicos percoladores, em escala plena. As concentrações de bactérias heterotróficas cultiváveis variaram de 4,8 a 6,0 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no efluente bruto; de 4,3 a 6,1 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no efluente tratado; e de 4,8 a 7,6 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no lodo. Já em relação as bactérias resistentes à ampicilina os valores foram de 4,3 a 5,8 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no efluente bruto; 3,8 a 5,5 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no efluente tratado e 5,5 a 6,8 $\log_{10}$ UFC.mL⁻¹ no lodo. Onde foi realizado o sequenciamento de 33 cepas isoladas resistentes à ampicilina, onde cerca de 58% dessas, foram identificadas como sendo membros da família Enterobacteriaceae. Os bastonetes Gram-negativos pertencentes à família Enterobacteriaceae são comumente encontrados no intestino de humanos e animais, e possuem a capacidade de desencadear infecções, como por exemplo a *E. coli*; espécies de *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* Mas verificou-se que não houve redução significativa na concentração das bactérias resistentes à ampicilina. No entanto, a remoção do indicador de contaminação fecal (*E. coli*) foi de 1 unidade log, mostrando a importância de ampliar o monitoramento dos efluentes tratados, uma vez que a concentração do indicador de contaminação fecal pode não se correlacionar com outros parâmetros analisados (MACHADO et al., 2021).

Nesse sentido, YANG et al. (2021) verificaram que a abundância de genes de resistência a antimicrobianos foi significativamente correlacionada negativamente com a produção diária de metano, portanto, a adição de biochar, na digestão anaeróbia de dejetos de suínos, poderia aumentar a produção de metano e reduzir a disseminação desses genes concomitantemente.

O real efeito da digestão anaeróbia sobre a remoção de bactérias resistentes dos afluentes da suinocultura, ainda não estão elucidados por completo, essa interação é complexa, e depende de inúmeros fatores, esse trabalho controlou a variável da temperatura, para otimização das bactérias metanogênicas, no entanto os resíduos de antimicrobianos, podem afetar a digestão anaeróbia de forma negativa, nesse sentido o uso do biochar foi a

opção de escolha na tentativa de otimizar o sistema, reduzindo as interferências negativas e otimizando o processo.

Na fase 3, nota-se a presença de bactérias resistentes nos efluentes do R1 e R2, o que não se evidencia durante as fases 1 e 2. O aumento da COV, e da produção de gás, pode ter influência no aumento de bactérias resistentes no efluentes, em razão do arraste de lodo, uma vez que estas já estavam presentes no lodo do R1 e do R2 durante a fase 1. É importante ressaltar também, que não se evidencia ausência total de bactérias resistentes nos afluentes durante a fase 1 e 2. Durante a fase 4, é notória a redução de bactérias resistentes no afluente, o que pode ter relação com a adição do biochar neste, uma vez que não houve alteração significativa da COV, ou de qualquer outro parâmetro de operação. No entanto, no efluente do R1 e do R2, não ocorreu essa redução, o que pode ser devido a aderência das bactérias resistentes ao biochar, dentro dos reatores.

A ocorrência de bactérias resistentes nas concentrações de até 64 µg/mL, aponta a importância de um controle na utilização de antimicrobianos na produção de suínos, o uso indiscriminado dos mesmos pode levar a problemas de saúde única. Além disso, aponta a importância do tratamento desses efluentes de maneira adequada e o descarte e/ou reutilização dos produtos de maneira correta em locais e culturas apropriadas, evitando o risco de contaminação ambiental, como também da população que está diretamente exposta a esse risco biológico.

5.7 Diversidade Microbiana

A diversidade de bactérias e de arqueias foi realizada por meio da análise metagenômica do lodo do reator UASB R1 durante as fases 1, 2, 3 e 4.

A análise metagenômica refere-se à coleta de informações genéticas completas do genoma microbiano coletivo, presente em uma amostra específica. Por meio dessa técnica é possível confirmar a presença ou ausência de organismos ou genes específicos em um microbioma (RANI et al., 2022).

A análise da diversidade de arqueias e bactérias no R1 identificou 25 diferentes filos. Em relação as bactérias, os filos *Firmicutes*; *bacterioidota*; *Chloroflexi* e *Proteobacteira* são os mais relativamente abundantes durante as quatro fases. Em relação as arqueias, tem-se a abundância dos filos *Halobacterota*; *Euryarchaeota* e *Thermoplasmatota* em maior concentração.

A Figura 10, 11 e 12 mostram a abundância relativa dos filos e gêneros identificados durante as quatro fases de tratamento, no reator 1.

A abundância do filo *Firmicutes* foi de 63; 57; 54 e 50% e do filo *bacterioidota* foi de 23; 28; 22 e 14% durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Observa-se a redução da abundância desses filos ao decorrer das fases, ocorrendo uma maior diversificação de filos durante a fase 4.

A abundância de *Firmicutes* e *Bacteroidetes* em reatores anaeróbios, está associada à abundância de *Proteobacteria* em vários estudos. Esses microrganismos são importantes no processo de digestão anaeróbia e geralmente são encontrados em digestores mesófilos, principalmente em reatores utilizados para tratamento de águas residuais (NIYA et al., 2024).

É relatado que *Bacteroidetes* e *Firmicutes* desempenham papéis fundamentais na hidrólise e degradação de lignocelulose e materiais proteicos, devido à secreção de várias enzimas extracelulares, como celulase, celobiohidrolase, protease e ligninase. O aumento seletivo de *Bacteroidetes* em condições de alta concentração de sólidos totais parece estar relacionado à observação de elevadas quantidades de proteína e à produção de ácidos graxos voláteis em reatores com maiores teores de sólidos (XU et al., 2022).

ZHANG et al. (2021), identificou um total de 164 gêneros em amostras de águas residuais da suinocultura, e os gêneros dominantes incluíram *Arcobacter*, *Lactobacillus*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium*, *Peptostreptococcaceae*, *Acinetobacter*, *Sphaerochaeta* e *Pseudomonas*.

No presente estudo, *Acinetobacter* e *Peptostreptococcaceae* também foram identificados durante as fases de operação do sistema de tratamento.

As bactérias ativas durante a fase metanogênica são agrupadas em um conjunto distinto, conhecido como arqueias. Estas possuem características singulares em comparação com as eubactérias e eucariontes, especialmente em relação às suas coenzimas. Os principais táxons conhecidos por seu alto potencial metanogênico são classificados em nível de gênero como *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanothermobacter*, *Methanoculleus* e *Methanobrevibacter* (NIYA et al., 2023).

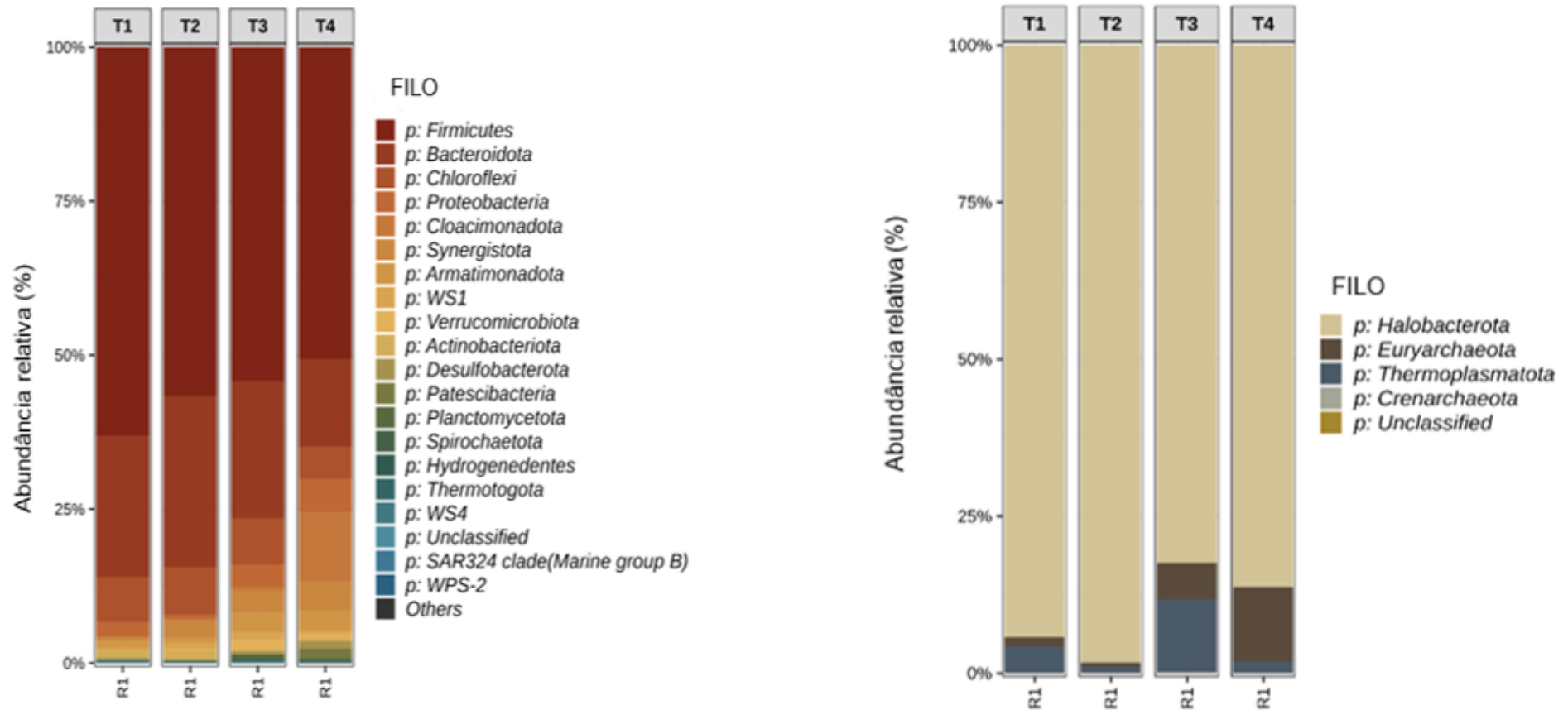


Figura 10. Abundância relativa (%) dos fillos de Bactérias e Arqueias no Reator 1 (R1), durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.

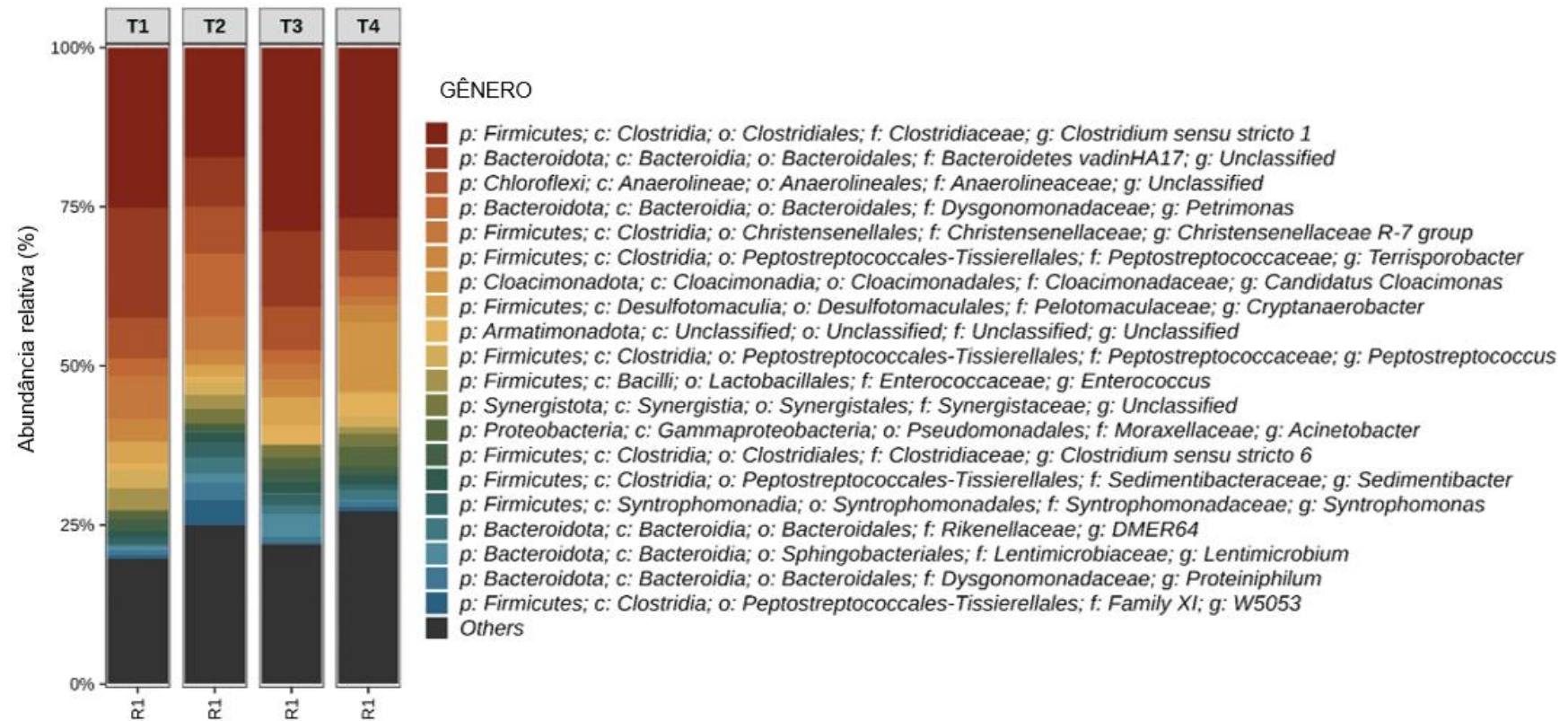


Figura 11. Abundância relativa (%) dos gêneros de Bactérias identificadas no reator 1 (R1) durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.



Figura 12. Abundância relativa (%) dos gêneros de Arqueias identificadas no reator 1 (R1) durante as fases 1 (T1); 2 (T2); 3 (T3) e 4 (T4) respectivamente.

Em relação aos metanógenos, esses têm grande importância durante a digestão anaeróbia, determinando a capacidade e a quantidade de metano produzido. SUI et al. (2019) identificou em nível de gênero que *Methanosaeta*, *Methanosarcina* e *Methanobrevibacter* foram as espécies principais. *Methanosarcina* e *Methanosaeta* foram os dois principais metanógenos.

No presente estudo, verificou-se a presença do gênero *Methanosaeta* em maior abundância durante as quatro fases. *Methanobacterium*; *methanomassiliicoccus*; *methanospirillum*; *methanosarcina*; *candidatus methanofastidiosus*; *methanoculleus*; *methanobrevibacter*; *methanosphaera*; e *candidatus meyanoplasma*. Durante as quatro fases de operação, a presença do gênero *Methanosaeta*, foi a mais abundante, com valores de 90; 97; 73 e 80% de abundância relativa, durante as fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Em relação a *Methanosarcina*, foi identificada nas 4 fases, com valores de abundância relativa de 4; 1; 1 e 1% durante as fases, 3 e 4, respectivamente.

Methanomassiliicoccus também, foi identificado durante as quatro fases, mas durante a fase 3, teve abundância relativa maior do que nas demais fases (12%). *Methanomassiliicoccus* produz apenas metano com hidrogênio e metanol, mesmo não sendo o mais abundante, poderia estar relacionado a funções importantes para manter a estabilidade do processo (SUI et al., 2019).

Já *Methanospirillum*, foi identificado durante as fases 3 e 4, com valores de abundância relativa de 8 e 5% respectivamente. E *Methanobrevibacter* foi identificado nas 4 fases, com valor de abundância relativa inferiores a 1%.

Em relação a *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* e *Chloroflexi*, esses desempenham funções importantes na acidificação hidrolítica anaeróbia. *Firmicutes* contém uma variedade de bactérias fermentativas hidrolíticas e produtoras de ácidos, as quais produzem os ácidos propiônico e acético, que contribuem para a remoção de matéria orgânica complexa. *Chloroflexi* e *Proteobacteria* também são consideradas bactérias hidrolíticas (ZHANG et al., 2023).

Em relação aos gêneros de bactérias mais abundantes no R1, dentro do filo *Firmicutes*, destacam-se o *Clostridium sensu stricto 1*, que possui grande importância na digestão anaeróbia, em razão de serem bactérias fermentadoras estritamente anaeróbias. Seguido pela família *Bacteroidetes vadinHA17*. No filo *Chloroflexi*, tem-se a identificação de bactérias da família *Anaerolineaceae* e no *Proteobacteria*, o gênero *Acinetobacter*.

MENG et al. 2023, investigaram espécies microbianas durante o tratamento de águas residuais contendo amoxicilina em um reator anaeróbio. Os microrganismos observados ao nível de filo responsáveis pela degradação da amoxicilina foram: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* e *Thermotogae*. Em outro estudo examinaram o efeito da cefalexina na composição microbiana durante a digestão anaeróbia. Em nível de gênero, *Gelria* e *Syntrophorhabdus* foram dominantes e estiveram envolvidos na degradação de contaminantes orgânicos e *Methanobacterium* foi o principal metanogênio envolvido na produção de metano durante a exposição a antibióticos.

ZHANG et al. (2023), analisando as mudanças na produção de metano, observaram que as arqueias metanogênicas *Methanothrix*, *Methanosarcina* e *Methanobacterium* foram os três principais gêneros de arqueias com a maior abundância relativa, e sua abundância total foi superior a 85%. As arqueias *Methanothrix*, *Methanosarcina* e *Methanobacterium* pertencem a metanógenos acetoclásticos, multivias e metanógenos hidrogenotróficos, respectivamente. Com a adição de antimicrobiano a abundância total de *Methanothrix* e *Methanosarcina* diminuiu 17% e 20%, enquanto a abundância de *Methanobacterium* aumentou 33% e 67%, respectivamente. Isto indicou que os metanógenos hidrogenotróficos tiveram maior utilização de substrato, taxa de crescimento e rendimento celular quando expostos a uma alta concentração de antimicrobiano (ZHANG et al., 2023).

CHEN et al. (2023) tratando efluentes da suinocultura em reatores UASB, verificou que os filos *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Actinobacteriota* e *Proteobacteria* foram os mais abundantes. *Firmicutes* tornou-se o filo mais dominante no reator UASB com 65,7% de abundância. As bactérias anaeróbias que pertencem a esse filo, tem a capacidade de produzir diversas enzimas relacionadas à quebra de compostos orgânicos complexos, como as proteínas e gorduras. Sendo o filo bacteriano dominante na acidificação hidrolítica. Na pesquisa de CHEN et al. (2023) o reator UASB, tratando efluentes da suinocultura, obteve maior abundância de *Desulfobacterota* (6,1%) e *Synergistota* (4,3%), o que pode ser atribuído a sulfetos e antibióticos presentes. *Desulfobacterota* inclui principalmente várias bactérias redutoras de sulfato, que competem com arqueias produtoras de metano por hidrogênio e acetato. Em relação aos gêneros bacterianos, os três principais foram *Terrisporobacter*, *Turicibacter*, e *Clostridium sensu stricto 1*, pertencentes a *Firmicutes*, esses desempenham

papéis cruciais na produção de ácidos graxos voláteis. Em relação as arqueias o gênero mais abundante no reator UASB foi de *Methanosaeta* (58,6%).

Outros gêneros como *Terrisporobacter*, *Syntrophomonas* também foram detectados no presente estudo. Além disso, outros gêneros não classificados também foram encontrados no reator R1, o que demonstra a diversidade microbológica do reator anaeróbio.

CONCLUSÃO: Foi possível verificar estabilidade do sistema de tratamento e remoções adequadas de DQO_{total} com valores médios de até 83% no sistema composto pelos reatores R1 e R2, além da remoção de nutrientes nos reatores autoinoculados, tratando efluentes da suinocultura. Mostrando a possibilidade de iniciar reatores UASB em um tempo relativamente curto (três meses) sem o uso de inóculo. O aumento gradativo da COV levou a acréscimos na produção volumétrica de metano, com porcentagem de metano de até 79% no reator R1. Foram detectadas Enterobactérias resistentes a ampicilina no lodo dos reatores autoinoculados, o que demonstra a importância do tratamento e descarte adequado do lodo. O efeito do biochar no tamponamento do sistema, não foi detectado, uma vez que os reatores já se encontravam em estabilidade. No entanto, o biochar pode ser o responsável por melhorias na porcentagem de metano, como também é notória a sua contribuição na formação de biofilmes e colonização bacteriana do mesmo, por arqueias metanogênicas. O gênero de arqueia mais abundante no reator 1 durante as 4 fases, foi a *Methanosaeta*.

REFERÊNCIAS

ABAKARI G et al. The use of biochar in the production of tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc technology system—BFT. **Aquacult Eng** 91:102123, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102123>

ABCS, Associação Brasileira dos Criadores de Suínos. Suinocultura termina 2022 em lenta recuperação e demonstra bons sinais 2023, 13 de dez 2022. Disponível em: <<https://abcs.org.br/noticia/suinocultura-termina-2022-em-lenta-recuperacao-e-demonstra-bons-sinais-2023/>>. Acesso em: 08 set 2023.

ADRIANUS et al. PROSAB: Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo - Coletânea de Trabalhos Técnicos - 1999.

AHMAD MR et al Improvement effect of pyrolyzed agro-food biochar on the properties of magnesium phosphate cement. **Sci Total Environ** 718:137422 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137422>

ALBERNAZ-GONÇALVES, R.; ANTILLÓN, G. O.; HÖTZEL, M. J. Linking Animal Welfare and Antibiotic Use in Pig Farming — **A Review Animals MDPI**, 1 jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani12020216>

APHA, AWWA, WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed., American Public Health Association, Washington, DC, 2005.

ASLAM, A. KHAN S, J. SHAHZAD, H, M, D. Anaerobic membrane bioreactors (AnMBRs) for municipal wastewater treatment- potential benefits, constraints, and future perspectives: An updated review. **Science of The Total Environment**, Volume 802, 1 Jan. 2022, 149612. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149612>

AWASTHI, M. K. Engineered biochar: A multifunctional material for energy and environment. **Environmental Pollution**, v. 298, 1 abr. 2022. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.118831

AZIZ, A.; SENGAR, A.; BASHEER, F.; FAROOQI, I. H.; ISA, M. H. Anaerobic digestion in the elimination of antibiotics and antibiotic-resistant genes from the environment – A comprehensive review *Journal of Environmental Chemical Engineering* Elsevier Ltd, 1 fev. 2022. DOI: [10.1016/j.jece.2021.106423](https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106423).

CARNEIRO, R. B.; GOMES, G. M.; ZAIAT, M.; SANTOS-NETO, Á. J. Two-phase (acidogenic-methanogenic) anaerobic fixed bed biofilm reactor enhances the biological domestic sewage treatment: Perspectives for recovering bioenergy and value-added by-products. **Journal of Environmental Management**, v. 317, 1 set. 2022. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115388

CREMONEZ, P. A.; TELEKEN, J. G.; WEISER MEIER, T. R.; ALVES, H. J. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. **Journal of**

Environmental Management Academic Press, 1 mar. 2021. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111854

BARROSO JÚNIOR, J. C. A.; SILVA, M. C. DE A.; HOYOS, N. L. M., & MONTEGGIA, L. O. Evaluation of UASB effluent post-treatment in pilot-scale by microalgae HRP and macrophytes pond for nutrient recovery. **Journal of Cleaner Production**, 357, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131951>

BEZERRA, S. A. Gestão Ambiental da Propriedade Suinícola: um modelo baseado em um biosistema integrado. p. 270. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), UFSC, Florianópolis, 2002.

BIYENSA GURMESSA, ESTER FOPPA PEDRETTI, STEFANIA COCCO, VALERIA CARDELLI, GIUSEPPE CORTI. Manure anaerobic digestion effects and the role of pre- and post-treatments on veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes removal efficiency, **Science of The Total Environment**, V. 721, 2020, 137532, ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137532>.

BONUGLI-SANTOS, R. C.; MARTERES, T. J.; LUIZ, F. N.; SOMER, J. G.; MARI, Â. G.; PASSARINI, M. R. Z. Prolonged acetogenic phase and biological succession during anaerobic digestion using swine manure. **Folia Microbiologica**, v. 67, n. 5, p. 733–745, 1 out. 2022. DOI: 10.1007/s12223-021-00937-2

BRASIL, Instrução Normativa Nº 113, de 16 de dezembro de 2020, Estabelecer as boas práticas de manejo e bem-estar animal nas granjas de suínos de criação comercial. Diário Oficial da União: Brasília, DF, seção 1, edição 242, p. 5, 18 dez. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-113-de-16-de-dezembro-de-2020-294915279>.

CAMPOS, C. M. M.; CARMO, F. R.; BOTELHO, C. G. Desenvolvimento e operação de reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala laboratorial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 140-147, 01-2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000100020>

CASSINI, S. T.; COELHO, S. T.; PECORA, V. Biogás- Biocombustíveis ANP. In: Carlos Augusto G. Perlingeiro. (Org.). Biocombustíveis no Brasil - Fundamentos, Aplicações e Perspectivas. C. Rio de Janeiro: **Synergia Editora**, 2014, v. 1, p. 136-167.

CHEN, H., YUAN, J., YANG, E., YANG, T., SHI, L., LIU, Z., YU, H., CAO, J., KONG, Z., ZHOU, Q., & CHEN, J. Swine wastewater treatment using combined up-flow anaerobic sludge blanket and anaerobic membrane bioreactor: Performance and microbial community diversity. **Bioresource Technology**, 128606, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128606>

CHENG, D. L., NGO, H. H., GUO, W. S., CHANG, S. W., NGUYEN, D. D., KUMAR, S. M., DU, B., WEI, Q., & WEI, D. Problematic effects of antibiotics on anaerobic treatment of swine wastewater. In **Bioresource Technology**, Vol. 263, pp. 642–653, 2018. Elsevier Ltd. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.010>

CHERNICHARO, C.A.L. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Vol. 5 – Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte: Segrac, 1997. 246 p

CHIAPPERO, M.; NOROUZI, O.; HU, M.; DEMICHELIS, F.; BERRUTI, F.; DI MARIA, F.; MAŠEK, O.; FIORE, S. Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 131, 2020, 110037. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110037>.

DA SILVA, M. L. B. et al. Assessment of bacterial and archaeal community structure in swine wastewater treatment processes. *Microbial Ecology*, v. 70, n. 1, p. 77-87, 2015. DOI: [10.1007/s00248-014-0537-8](https://doi.org/10.1007/s00248-014-0537-8)

DENG, L.; ZHENG, D.; ZHANG, J.; YANG, H.; WANG, L.; WANG, W.; HE, T.; ZHANG, Y. Treatment and utilization of swine wastewater – A review on technologies in full-scale application. **Science of the Total Environment** Elsevier B.V., 1 jul. 2023. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2023.163223](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163223)

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, Alexandria, v. 33, n. 4, p. 356-365, 1961.

DINNEBIER, H. C. F., MATTHIENSEN, A.; MICHELON, W.; TÁPPARO, D. C.; FONSECA, T. G.; FAVRETTO, R.; STEINMETZ, R. L. R.; TREICHEL, H.; ANTES, F. G.; KUNZAB, A. Phycoremediation and biomass production from high strong swine wastewater for biogas generation improvement: An integrated bioprocess. **Bioresource Technology**, v. 332, n. 125111, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125111>

DUDA, R. M.; VANTINI, J. S.; MARTINS, L. S.; VARANI, A. M.; LEMOS, M.V.; FERRO, M. I. T.; OLIVEIRA, R. A. A balanced microbiota efficiently produces methane in a novel high-rate horizontal anaerobic reactor for the treatment of swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 152-160, 2015. DOI: [10.1016/j.biortech.2015.08.004](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.004)

DUDA, R.M.; OLIVEIRA, R.A. Reatores anaeróbios operados em batelada sequencial, seguidos de lagoas de polimento, para o tratamento de águas residuárias de suinocultura. Parte I: produção de metano e remoção de DQO e de sólidos suspensos. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 122-134, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162009000100013>

DUDA, R.M.; OLIVEIRA, R.A. Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator UASB e filtro anaeróbio em série seguidos de filtro biológico percolador. **Eng Sanit Ambient**, v.16 n.1 p. 91-100, 2011. DOI: <https://www.scielo.br/j/esa/a/vK5XyytR8WQFKFTxzskpMFw/?lang=pt&format=pdf>

DYAR, O. J, ZHANG, T.; PENG, Y.; SUN, M.; SUN, C.; YIN, J.; DING, L.; SUN, C.; WANG, Y.; SUN, Q.; GREKO, C.; LUNDBORG, C. S. Knowledge, attitudes and practices relating to antibiotic use and antibiotic resistance among backyard pig farmers in rural Shandong province, China. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 175, n.104858, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104858>

EMBRAPA. Manual Brasileiro de Boas Práticas Agropecuárias na Produção de Suínos / Revisão técnica Armando Lopes do Amaral. [et al.] – Brasília, DF: ABCS; MAPA; Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. 140 p.; 29,7 cm.

ENGELAGE, E., ET AL. Análise de Custos na Suinocultura: Suinocultores X Empresas Integradoras. In: XXII Congresso Brasileiro de Custos Anais, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 11 a 13 de novembro de 2015. DOI: <https://anaiscbc.emnuvens.com.br/anais/article/viewFile/3925/3926>

F.-X. PHILIPPE, B. NICKS, Review on greenhouse gas emissions from pig houses: Production of carbon dioxide, methane and nitrous oxide by animals and manure, Agriculture, **Ecosystems & Environment**, Volume 199,2015, Pages 10-25, ISSN 0167-8809. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.08.015>.

FERNANDES, G.F.; OLIVEIRA, R.A. Desempenho de processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para tratamento de águas residuárias de suinocultura, **Engenharia agrícola**, Jaboticabal, v. 26, n.1, p. 243-256, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162006000100027>

FRIEDMAN, N. D.; TEMKIN, E.; CARMELI, Y. The negative impact of antibiotic resistance. **Clinical Microbiology and Infection** Elsevier B.V., 1 maio 2016. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.12.002

GAWROŃSKA, M.; KOWALIK, M.; MAKOWSKI, M. Recent advances in medicinal chemistry of ampicillin: Derivatives, metal complexes, and sensing approachesTrAC - **Trends in Analytical Chemistry** Elsevier B.V., 1 out. 2022. DOI: [10.1016/j.trac.2022.116691](https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116691)

GERARDI, M.H. The microbiology of anaerobic digesters New Jersey: **Wiley & Sons**, 2003. 130p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/0471468967>

HAOSAGUL, S.; PROMMEENATE, P.; HOBBS, G.; PISUTPAISAL, N. Sulfide-oxidizing bacteria community in full-scale bioscrubber treating H₂S in biogas from swine anaerobic digester. **Renewable Energy**, v. 150, p. 973–980, 1 maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130337>

H. LECLERC, D. A. A. MOSSEL, S. C. EDBERG, C. B. STRUIJK. Advances in the Bacteriology of the Coliform Group: Their Suitability as Markers of Microbial Water Safety. **Annual Review of Microbiology** 2001 55:1, 201-234. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.201>

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Trimestral do Abate de Animais, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1093>.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Trimestral do Abate de Animais, 2023. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9203-pesquisas-trimestrais-do-abate-de-animais.html>.

JENKINS, S. R.; MORGAN, J. M.; SAWYER, C. L. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, p. 448-453, 1983.

JIANG, B.; TIAN, J.; CHEN, H.; ZHENG, H.; XU, Z.; LIN, Y. Heavy metals migration and antibiotics removal in anaerobic digestion of swine manure with biochar addition. **Environmental Technology and Innovation**, v. 27, 1 ago. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2023.100226>

JUNIOR, A. E. S. Vinhaça em reatores anaeróbios horizontais de alta taxa, em série: efeito do aumento gradual das cargas orgânicas volumétricas na produção de biogás e nas populações microbianas 2018. 94 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, 2018.

KAMYAB, B.; ZILOUEI, H. Investigating the efficiency of biogas production using modelling anaerobic digestion of baker's yeast wastewater on two-stage mixed-UASB reactor. **Fuel**, v. 285, 1 fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119198>

KHINE, N. O.; WONGSURAWAT, T.; JENJAROENPUN, P.; HAMPSON, D. J.; PRAPASARAKUL, N. Comparative genomic analysis of Colistin resistant *Escherichia coli* isolated from pigs, a human and wastewater on colistin withdrawn pig farm. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-32406-w

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; DOWELL, V.R.; JANDA, W.M.; SOMMERS, H.M.; WINN, W.C. Enterobacteriaceae . In: Diagnóstico micro-biológico. Texto y Atlas Color. 3ed. México, D.F.: Editorial Medica Panamericana. 1997, p.203-267

LAN, L.; KONG, X.; SUN, H.; LI, C.; LIU, D. High removal efficiency of antibiotic resistance genes in swine wastewater via nanofiltration and reverse osmosis processes. **Journal of Environmental Management**, v. 231, p. 439–445, 1 fev. 2019. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.10.073

LATIF M.A., GHUFRAN R., WAHID Z.A., AHMAD A. Integrated application of upflow anaerobic sludge blanket reactor for the treatment of wastewaters. **Water Res.** 2011;45:4683–4699. DOI: 10.1016/j.watres.2011.05.049.

LEKAGUL, A.; TANGCHAROENSATHIEN, V.; YEUNG, S. Patterns of antibiotic use in global pig production: A systematic review. **Veterinary and Animal Science Elsevier B.V.**, 1 jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100058>

LIM S.J., KIM T.H. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. **Biomass Bioenergy**. 2014;60:189–202. DOI: 10.1016/j.biombioe.2013.11.011.

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 Springer Science and Business Media Deutschland GmbH**, 1 dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02793-y>

LUO, C., HE T., WANG G., TIAN M., DAI L., PU T., TIAN G. Up-flow anaerobic sludge blanket treatment of swine wastewater: Effect of heterologous and homologous inocula on anaerobic digestion performance and the microbial community, **Bioresource Technology**, Volume 386, 2023,129463, ISSN 0960-8524, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129463>.

LI, S.; ONDON, B. S.; HO, S. H.; JIANG, J.; LI, F. Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies. **Science of the Total Environment** Elsevier B.V., 10 set. 2022. DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722036415>.

LI, S.; HUA, T.; YUAN, C.-S.; LI, B.; ZHU, X.; LI, F. Degradation pathways, microbial community and electricity properties analysis of antibiotic sulfamethoxazole by bio-electro-Fenton system. **Bioresource Technology**, v. 298, p. 122501, fev. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419317316>>.

LIN, C. Y.; CHAI, W. S.; LAY, C. H.; CHEN, C. C.; LEE, C. Y.; SHOW, P. L. Optimization of hydrolysis-acidogenesis phase of swine manure for biogas production using two-stage anaerobic fermentation. **Processes**, v. 9, n. 8, 1 ago. 2021. DOI: 10.3390/pr9081324

LIU, L; LI, J.; FAN, HONGYONG; HUANG, XU; LIU, CHAOXIANG. Fate of antibiotics from swine wastewater in constructed wetlands with different flow configurations. **International Biodeterioration & Biodegradation**, V. 140, p. 119-125, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.04.002>

LIU, W.; LONG, Y.; FANG, Y.; YING, L.; SHEN, D. A novel aerobic sulfate reduction process in landfill mineralized refuse. **Science of the Total Environment**, v. 637–638, p. 174–181, 1 out. 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.304

LIU, W. T.; CHAN, O. C.; FANG, H. H. P. Characterization of microbial community in granular sludge treating brewery wastewater. **Water Research**, v. 36, p. 1767-1775, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00377-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00377-3)

MACHADO, E. C.; LEAL, C. D.; COELHO, B. L.; CHERNICHARO, C. A. de L.; DE ARAÚJO, J. C. Detection and quantification of bacteria resistant to ampicillin and chloramphenicol in domestic sewage treatment plants. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 25, n. 6, p. 847–857, 1 nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-4152202020180001>

MACLEOD, F. A, S R GUIOT, J W COSTERTON. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. **ASM Journals Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 56, No. 6, 1 June 1990. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1598-1607.1990>.

MAINARDIS M, BUTTAZZONI M, GOI D. Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery: A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. **Bioengineering** (Basel). 2020 May 10;7(2):43. DOI: 10.3390/bioengineering7020043.

MASSÉ, D. I.; SAADY, N. M. C.; GILBERT, Y. Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: An overview *Animals*. **MDPI AG**, 4 de abr. 2014; 4 (2):146-63. DOI: 10.3390/ani4020146.

MENEZES, K. V.; DUARTE, C. E. de S.; MOREIRA, M. G.; MORENO, T. de J. C.; PEREIRA, V. J. da S.; UCELLA-FILHO, J. G. M.; OTENIO, M. H.; IGNACCHITI, M. D. C.; RESENDE, J. A. Enterobacteria in anaerobic digestion of dairy cattle wastewater: assessing virulence and resistance for one health security. **Water Research**, p. 121192, jan. 2024. DOI: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135424000927>.

MENZ, J.; OLSSON, O.; KÜMMERER, K. Antibiotic residues in livestock manure: Does the EU risk assessment sufficiently protect against microbial toxicity and selection of resistant bacteria in the environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 379, 5 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120807

MONTCHELE, M. Antibióticos usados na pecuária criaram bactérias resistentes em humanos, 02 de maio de 2023. **Revista Veja**. Disponível em: <<https://veja.abril.com.br/ciencia/antibioticos-usados-na-pecuaria-criaram-bacterias-resistentes-em-humanos>>. Acesso em dez de 2023.

MENG, X.; WANG, Q.; ZHAO, X.; CAI, Y.; MA, X.; FU, J.; WANG, P.; WANG, Y.; LIU, W.; REN, L. A review of the technologies used for preserving anaerobic digestion inoculum. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** Elsevier Ltd, 1 dez. 2023. DOI: 10.1016/j.rser.2023.113804

MORENO, M. A. Survey of quantitative antimicrobial consumption per production stage in farrow-to-finish pig farms in Spain. v. 1, p. 2, 2014. DOI: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/vropen-2013-000002>.
TTI, S. M. L.; BERTONCINI, E. I.; ABREU-JUNIOR, C. H. Characterization of raw swine waste and effluents treated anaerobically: parameters for Brazilian environmental regulation construction aiming agricultural use. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 23, n. 1, p. 165–176, 1 jan. 2021. DOI:10.1007/s10163-020-01115-1

NAG, R.; AUER, A.; BRYAN, K. M.; WHYTE, P.; NOLAN, S.; O'FLAHERTY, V.; RUSSELL, L.; BOLTON, D.; FENTON, O.; RICHARDS, K.; CUMMINS, E. Anaerobic digestion of agricultural manure and biomass – Critical indicators of risk and knowledge gaps. **Science of The Total Environment**, v. 690, p. 460-479, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.512>

NEO, S.; VINTILĂ, T.; BURA, M. Conversion of Agricultural Wastes to Biogas using as Inoculum Cattle Manure and Activated Sludge *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*.

OLIVEIRA, J. F. DE, FIA, R., FIA, F. R. L., RODRIGUES, F. N., MATOS, M. P. DE, & SINISCALCHI, L. A. B. Principal component analysis as a criterion for monitoring variable organic load of swine wastewater in integrated biological reactors UASB, SABF

and HSSF-CW. **Journal of Environmental Management**, 262, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110386>

OLIVEIRA, P. A. V. de. Potencial de produção e utilização de biogás na avicultura comercial. In: ENCONTRO DE AVICULTORES DO ESTADO DE SAO PAULO, 27.; **JORNADA TÉCNICA**, 24., 2001, Bastos, SP. Anais. Bastos: Sindicato Rural de Bastos, 2001. p.16-28

OLIVEIRA, R.A. de, SANTANA, A.M. de. Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) em dois estágios seguidos de reator operado em batelada seqüencial (RBS). **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.31, n.1, p.178-192, 2011.

OLIVEIRA, R. A. de. Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura 1997. 359 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

PEREIRA SILVA, T., GUIMARÃES DE OLIVEIRA, M., MARQUES MOURÃO, J. M., BEZERRA DOS SANTOS, A., & LOPES PEREIRA, E. Monte Carlo-based model for estimating methane generation potential and electric energy recovery in swine wastewater treated in UASB systems. **Journal of Water Process Engineering**, 51, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.103399>

RAMIRES, R.D. OLIVEIRA, R.A. de. COD, TSS, NUTRIENTS AND COLIFORMS REMOVALS IN UASB REACTORS IN TWO STAGES TREATING SWINE WASTEWATER. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v.34, n.6, p. 1256-1269, 2014.

RANI, J.; PANDEY, K. P.; KUSHWAHA, J.; PRIYADARSINI, M.; DHOBLE, A. S. Antibiotics in anaerobic digestion: Investigative studies on digester performance and microbial diversity. **Bioresource Technology**. Elsevier Ltd, 1 out. 2022. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.127662.

RAJKOVICH, S.; ENDERS, A.; HANLEY, K.; HYLAND, C.; ZIMMERMAN, A.R.; LEHMANN, J. Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. **Biology and Fertility of Soils**, 48: 271 -284, 2011.

RENAUDEAU, D.; DOURMAD, J. Y. Review: Future consequences of climate change for European Union pig production. *Animal* Elsevier B.V., **Animal** Vol. 16, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100372>.

RICO, C.; MONTES, J. A.; RICO, J. L. Evaluation of different types of anaerobic seed sludge for the high rate anaerobic digestion of pig slurry in UASB reactors. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 147–156, 2017. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.04.014

ROMERO, R. M.; VALENZUELA, E. I.; CERVANTES, F. J.; REYES, R. B. G.; SERRANO, D.; ALVAREZ, L. H. Improved methane production from anaerobic

digestion of liquid and raw fractions of swine manure effluent using activated carbon. **Journal of Water Process Engineering**, v. 38, n. 101576, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101576>

ROUSHAM, E. K.; UNICOMB, L.; ISLAM, M. A. Human, animal and environmental contributors to antibiotic resistance in low-resource settings: Integrating behavioural, epidemiological and one health approaches Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. **Royal Society Publishing**, 11 abr. 2018.

S. MARIRAJ MOHAN, T. SWATHI, Enhanced Substrate Degradation Using Modified Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor - Laboratory Scale Variable Hydraulic Retention Time Static Granular Bed Reactor Series, **Journal of Environmental Engineering**, 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0002079, 149, 1, (2023).

SÁNCHEZ, E.; HERRMANN, C.; MAJA, W.; BORJA, R. Effect of organic loading rate on the anaerobic digestion of swine waste with biochar addition. [s.d.] DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13428-1>.

SANTOS, A. L.; DOS SANTOS, A. P.; ITO, C. R. M.; DE QUEIROZ, P. H. P.; DE ALMEIDA, J. A.; JÚNIOR, M. A. B. de C.; DE OLIVEIRA, C. Z.; AVELINO, M. A. G.; WASTOWSKI, I. J.; GOMES, G. P. L. A.; E SOUZA, A. C. S.; VASCONCELOS, L. S. N. de O. L.; SANTOS, M. de O.; DA SILVA, C. A.; CARNEIRO, L. C. Profile of enterobacteria resistant to beta-lactams. **Antibiotics**, v. 9, n. 7, p. 1–18, 1 jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100688>

SANTANA, A.M. de; OLIVEIRA, R.A. Desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo em dois estágios tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 25, n. 3, p. 817-830, 2005.

SANTANA JUNIOR, A.E.; DUDA, R.M. ; DE OLIVEIRA, R.A. Improving the energy balance of the industry of ethanol with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, p. 117577-11, 2019.

SANTANA JR, A. E. Produção de metano e melaço em reatores UASB termofílicos, em dois estágios. [s.l.] 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal., 2013.

SANTOS, A. L.; DOS SANTOS, A. P.; ITO, C. R. M.; DE QUEIROZ, P. H. P.; DE ALMEIDA, J. A.; JÚNIOR, M. A. B. de C.; DE OLIVEIRA, C. Z.; AVELINO, M. A. G.; WASTOWSKI, I. J.; GOMES, G. P. L. A.; E SOUZA, A. C. S.; VASCONCELOS, L. S. N. de O. L.; SANTOS, M. de O.; DA SILVA, C. A.; CARNEIRO, L. C. Profile of enterobacteria resistant to beta-lactams. **Antibiotics**, v. 9, n. 7, p. 1–18, 1 jul. 2020.

SAKAR S, YETILMEZSOY K, KOCAK E. Anaerobic digestion technology in poultry and livestock waste treatment-a literature review. **Waste Manag Res**. 2009 Feb;27(1):3-18. doi: 10.1177/0734242X07079060. PMID: 19220987.

SCHMIDT, J. E.; AHRING, B. K. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. 49, n. 3, p. 229-246, Feb. 1996. DOI: [10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19960205\)49:3<229::AID-BIT1>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19960205)49:3<229::AID-BIT1>3.0.CO;2-M)

SCHOTT, C., CUNHA, J. R., VAN DER WEIJDEN, R. D., & BUISMAN, C. Phosphorus recovery from pig manure: Dissolution of struvite and formation of calcium phosphate granules during anaerobic digestion with calcium addition. **Chemical Engineering Journal**, 437, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135406>

SECCO, C; LUZ, L. M. da; PINHEIRO, ELIANE; FRANCISCO, ANTÔNIO CARLOS; PUGLIERIA, Fabio Neves; PIEKARSKIA, Cassiano Moro; FREIRE, Fausto Miguel Cereja. Circular economy in the pig farming chain: Proposing a model for measurement. **Journal of Cleaner Production**, V. 260, n. 121003, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121003>

SIEWHUI CHONG, TUSHAR KANTI SEN, AHMET KAYAALP, HA MING ANG, The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review, **Water Research**, V.46, Issue 11, 2012, Pages 3434-3470, ISSN 0043-1354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.066>.

SHINDE, R.; HACKULA, A.; O'SHEA, R.; BARTH, S.; MURPHY, J. D.; WALL, D. M. Demand-driven biogas production from Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactors to balance the power grid. **Bioresource Technology**, v. 385, 1 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129364>

SHOW, K. Y.; YAN, Y.; YAO, H.; GUO, H.; LI, T.; SHOW, D. Y.; CHANG, J. S.; LEE, D. J. Anaerobic granulation: A review of granulation hypotheses, bioreactor designs and emerging green applications. **Bioresource Technology** Elsevier Ltd, 1 mar. 2020. DOI: [10.1016/j.biortech.2020.122751](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122751)

SONG, M.; SHIN, S. G.; HWANG, S. Methanogenic population dynamics assessed by real-time quantitative PCR in sludge granule in upflow anaerobic sludge blanket treating swine wastewater. **Bioresource Technology**, 1 SUPPL. Elsevier Ltd, 2010. v. 101. DOI: [10.1016/j.biortech.2009.03.054](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.054)

SONG, Y.; QIAO, W.; WESTERHOLM, M.; HUANG, G.; TAHERZADEH, M. J.; DONG, R. Microbiological and Technological Insights on Anaerobic Digestion of Animal Manure: A Review. **Fermentation** MDPI, 1 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation9050436>

SUDIARTHA, G. A. W.; IMAI, T.; HUNG, Y. T. Effects of Stepwise Temperature Shifts in Anaerobic Digestion for Treating Municipal Wastewater Sludge: A Genomic Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 9, 1 maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19095728>

SUI, Q.; CHEN, Y.; YU, D.; WANG, T.; HAI, Y.; ZHANG, J.; CHEN, M.; WEI, Y. Fates of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes and microbial community

structures in typical swine wastewater treatment processes. **Environment International**, v. 133, 1 dez. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105183>.

SUI, Q.; ZHANG, J.; CHEN, M.; TONG, J.; WANG, R.; WEI, Y. Distribution of antibiotic resistance genes (ARGs) in anaerobic digestion and land application of swine wastewater. **Environmental Pollution**, v. 213, p. 751-759, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.038>

TAIT, S.; HARRIS, P. W.; MCCABE, B. K. Biogas recovery by anaerobic digestion of Australian agro-industry waste: A review. **Journal of Cleaner Production** Elsevier Ltd, 25 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126876>

TÁPPARO, D. C.; ROGOVSKI, P.; CADAMURO, R. D.; MARQUES SOUZA, D. S.; BONATTO, C.; FRUMI CAMARGO, A.; SCAPINI, T.; STEFANSKI, F.; AMARAL, A.; KUNZ, A.; HERNÁNDEZ, M.; TREICHEL, H.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; FONGARO, G. Nutritional, Energy and Sanitary Aspects of Swine Manure and Carcass Co-digestion. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology** Frontiers Media S.A., 29 abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00333>

TARAKDJIAN, J.; CAPELLO, K.; PASQUALIN, D.; SANTINI, A.; CUNIAL, G.; SCOLLO, A.; MANNELLI, A.; TOMAO, P.; VONESCH, N.; DI MARTINO, G. Antimicrobial use on italian pig farms and its relationship with husbandry practices. **Animals**, v. 10, n. 3, 1 mar. 2020. DOI: [10.3390/ani10030417](https://doi.org/10.3390/ani10030417)

T. ABBASI, S.A. ABBASI. Formation and impact of granules in fostering clean energy production and wastewater treatment in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, V. 16, Issue 3,2012, Pages 1696-1708, ISSN 1364-0321. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.11.017>

TAVERA-RUIZ, C.; MARTÍ-HERRERO, J.; MENDIETA, O.; JAIMES-ESTÉVEZ, J.; GAUTHIER-MARADEI, P.; AZIMOV, U.; ESCALANTE, H.; CASTRO, L. Current understanding and perspectives on anaerobic digestion in developing countries: Colombia case study. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** Elsevier Ltd, 1 mar. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113097>

TIAN, T.; QIAO, W.; HAN, Z.; WEN, X.; YANG, M.; ZANG, Y. Effect of temperature on the persistence of fecal bacteria in ambient anaerobic digestion systems treating swine manure. **Science of The Total Environment**, v. 791, n. 148302, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148302>

TIWARI, M.K., GUHA, S., HARENDRANATH, C.S. *et al.* Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor. **Appl Microbiol Biotechnol** 71, 145–154 (2006). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0397-3>.

TZANIDAKIS, C.; PANAGIOTIS, S.; ARVANITIS, K.; PANAGAKIS, P. An overview of the current trends in precision pig farming technologies. **Livestock Science**, V. 249, n. 104530, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104530>

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Ciências Exatas. *Estação Agroclimatológica*, 2019. Disponível em <www.fcav.unesp.br/estação>.

URBINATI, E.; OLIVEIRA, R.A. Anaerobic-aerobic treatment of swine wastewater in UASB and Batch reactors in series. **Scientific Papers Eng. Agríc.**, v.34, n.1, p.124-142, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162014000100014>

VAN LIER, J. B. & LETTINGA, G. Limitations of thermophilic anaerobic wastewater treatment and the consequences for process design. In **Anaerobic Processes for Bioenergy and Environment**, Proc. Int. Meeting Copenhagen, p. 25-27, 1995. DOI: 10.1007/BF00641606

VAN HAANDEL, A.C.; LETTINGA, G. Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. **Nova York: John Wiley and Sons**, 1994.

XU J; ADAIR CW; DESHUSSES MA. Performance evaluation of a full-scale innovative swine waste-to-energy system. **Bioresour Technol.** 2016 Sep;216:494-502. Epub 2016 May 24. PMID: 27268434. DOI: [10.1016/j.biortech.2016.05.089](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.089)

XU, S.; DUAN, Y.; ZOU, S.; LIU, H.; LUO, L.; WONG, J. W. C. Evaluations of biochar amendment on anaerobic co-digestion of pig manure and sewage sludge: waste-to-methane conversion, microbial community, and antibiotic resistance genes. **Bioresource Technology**, v. 346, 1 fev. 2022. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126400

WANG, G.; LIU, G.; YAO, G.; FU, P.; SUN, C.; LI, Y.; LI, Q.; LI, Y. Y.; CHEN, R. Biochar-assisted anaerobic membrane bioreactor towards high-efficient energy recovery from swine wastewater: Performances and the potential mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 369, 1 fev. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.128480

WATANABE, N.; BERGAMASCHI, B. A.; LOFTIN, K. A.; MEYER, M. T.; HARTER, T. Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manured forage fields. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 17, p. 6591–6600, 1 set. 2010. DOI: 10.1021/es100834s

WANG Q et al. Rice husk-derived hard carbons as high-performance anode materials for sodium-ion batteries. **Carbon** 127:658–666 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2017.11.054>

ZAREI-BAYGI, A.; SMITH, A. L. Intracellular versus extracellular antibiotic resistance genes in the environment: Prevalence, horizontal transfer, and mitigation strategies. **Bioresource Technology** Elsevier Ltd, 1 jan. 2021. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124181

ZAHEDI, S.; GROS, M.; PETROVIĆ, M.; BALCAZAR, J. L.; PIJUAN, M. Anaerobic treatment of swine manure under mesophilic and thermophilic temperatures: Fate of veterinary drugs and resistance genes. **Science of the Total Environment**, v. 818, 20 abr. 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151697

ZENG, Z., ZHENG, P., DA, K., Li, Y., Li, W., DONGDONG, X., CHEN, W., & PAN,

C. (2021). The removal of copper and zinc from swine wastewater by anaerobic biological-chemical process: Performance and mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, 401. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123767>

ZHANG, M.; LIU, Y. S.; ZHAO, J. L.; LIU, W. R.; CHEN, J.; ZHANG, Q. Q.; HE, L. Y.; YING, G. G. Variations of antibiotic resistome in swine wastewater during full-scale anaerobic digestion treatment. **Environment International**, v. 155, 1 out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106694>.

ZHANG, X.; HUANG, H.; DU, Q.; GAO, F.; WANG, Z.; WU, G.; GUO, W.; HAO NGO, H. Performance of a recirculated biogas-sparging anaerobic membrane bioreactor system for treating synthetic swine wastewater containing sulfadiazine antibiotic. **Chemical Engineering Journal**, v. 476, 15 nov. 2023. DOI: [10.1016/j.cej.2023.146735](https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146735).

ZHAO W et al. A review of biochar in anaerobic digestion to improve biogas production: performances, mechanisms and economic assessments. **Bioresour Technol** 341:125797, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125797>

ZHENG, X.; XU, D.; YAN, J.; QIAN, M.; WANG, P.; ZAEIM, D.; HAN, J.; QU, D. Mobile genetic elements facilitate the transmission of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Enterobacteriaceae from duck farms. **Food Science and Human Wellness**, v. 13, n. 2, p. 729–735, 1 mar. 2024. DOI: <https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250062>

ZHOU L., OU P., SHAO Z., SHEN Y., LU J., ZHUANG W. Dissimilatory sulfate reduction in the cake layer of a full-scale anaerobic dynamic membrane bioreactor for hotel laundry wastewater treatment: Bacterial community and functional genes, **Bioresource Technology**, Volume 351, 2022, 127026, ISSN 0960-8524, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127026>.

YANG, S.; WEN, Q.; CHEN, Z. Effect of KH₂PO₄-modified biochar on immobilization of Cr, Cu, Pb, Zn and as during anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, v. 339, 1 nov. 2021. DOI: [10.1016/j.biortech.2021.125570](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125570)