

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TRATAMENTO ANAERÓBIO E AERÓBIO DE ÁGUAS
RESIDUÁRIAS DA BOVINOCULTURA LEITEIRA EM
REATORES DE ALTA TAXA**

Renata Rodrigues Sampaio

**Gestora Ambiental e
Bacharela em Aquacultura**

Junho de 2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TRATAMENTO ANAERÓBIO E AERÓBIO DE ÁGUAS
RESIDUÁRIAS DA BOVINOCULTURA LEITEIRA EM
REATORES DE ALTA TAXA.**

Discente: Renata Rodrigues Sampaio

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Luciano dos Santos
Rodrigues**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como uma das exigências para a obtenção do Título de Doutor em Microbiologia Agropecuária.

2022

S192t Sampo, Renata Rodrigues
Tratamento anaeróbio e aeróbio de águas residuárias da
bovinocultura leiteira em reatores de alta taxa / Renata Rodrigues
Sampo. -- Jaboticabal, 2023
235 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Roberto Alves de Oliveira
Coorientador: Luciano dos Santos Rodrigues

1. Reatores UASB. 2. Bovinocultura. 3. Metano. 4. Biologia
molecular. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: TRATAMENTO ANAERÓBIO E AERÓBIO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA BOVINOCULTURA LEITEIRA EM REATORES DE ALTA TAXA

AUTORA: RENATA RODRIGUES SAMPAIO

ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

COORIENTADOR: LUCIANO DOS SANTOS RODRIGUES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



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



Profa. Dra. JULIANA CALÁBRIA DE ARAÚJO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / UFMG-Belo Horizonte/MG

Profa. Dra. SIMONE DAMASCENO GOMES (Participação Virtual)
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas / Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE - Cascavel



Dr. JÚLIO CESAR PASCALE PALHARES (Participação Virtual)
Depto. de Pesquisa e Desenvolvimento / EMBRAPA - Pecuária Sudeste/São Carlos-SP



Prof. Dr. VALCINEY GOMES DE BARROS (Participação Virtual)
FATEC/Jaboticabal / Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal - Nilo De Stéfani

Jaboticabal, 21 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES

Renata Rodrigues Sampaio – filha de Geraldo Campos Sampaio e Maria Antônia Rodrigues Campos, nascida na cidade de Belo Horizonte, no Estado de Minas Gerais na data de 16/09/1982. Em 2011, graduou-se em gestão ambiental pelo centro universitário UNA, e em 2014 em engenharia de aquicultura pela Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, *Campus* Pampulha. De março de 2015 a fevereiro de 2017, realizou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado na Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, *Campus* Pampulha; em março do mesmo ano deu início ao curso de Doutorado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), *Campus* de Jaboticabal – SP, no programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária, realizando as atividades de pesquisa no Laboratório de Saneamento Ambiental do Departamento de Engenharia e Ciências Exatas, na área de tratamento anaeróbio de águas residuárias da produção agropecuária, com recuperação de biogás e efluente de qualidade.

.....*E seja Luz!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder a sua companhia, me acompanhar e me guiar durante esta jornada.

À Universidade Estadual Paulista – UNESP, *Campus* de Jaboticabal, ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária, ao Departamento de Engenharia e Ciências Exatas, ao Laboratório de Saneamento Ambiental e ao Setor de Bovinocultura leiteira por me concederem as condições necessárias para execução desse trabalho.

Aos meus pais Maria Antonia e Geraldo, meus irmãos Gladson e Luciana, meus sogros Luzia e Geraldo e meu amado marido Wagner, muito obrigado pelo apoio, incentivo, por compreender minha ausência e por tudo que fizeram para me proporcionar esta e tantas outras conquistas. Amo vocês!

Ao meu orientador Professor Dr. Roberto Alves de Oliveira, com quem tive o imenso prazer de trabalhar durante 4 anos da minha estadia na UNESP. Um ser humano ímpar, único, uma pessoa incrível. Como era bom ouvir suas histórias professor! Muito obrigada pelo profissionalismo, comprometimento, conselhos (foram muitos), por sempre me instigar a evoluir e principalmente por acreditar no meu potencial na execução desse trabalho!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Luciano dos Santos Rodrigues, que dispensa comentários, é um dos maiores exemplos de profissionalismo e amor pela arte de ensinar, além de uma incrível capacidade em transmitir o conhecimento. Lá se vão 11 anos de orientação e muito aprendizado (muito mesmo). Agradeço a cada ensinamento, paciência, dedicação, disponibilidade e muitas e muitas recomendações. O senhor foi essencial no desenvolvimento deste projeto!

À Professora Dra. Rose Maria Duda, pelos conselhos, contribuições, pela paciência, convivência, pela incansável e insubstituível ajuda, pelo apoio e companheirismo prestados, principalmente nos momentos de desespero, pela disponibilidade em apoiar o grupo e não medir esforços para nos auxiliar! Muito Obrigada, você foi muito importante no desenvolvimento desse trabalho!

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado para o desenvolvimento deste estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação pela disposição e ajuda sempre prestada.

Aos Funcionários do Departamento de Engenharia e Ciências Exatas: Ailton (meu companheiro de carga, sem você este trabalho seria muito mais árduo, muito obrigada, pelas risadas, conversas, desabafos rsrs), Davi, Luis Cláudio, Marquinhos, Maranhão, Tião, João, Valdecir, Uanderson e Debones pela amizade, convivência, conselhos e auxílios prestados.

Aos meus queridos colegas de laboratório Valciney (chefinho Ney), Wilmar, Denis, Jorge (nosso fiotinho), Alexandra (Lelê), Amanda, Bal, Vivian, Michel e Eliane (Lili) com quem eu gostaria de ter convivido por mais tempo. Áureo muito obrigado pelo carinho, pelas risadas, longas conversas e por ter emprestado sua mãe para ser nossa mãe (nunca me esquecerei do bolo de chocolate que alimentava nossa alma). A convivência com vocês fez toda diferença durante minha estadia em Jaboticabal.

Meus amigos da vida, Stellinha (minha amiga a 212 anos) e Klebinho (o paulista mais mineiro que eu conheço) muita gratidão por tudo que passamos juntos (foram tantos momentos memoráveis e inesquecíveis)! Agradeço o companheirismo, suporte, carinho, puxão de orelha, risadas sem fim, muitos cafezinhos, rolês infinitos e a amizade incondicional. Vocês foram essenciais na realização desse trabalho e já fazem parte da minha vida. Amo demais vocês!

Aos amigos de Jabuka, D. Vanete, Igor e Bel, muito obrigado pelo acolhimento, pelos conselhos e pelas sábias palavras que me confortavam em muitos momentos!

Sentirei saudade de vocês! Obrigada pela amizade, companheirismo, ajuda e por todos os bons momentos que passamos juntos.

E a todos que de alguma forma contribuíram, para que eu pudesse realizar este trabalho e, trouxeram contribuições ao meu profissional e pessoal.

Muitíssimo obrigado a todos pela disposição e carinho.

Gratidão sempre!

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	I
RESUMO.....	IV
ABSTRACT.....	V
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos Específicos.....	5
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3.1 Bovinocultura leiteira.....	6
3.2 Água na bovinocultura leiteira.....	10
3.3 Efluente da bovinocultura leiteira.....	12
3.4 Microbiologia da digestão anaeróbia.....	15
3.4.1 Hidrólise.....	17
3.4.2 Acidogênese.....	18
3.4.3 Acetogênese.....	20
3.4.4 Metanogênese.....	21
3.5 Tratamento anaeróbio de águas residuárias da bovinocultura leiteira	24
3.6 Pós-tratamento aeróbio de águas residuárias.....	27
3.7 Técnicas de biologia molecular utilizadas no estudo de comunidades microbianas.....	43
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1 Local do experimento.....	45

4.2 Instalação experimental.....	46
4.2.1 Tratamento anaeróbio: reator UASB seguido de filtro anaeróbio de fluxo ascendente.....	49
4.2.2 Pós-tratamento aeróbio: reator operado em batelada sequencial (RBS).....	51
4.2.3 Tratamento aeróbio: filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador.....	54
4.3 Substrato.....	56
4.4 Condições experimentais.....	59
4.5 Partida do sistema.....	64
4.5.1 Partida dos reatores anaeróbios.....	64
4.5.2 Partida dos reatores aeróbios.....	64
4.6 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos nos afluentes, efluentes e lodo do reator UASB e do filtro anaeróbio de fluxo ascendente, do reator operado em batelada sequencial (RBS), do filtro biológico percolador (FBP) e do decantador.....	65
4.7 Produção de biogás.....	67
4.8 Aplicação de técnicas de biologia molecular	68
4.8.1 PCR quantitativa em tempo real (qPCR)	69
4.8.2 Sequenciamento de nova geração	70
4.9 Cálculo do RAS – Razão de adoração de sódio.....	71
5.0 Análise estatística.....	72
6. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	72
6.1 Temperatura.....	71
6.2 pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais.....	75
6.3 Demanda química de oxigênio (DQO).....	90
6.4 Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV).....	101

6.5 Sólidos totais e voláteis do lodo.....	111
6.6 Nitrogênio Kjeldahl.....	116
6.7 Fósforo.....	123
6.8 Produção de CH ₄	129
6.9 Coliformes.....	135
6.10 Composição da comunidade microbiana.....	137
6.10.1 PCR quantitativa em tempo real (qPCR).....	137
6.10.2 Análise de sequenciamento de nova geração Illumina MiSeq.....	141
6.11 Macro e micronutrientes.....	168
6.12 Condutividade.....	175
7 – CONCLUSÃO.....	179
AGRADECIMENTOS.....	181
REFERÊNCIAS.....	182
ANEXOS.....	231

TRATAMENTO ANAERÓBIO E AERÓBIO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA BOVINOCULTURA DE LEITE EM REATORES DE ALTA TAXA.

RESUMO - Os dejetos da bovinocultura leiteira em confinamento são um desafio para os produtores devido ao seu alto conteúdo orgânico. O tratamento desse resíduo pode gerar subprodutos benéficos ambientalmente e financeiramente. Entretanto, a heterogeneidade do dejetos pode ser um obstáculo para o seu aproveitamento e destinação adequada. Neste trabalho, avaliou-se o desempenho do tratamento de águas residuárias da bovinocultura leiteira, em reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) seguido de filtro anaeróbio e o pós-tratamento aeróbio em reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador seguido de decantador (FBP), operados com altas cargas orgânicas volumétricas (COV) e diferentes tempos de detenção hidráulica (TDH). Os valores de TDH aplicados no reator UASB (R1) foram 60, 48, 36, 36, 30 e 30 h (fases 1 a 6). As COV aplicadas no R1 variaram de 4,8 a 12,6 g de DQO total (L d)⁻¹. Análises quantitativas de PCR em tempo real e sequenciamento de nova geração MiSeq (*Illumina*) foram realizadas para a identificação da comunidade microbiana. Os valores de pH permaneceram próximos a neutralidade, a alcalinidade foi crescente e os ácidos voláteis foram decrescentes do afluente para os efluentes dos reatores anaeróbios durante as fases 1 a 6, resultados que indicaram estabilidade do sistema de tratamento. Com o pós-tratamento no RBS, as eficiências médias de remoção de DQO e NK foram de 94 e 80% e no FBP, com taxas de aplicação superficial de 2,11 e 2,53 m³ (m² d)⁻¹, as eficiências médias de remoção de P-total e coliformes aumentaram para 81 e 99,94%, respectivamente. Os macro e micronutrientes disponíveis no efluente do RBS e FBP podem ser investigados para futura utilização na fertirrigação. A máxima produção volumétrica de metano observada no R1 foi de 0,27 m³ CH₄ (m³ reator d)⁻¹, com TDH de 36 h e com eficiências de remoção de DQO de até 95%. Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes como os filos mais abundantes no R1 e R2 respectivamente. Em menor proporção, foram encontrados os filos Bacteroidetes, Cloacimonetes, Spirochaetes, Chloroflexi, Aminicenantes e Candidatus hydrogenedentes. O gênero *Acinetobacter* foi o mais expressivo dentro do filo Proteobacteria e pode estar relacionado com a alta remoção de fósforo no reator UASB. As análises quantitativas de PCR em tempo real demonstraram equilíbrio e simbiose da comunidade microbiana durante a digestão anaeróbia e retratou a ocorrência da metanogênese pelas vias hidrogenotróficas e acetotróficas.

Palavras-chave: biogás, digestão anaeróbia, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador, reator UASB, reator operado em batelada sequencial.

ANAEROBIC AND AEROBIC TREATMENT OF DAIRY CATTLE WASTEWATER IN HIGH RATE REACTORS

ABSTRACT - The waste from dairy cattle in confinement is a challenge for producers, due to its high organic content. The treatment of this waste can generate beneficial environmental and financial by-products. However, the heterogeneity of the manure can be an obstacle to its use and proper disposal. In this work, the performance of wastewater treatment from dairy cattle was evaluated in an anaerobic sludge blanket reactor (UASB) followed by an anaerobic filter and the aerobic post-treatment in a sequential batch reactor (SBR) and trickling filter followed by a decanter (TF), operated with high Organic Loading Rate (OLR) and different hydraulic detention times (HRT). The HRT values applied to the UASB reactor (R1) were 60, 48, 36, 36, 30 and 30 h (phases 1 to 6). The OLR applied in R1 ranged from 4.8 to 12.6 g of total COD (L d)⁻¹. Quantitative analyzes of real-time PCR and next-generation sequencing MiSeq (Illumina) were performed to identify the microbial community. The pH values remained close to neutrality, the alkalinity was increasing and the volatile acids were decreasing from the influent to the effluents of the anaerobic reactors during phases 1 to 6, results that indicated stability of the treatment system. With post-treatment in SBR, the average efficiencies of COD and NK removal were 94 and 80% and in TF, with surface application rates of 2.11 and 2.53 m³ (m² d)⁻¹, the efficiencies mean total-P and coliform removal increased to 81 and 99.94%, respectively. The macro and micronutrients available in the effluent from SBR and TF can be investigated for future use in fertigation. The maximum volumetric production of methane observed in R1 was 0.27 m³ CH₄ (m³ reactor d)⁻¹, with a HRT of 36 h and COD removal efficiencies of up to 95%. Proteobacteria, Bacteroidota and Firmicutes as the most abundant phyla in R1 and R2 respectively. To a lesser extent, the phyla Bacteroidetes, Cloacimonetes, Spirochaetes, Chloroflexi, Aminicenantes and Candidates hydrogenedentes were found. The genus Acinetobacter was the most expressive within the phylum Proteobacteria and may be related to the high phosphorus removal in the UASB reactor. Quantitative analysis of real-time PCR demonstrated balance and syntrophy of the microbial community during anaerobic digestion and portrayed the occurrence of methanogenesis by the hydrogenotrophic and acetotrophic pathways.

Keywords: biogas, anaerobic digestion, anaerobic filter, trickling filter, UASB reactor, sequential batch reactor.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AI - alcalinidade intermediária

AP - alcalinidade parcial

AI/AP – relação alcalinidade intermediária/ alcalinidade parcial

A/M – relação alimento microrganismo

AT - alcalinidade total

AVT - ácidos voláteis totais

ARGs – genes de resistência a antibióticos

BOA – bactérias oxidantes de amônia

BON – bactérias oxidantes de nitrito

BRS – bactérias redutoras de sulfato

CaCO₃ – carbonato de cálcio

CB – carga biológica

CH₄ - metano

CHV – carga hidráulica volumétrica

CNTP - condições normais de temperatura e pressão

CO₂ – dióxido de carbono

COV - carga orgânica volumétrica

CV – coeficiente de variação

DQO_{total} - demanda química de oxigênio (mg L⁻¹)

DQO_{dissolvida} - demanda química de oxigênio da fração dissolvida (mg L⁻¹)

DQO_{particulada} - demanda química de oxigênio da fração particulada (mg L⁻¹)

H₂ – hidrogênio

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPEA – Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

N-am. - nitrogênio amoniacal

N-org. - nitrogênio orgânico

NK- nitrogênio Kjeldahl

NO₂⁻ - nitrito

NO_3^- - nitrato

NT- nitrogênio total

NMP – número mais provável

OAP – organismos acumuladores de fósforo

OD – oxigênio dissolvido

ODS – objetivo de desenvolvimento sustentável

P-total - fósforo total

pH - potencial hidrogeniônico

PCR – reação em cadeia polimerase

RBS- reator operado em batelada sequencial

ST - sólidos totais

SV - sólidos voláteis

SST - sólidos suspensos totais

SSV - sólidos suspensos voláteis

TDH - tempo de detenção hidráulica

UASB - reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América

VAs – antibiótico veterinário

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Indicadores da atividade leiteira brasileira de 2006 e 2017.....	9
Tabela 2.	Condições operacionais do sistema de reatores anaeróbios, reator UASB (R1) e FA (R2), durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	60
Tabela 3.	Condições operacionais do sistema aeróbio reator operado em batelada sequencial (RBS) durante as fases 2 e 6.....	60
Tabela 4.	Condições operacionais do sistema aeróbio filtro biológico percolador (FBP) seguido por decantador (Dec.) durante as fases 4 e 5.....	61
Tabela 5.	Característica dos ciclos operacionais impostas ao reator operado em batelada sequencial (RBS) durante as fases 2 e 6.....	63
Tabela 6.	Exames e determinações, frequências e fontes das metodologias utilizadas.....	66
Tabela 7.	Valores médios e desvio padrão da temperatura máxima, média e mínima do ar durante as fases 1, 2, 3, 4, 5, e 6.....	73
Tabela 8.	Valores médios e coeficiente de variação do pH, alcalinidade parcial, alcalinidade intermediária, alcalinidade total, relação AI/AP e ácidos voláteis dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.....	76
Tabela 9.	Valores médios e coeficiente de variação do pH, alcalinidade parcial, alcalinidade intermediária, alcalinidade total, relação AI/AP e ácidos voláteis dos reatores aeróbios, RBS, FBP e Dec durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	79

Tabela 10.	Valores médios e coeficiente de variação (CV) da carga orgânica volumétrica (COV) aplicada, demanda química de oxigênio total, dissolvida e particulada dos afluentes e efluentes dos reatores e das eficiências médias de remoção obtidos durante a operação do sistema nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	92
Tabela 11.	Valores médios de DQO total, DQO filtrada e DQO particulada nos reatores aeróbios RBS, FBP e Dec. nas fases 2, 4, 5 e 6.....	97
Tabela 12.	Valores médios de SST, SSV e eficiências de remoção dos afluentes e efluentes dos reatores anaeróbios UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.....	102
Tabela 13.	Valores médios de SST, SSV e eficiências de remoção dos afluentes e efluentes dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS), Filtro biológico percolador (FBP) e Decantador secundário durante as fases 1 a 6.....	110
Tabela 14.	Valores médios e coeficientes de variação (c.v.) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em g L^{-1} , e da relação SV/ST do lodo da manta do reator UASB (R1) durante a operação do sistema de tratamento anaeróbio nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	112
Tabela 15.	Valores médios e coeficientes de variação (c.v.) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em g L^{-1} , e da relação SV/ST do lodo da manta do Filtro anaeróbio (R2) durante a operação do sistema de tratamento anaeróbio nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	113

Tabela 16.	Valores médios e coeficiente de variação das concentrações de Nitrogênio (Total, Orgânico e Amoniacal) dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiência de remoção do Nitrogênio total durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	117
Tabela 17.	Valores médios e coeficientes de variação de oxigênio dissolvido, nitrito e nitrato nos reatores aeróbios RBS e FBP seguido de decantador durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	121
Tabela 18.	Valores médios, coeficientes de variação e eficiências de remoção de fósforo total (P-total) e ortofosfato no reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	124
Tabela 19.	Valores médios, coeficientes de variação e eficiências de remoção de fósforo total e ortofosfato nos reatores aeróbios, reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	127
Tabela 20.	Valores médios da produção volumétrica e específica de metano e percentual de metano no biogás no reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.....	130
Tabela 21.	Valores médios e eficiências de remoção de coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i> nos afluentes e efluentes dos reatores anaeróbios e aeróbios ao final das fases.....	136
Tabela 22.	Classificação dos principais grupos encontrados pela análise metagenômica nos diferentes reatores anaeróbios.....	145

Tabela 23.	Abundância relativa (%) bacteriana dos principais filos verificados no lodo contido no sistema identificados no lodo dos reatores anaeróbios (R1) e (R2)	147
Tabela 24.	Abundância relativa (%) bacteriana das principais famílias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2)	155
Tabela 25.	Abundância relativa (%) bacteriana dos principais gêneros verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2)	160
Tabela 26.	Abundância relativa (%) dos principais filos de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).....	164
Tabela 27.	Abundância relativa (%) das principais famílias de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).....	165
Tabela 28.	Abundância relativa (%) dos principais gêneros de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).....	165
Tabela 29.	Concentrações médias (mg L^{-1}), coeficientes de variação e eficiência de remoção (%) dos macronutrientes (potássio (K), magnésio (Mg) e cálcio (Ca)) no afluente e efluente dos reatores anaeróbios e aeróbios no tratamento da água residuária da bovinocultura de leite.....	169

Tabela 30.	Concentrações médias (mg L^{-1}), desvio padrão e eficiência de remoção (%) dos micronutrientes (Ferro Fe, Zinco Zn, Cobre Cu, Manganês, Mn, Sódio Na) no afluente e efluente dos reatores anaeróbios e aeróbios no tratamento da água residuária da bovinocultura de leite.....	172
Tabela 31.	Valores médios da concentração de boro durante as fases 5 e 6 nos reatores anaeróbios UASB (R1), filtro anaeróbio (R2) e reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (RBS) seguido de decantador (Dec.)..	174
Tabela 32.	Valores médios da condutividade elétrica durante as fases 5 e 6 nos reatores anaeróbios UASB (R1), filtro anaeróbio (R2) e reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (RBS) seguido de decantador (Dec.)..	177
Tabela 33.	Diretrizes para interpretação da qualidade da água de irrigação, 3968 segundo Ayers e Westcot (1999)	178

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Evolução da produção de leite entre 1990 a 2018.....	9
Figura 2.	Utilização da água no sistema de produção da pecuária leiteira.....	11
Figura 3.	Esquema geral das fases do processo de digestão anaeróbia.....	16
Figura 4.	Principais grupos de arqueas metanogênicas encontradas em sistemas de tratamento anaeróbio.....	22
Figura 5.	Representação esquemática da estrutura de um floco aeróbio.....	28
Figura 6.	Representação esquemática do funcionamento de um RBS.....	34
Figura 7.	Exemplo de um filtro biológico percolador.....	38
Figura 8.	Processos envolvidos na formação e crescimento do biofilme.....	40
Figura 9.	Representação esquemática da instalação experimental do sistema de tratamento anaeróbio e aeróbio da água residuária da bovinocultura leiteira.....	46
Figura 10.	Representação esquemática da instalação experimental composta pelo tratamento anaeróbio, reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB - R1) seguido pelo filtro anaeróbio (FA - R2) e sistema aeróbio composto pelo reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador.....	47

Figura 11.	Foto: Sistema de tratamento anaeróbio e aeróbio da água residuária da bovinocultura leiteira. Tratamento anaeróbio: reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB - R1) seguido pelo filtro biológico (FB - R2), sistema aeróbio: reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador.....	48
Figura 12.	Foto: Anéis de eletroduto corrugado.....	49
Figura 13.	Foto: reator UASB seguido de filtro anaeróbio.....	50
Figura 14.	Foto: Sistema aeróbio RBS com motor rotacional e compressor utilizado para aeração do sistema.....	51
Figura 15.	Foto: Hastes rotacionais e membrana de bolha fina utilizados no reator operado em batelada sequencial.....	52
Figura 16.	Foto: Interior do RBS com eixo de hastes rotacionais.....	53
Figura 17.	Foto: Filtro biológico percolador seguido de decantador secundário.....	55
Figura 18.	Foto: Orifícios para entrada de ar no filtro biológico percolador.....	55
Figura 19.	Representação da placa de PVC instalada no topo do Filtro Biológico Percolador. As setas vermelhas indicam o sentido do efluente.....	56
Figura 20.	Foto: sistema de confinamento das vacas leiteiras.....	57
Figura 21.	Foto: A: coleta do esterco na bovinocultura de leite; B: Diluição do esterco e filtragem na peneira estática; C: Descarga da fração filtrada; D: processo de filtragem na peneira quadrada.....	58

Figura 22.	Foto: Cano de alimentação do reator UASB entupido com excesso de fibra.....	59
Figura 23.	Esquema representativo das análises de biologia molecular.....	68
Figura 24.	Desenho esquemático da coleta de amostras para análise de biologia molecular dos reatores anaeróbio UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2).....	69
Figura 25.	Temperatura máxima, mínima e média nas fases operacionais1 a 6.....	74
Figura 26.	Comportamento do pH afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.....	77
Figura 27.	Comportamento da alcalinidade total (AT) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.....	81
Figura 28.	Comportamento da alcalinidade parcial (AP) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.....	82
Figura 29.	Comportamento da alcalinidade intermediária (AI) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.....	84

Figura 30.	Relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP) dos efluentes dos reatores UASB e filtro anaeróbio, durante as fases 1 a 6.....	86
Figura 31.	Gráfico de correlação relação AI/AP – AP nos reatores R1 e R2 (a e b). Gráfico de correlação da relação AI/AP – AVT (c e d).....	87
Figura 32.	Comportamento dos ácidos voláteis totais (AVT) dos afluentes e efluentes dos reatores UASB, filtro anaeróbio, RBS, FBP e decantador durante as fases 1 a 6.....	88
Figura 33.	Valores de DQO total afluente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO total no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.....	93
Figura 34.	Valores de DQO Dissolvida afluente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO Dissolvida no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.....	95
Figura 35.	Valores de DQO particulada afluente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO particulada no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.....	96
Figura 36.	Valores de DQO total afluente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP, Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	98
Figura 37.	Valores de DQO dissolvida afluente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP, Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	99

Figura 38.	Valores de DQO particulada afluyente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP, Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.....	100
Figura 39.	Valores médios de SST afluyente e efluente dos reatores anaeróbios, UASB e filtro anaeróbio e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantado (Dec.)	103
Figura 40.	Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SST dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) durante os ensaios 1 a 6.....	104
Figura 41.	Valores médios de SSV afluyente e efluente dos reatores anaeróbios, UASB e filtro anaeróbio e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantado (Dec.)	104
Figura 42.	Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SSV dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) durante os ensaios 1 a 6.....	105
Figura 43.	Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SST do conjunto de reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS), filtro biológico percolador seguido de decantador e as eficiências globais durante os ensaios 1 a 6.....	108

Figura 44.	Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SSV do conjunto de reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS), filtro biológico percolador seguido de decantador e as eficiências globais durante os ensaios 1 a 6.....	109
Figura 45.	Concentração média de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV) do lodo dos reatores UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.....	114
Figura 46.	Relação SV/ST do reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.....	115
Figura 47.	Concentrações médias de nitrogênio Total e Nitrogênio amoniacal nos reatores anaeróbios R1 e R2 e reatores aeróbios RBS e FBP seguido de Decantador durante as fases 1 a 6.....	119
Figura 48.	Concentrações médias de fósforo Total afluente e nos reatores anaeróbios R1 e R2 e eficiências de remoção do sistema anaeróbio durante as fases 1 a 6.....	125
Figura 49.	Concentrações médias de fósforo Total nos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador e eficiências de remoção do sistema aeróbio durante as fases 1 a 6.....	128
Figura 50.	Produção volumétrica de metano e carga orgânica volumétrica (COV) do reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) instalados em série durante as fases 1 a 5. PVM: produção volumétrica de metano.....	131

Figura 51.	Real time quantitativo do lodo dos reatores anaeróbios (R1) UASB e (R2) filtro anaeróbio tratando água residuária da bovinocultura de leite. Número de cópias do gene 16S rDNA dos principais grupos microbianos da digestão anaeróbia.....	138
Figura 52.	Curva de rarefação para ASVs da comunidade microbiana das amostras de lodo contidos nos reatores R1 e R2 coletados ao final da fase 4.....	142
Figura 53.	Perfil Taxonômico ao nível de Reino nos reatores anaeróbios, reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2)	142
Figura 54.	Diagrama de Venn - Diversidade de microrganismos nos reatores anaeróbios reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) – A) representantes do reino Bacteria e B) representantes do reino Archaea.....	143
Figura 55.	Filos microbianos dos Domínios (Bacteria e Archaea) nas amostras de lodo dos reatores UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2)..	148
Figura 56.	Perfil taxonômico ao nível de Família nos reatores anaeróbios R1 e R2. Representando as famílias mais abundantes do Domínio Bacteria (primeira figura) e todas as famílias identificadas do Domínio Archaea (segunda figura). Táxons de menor abundância estão na categoria 'Others'.....	154
Figura 57.	Perfil taxonômico colapsado ao nível de 'Gênero'. Representando os gêneros mais abundantes de bactérias (primeira figura) e todos os gêneros identificados de arqueias (segunda figura). Táxons de menor abundância estão colapsados na categoria 'Others'.....	159

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira é uma atividade relevante na agroindústria. Em 2020, a produção mundial de leite foi estimada em 532,3 milhões de toneladas (Embrapa, 2021). Desempenhando papel de destaque na economia, impulsionada pela produção de derivados do leite, geração de emprego e o fornecimento de matéria prima para a indústria.

O Brasil ocupa a terceira posição entre os maiores produtores de leite do mundo, ficando atrás apenas da Índia e Estados Unidos (FAO, 2019). Estima-se que em 2025 o Brasil produzirá 47,5 milhões de toneladas de leite (Vilela, 2015).

A quantidade de dejetos nesse sistema de criação de vacas leiteiras varia de 9,0 a 12,0% (Campos et al., 2002) e 7 a 8% do seu peso vivo (Fontpalma, 2019). Uma vaca em lactação pode produzir aproximadamente de 50 L d⁻¹ de dejetos e em média 8,2 kg de esterco seco por dia (Cervi et al., 2010).

A elevada produção de resíduos com alta carga orgânica tem se constituído num desafio de gerenciamento para os produtores de gado leiteiro em confinamento (Dahlin et al., 2017). O alto potencial poluidor do esterco animal quando mal administrado leva a uma série de problemas ambientais como a liberação de odores nocivos, emissões de gases do efeito estufa e descarga de nutrientes no solo e na água (Andriamanohiarisoamanana et al., 2018; Ramos-suárez et al., 2019; Zhuang et al., 2020;). Portanto é um efluente de alto risco de contaminação ambiental (Erthal et al., 2010) e sua aplicação no solo não deve ser a única maneira de disposição levando em consideração o grande volume de dejetos gerados no sistema de produção.

O processo biológico de tratamento é uma alternativa promissora de baixo custo e amplamente utilizado para tratar efluentes da agroindústria com alta carga orgânica, similares ao efluente da bovinocultura leiteira. Os resíduos passíveis de serem utilizados como adubo orgânico podem ser submetidos com sucesso ao tratamento biológico (Atienza-martínez et al., 2019). Assim, é possível propor o uso desse resíduo como matéria prima para a produção de biofertilizante e a geração de biogás com alto teor de metano para fins energéticos.

A digestão anaeróbia ocorre por meio de uma interação e concentração de microrganismos ativos pertencentes aos Domínios Bacteria e Archaea dos grupos de bactérias hidrolíticas, acidogênicas, acetogênicas e das arqueas metanogênicas.

Tem sido amplamente empregada para tratar diferentes tipos de materiais orgânicos. Suas principais características são reduzir o efeito poluidor, possibilitar a obtenção de um biofertilizante propiciando a recirculação de nutrientes e diminuindo a necessidade de fertilizantes minerais, além de produzir bioenergia renovável como o metano, um dos principais gases resultantes do processo e que pode ser convertido em eletricidade, combustível gasoso e calor (Zaks et al., 2011; Surendra et al., 2014; Oehmichen e Thrän, 2017).

O tratamento anaeróbio de resíduos reduziu as emissões de gases de efeito estufa (GEE) em 4,63 milhões de toneladas métricas de equivalente CO₂ (MMTCO₂ e) nos EUA em 2019, além da recuperação dos subprodutos gerados, como o gás metano, o biofertilizante e a fibra presente no esterco que pode ser utilizada para a confecção de diferentes materiais (EPA, 2018). Na bovinocultura leiteira pode reduzir em até 25% as emissões de metano quando comparado ao efluente não tratado (Holly et al., 2017).

O conhecimento da biodegradabilidade de efluentes da pecuária leiteira é fundamental para o sucesso da digestão anaeróbia. As características desse tipo de efluente são muito diversas e heterogêneas, dependem principalmente do animal, tipo de manejo, clima e alimentação ministrada (Rico et al., 2012; He et al., 2016).

Os reatores de alta taxa, como o reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) e o filtro anaeróbio, retêm a biomassa favorecendo o equilíbrio entre os microrganismos. Nos reatores UASB a microbiota é imobilizada em grânulos e flocos na manta de lodo que é formada na câmara de digestão do reator. Já nos filtros anaeróbios os microrganismos ficam aderidos ao meio suporte com a formação dos biofilmes. Ambas as formas de retenção da microbiota propiciam aumento do contato entre o efluente a ser tratado e o lodo contido nos reatores e um maior valor para o tempo de retenção celular (Pandey e Sarkar, 2017). Com estes reatores é possível obter

bons resultados quanto à remoção de matéria orgânica e produção de metano de efluentes agropecuários com elevadas cargas orgânicas (Rodrigues et al. 2009; Duda e, 2011; Oliveira e Santana, 2011; Urbinati, et al. 2013).

Sendo assim, reatores anaeróbios de alta taxa em um e dois estágios são considerados robustos por suportarem altas cargas orgânicas e sobrecargas hidráulicas, requererem pequenas áreas para instalação, apresentarem baixa produção de lodo e baixo custo operacional, promoverem alta remoção de matéria orgânica e fácil operação (Duda e Oliveira, 2011).

A comunidade microbiana de reatores anaeróbios ainda não é totalmente conhecida. O entendimento das interações e da diversidade dessas comunidades permite aperfeiçoar e buscar a máxima eficiência no desempenho do processo anaeróbio. Assim, conhecer a taxonomia dos microrganismos e as rotas metabólicas envolvidas nesse processo permite melhor compreensão dos resultados obtidos no monitoramento dos reatores tratando diferentes efluentes agropecuários. A utilização de técnicas de biologia molecular para esses fins contribui para o melhor entendimento dos eventos microbiológicos e bioquímicos consequentemente para a otimização das condições operacionais dos reatores anaeróbios e melhoria do tratamento e aproveitamento dos resíduos da produção agropecuária (Paliwal et al., 2012).

Entretanto, o efluente final dos sistemas de tratamento anaeróbio ainda contém altas concentrações de nitrogênio, fósforo e patógenos, o que pode implicar na necessidade de pós-tratamento para a adequada destinação final (Bruno et al., 2013).

A qualidade do efluente de reatores anaeróbios, dificilmente atende ao estabelecido na legislação ambiental para o lançamento em corpos hídricos. Consequentemente é necessário utilizar outras tecnologias, como a combinação de processos biológicos para alcançar os valores estabelecidos para alguns parâmetros. Embora a associação em série de reator UASB e filtro anaeróbio seja muito adequada para remover matéria orgânica de águas residuária da produção agropecuária, sua eficiência não é suficiente para remover patógenos e nutrientes, portanto recomenda-se uma etapa de pós-tratamento de seus efluentes (Duda e Oliveira, 2011).

Os reatores aeróbios, como pós-tratamento de sistemas de tratamento

anaeróbio têm por objetivo completar a remoção de matéria orgânica, organismos patogênicos e nutrientes. A associação das tecnologias, anaeróbia e aeróbia é usualmente utilizada para garantir maior eficiência de remoção de material carbonáceo e nitrogenado, produzindo efluentes de boa qualidade que atinjam os limites ambientais para lançamento nos corpos receptores além dos baixos custos de implantação e operação.

A utilização de reatores aeróbios, como o filtro biológico percolador seguido de decantador é uma combinação de tratamento biológico que pode fornecer condições adequadas para promover os processos de nitrificação e desnitrificação. O FBP é amplamente utilizado para tratar diferentes efluentes, sendo um sistema de alimentação contínua com fluxo descendente, no qual o afluente é lançado por dispositivos de distribuição na parte superior do filtro, fazendo com que o líquido percole entre os materiais de preenchimento e permita a conversão dos constituintes do efluente por meio de biomassa aderida. A circulação do ar natural ocorre por meio dos espaços vazios do meio suporte fornecendo oxigênio para os microrganismos (Sylvestre et al., 2014). O decantador secundário tem como objetivo a remoção de sólidos e lodo proveniente do FBP. O conjunto FBP + Dec é uma tecnologia que apresenta simplicidade operacional, baixo consumo de energia resultando em baixo custo de implantação (Ribeiro et al., 2017).

A utilização de reatores aeróbios como reator operado em batelada sequencial (RBS) também se configura como uma estratégia interessante como pós-tratamento de efluentes oriundos de reatores de alta taxa. O uso do RBS aeróbio é capaz de proporcionar as variações das condições ambientais necessárias para a remoção biológica de nutrientes por meio dos seus ciclos operacionais que acontecem dentro de um único tanque, enchimento, aeração forçada, decantação e descarte do efluente final (Artan e Orhon, 2005).

Tendo em vista os presumíveis impactos ao meio ambiente proporcionado pela grande geração de resíduos nesta atividade agropecuária, torna-se fundamental a busca por alternativas de tratamento que recuperem o valor energético destes resíduos e minimizem os possíveis riscos ambientais provenientes da bovinocultura leiteira elevando assim a eficiência produtiva da atividade.

No entanto, embora a digestão anaeróbia seja reconhecida como a melhor alternativa para o tratamento de efluente agropecuário, poucos relatos sobre o desempenho de reatores de alta taxa em série com pós-tratamento aeróbio tratando efluentes da bovinocultura leiteira são encontrados na literatura. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de reatores anaeróbios de alta taxa em série seguidos de pós-tratamento aeróbio quanto à remoção de matéria orgânica e a produção de metano tratando água residuária da bovinocultura leiteira com pré-tratamento simplificado operando com altas cargas orgânicas em diferentes tempos de detenção hidráulica. Avaliou-se a diversidade microbiana utilizando qPCR em tempo real e sequenciamento de nova geração MiSeq ilumina para a melhor compreensão dos processos bioquímicos e das interações microbianas durante a digestão anaeróbia.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho da digestão anaeróbia das águas residuárias da bovinocultura de leite em dois reatores anaeróbios de alta taxa em série seguido de pós-tratamento aeróbio avaliando a produção de biogás e a qualidade do efluente final.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o desempenho dos reatores UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) em série, R1 e R2, na digestão anaeróbia das águas residuárias da bovinocultura (ARBL) variando-se os tempos de detenção hidráulica e carga

orgânica volumétrica.

- Avaliar o desempenho do pós-tratamento aeróbio nos reatores, reator operado em batelada sequencial e filtro biológico percolador seguido de decantador.

- Quantificar, utilizando a técnica qPCR (cópias do gene 16S rDNA/ g SV) dos principais grupos microbianos pertencentes ao Domínio Bacteria e Archaea, das ordens Methanobacteriales, Methanomicrobiales, Methanosarcinales e das famílias Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae no lodo dos reatores UASB e filtro anaeróbio. (reduzir)

- Investigar a diversidade microbiana do Domínio Bacteria e Archaea no lodo dos reatores UASB e filtro anaeróbio por meio do sequenciamento de nova geração Illumina MiSeq.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Bovinocultura leiteira

O início da atividade leiteira no Brasil começou com a chegada de 32 bovinos europeus em 1532 trazidos por Martim Afonso de Souza nas caravelas portuguesas, mas o relato da primeira ordenha foi registrado por meio de fotografia no ano de 1641 nas proximidades de Recife (Dias, 2012).

A bovinocultura leiteira permaneceu estagnada até 1870 e começou a se desenvolver após a abolição da escravidão em 1888 em todas as regiões brasileiras, mas começou a se organizar somente na era Vargas com a aprovação do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Origem Animal (Riispoa), que exigia a pasteurização do leite e o carimbo do serviço de inspeção Federal (SIF). Os primeiros registros da produção leiteira no país começaram em 1961 pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), com uma produção estimada em 5,2 milhão de toneladas (FAO, 2020). A partir da década de 90 com a abertura econômica o setor teve

que se profissionalizar tornando-se mais competitivo e moderno, o que resultou em um crescimento expressivo e maior produtividade das vacas ordenhadas além do salto qualitativo em função dos investimentos no setor (Durr, 2004; FAO, 2016; Vilela, 2017). O Brasil passou de importador de leite e lácteos na década de 70, para a posição de maior produtor e exportador de vários produtos agrícolas e pecuários, além de potencial exportador de commodities lácteas (Leite et al., 2020).

Atualmente a bovinocultura leiteira é considerada uma das principais atividades agropecuárias do mundo. O leite é um produto amplamente versátil sendo consumido nas suas mais diversas formas, como também apresenta importância econômica como fonte de renda e geração de emprego para grande parte da população mundial. A pecuária é uma das mais importantes bases para muitas cadeias produtivas (Vilela et al., 2016).

O leite figura entre os 5 produtos mais comercializados do mundo tanto em volume quanto em valor (GDP, 2017) e está presente na alimentação de cerca de 80% da população, contribuindo com 5% da energia, 10% da proteína e 9% da gordura consumida no planeta (Ramalho e Siqueira, 2020). O leite cru e seus derivados são responsáveis por fornecer vitamina D, vitamina A e representar uma fonte barata de proteína (Siqueira et al., 2018).

O consumo por cada habitante ano é em média 116,5 equivalentes kg de leite no mundo, com crescimento anual de 1,2%. Entretanto, esse valor médio varia consideravelmente de acordo com a renda per capita chegando a 300 equivalentes kg de leite em países como Austrália, Nova Zelândia e países da União Europeia e menos de 30 equivalentes kg de leite em alguns países africanos (Hemme, 2018).

O consumo aparente *per capita* no Brasil em 2018 foi de 166,4 L/hab. ano e cresceu mais de 60% em comparação ao consumo da década de 90. De acordo com a FAO (2013) o consumo brasileiro se adequa aos valores consumidos em outros países em desenvolvimento, de duas porções ao dia. A previsão é que o consumo litros habitante/ano chegue a 198 litros até 2025 segundo a Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Fiesp, 2016).

Esse expressivo crescimento foi determinado por um conjunto de fatores econômicos, demográficos, socioculturais, urbanização e principalmente pelo

mercado consumidor. A chamada geração Y, nascidos entre 1976 a 1995 e geração Z, nascidos entre 1996 a 2015 tem revolucionado o setor de alimentos no Brasil, ambas as gerações são questionadoras, são considerados influenciadores, preocupados com meio ambiente e desejam saber o que está por trás do produto. Assim, o consumidor tem incentivado empresas e instituições a desenvolverem práticas mais sustentáveis e a praticar o bem-estar animal (Siqueira, 2020; Beaver et al., 2020).

O número de vacas ordenhadas, dados do último censo em 2020, que teve como base o ano de 2017 em comparação com o censo de 2006 diminuiu em 1,2 milhões de vacas ordenhadas (tabela1). Entretanto, a produção leiteira apresentou um crescimento de 47% entre o censo de 2006 para o de 2020. O número de produtores que produzem acima de 200 litros/leite também apresentou crescimento expressivo passou de 44 mil para mais de 87 mil em 2017 (Embrapa, 2020) (figura 1). A produtividade cresceu enquanto o número do rebanho reduziu, resultado de uma maior profissionalização, melhoramento genético e adoção de tecnologia especializada em toda a cadeia produtiva. Nos Estados Unidos a produtividade aumentou 40% com 80% menos vacas leiteiras (Capper et al., 2009). O aumento da produtividade está relacionado ao sistema de criação em confinamento e semiconfinamento (Maciel et al., 2019). Segundo o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (2017) no período de 1975 a 2015 o desenvolvimento e utilização da tecnologia permitiram o crescimento de 58,4% na produção agropecuária. Segundo Manyika (2017) setores da agroindústria e da alimentação serão fortemente impactados pelos avanços tecnológicos e digitais.

A indústria de laticínios brasileira é o segundo ramo mais importante da indústria de alimentos no país, ultrapassou os segmentos de processamento de café, chá, cereais e açúcares e perde apenas para o de derivados de carne (Abia, 2017).

Tabela 1. Indicadores da atividade leiteira brasileira de 2006 e 2017

Indicador	Unidade	2006	2017
Estabelecimento com produção de leite	Milhões de produtores	1,351	1,176
Rebanho de vacas ordenhadas	Milhões de cabeças	12,711	11,507
Quantidade de leite produzido	Bilhões de litros	20,568	30,156
Produtividade animal	Litros/vaca/ano	1.618	2.621

Adaptado IBGE (censos agropecuários), 2020.

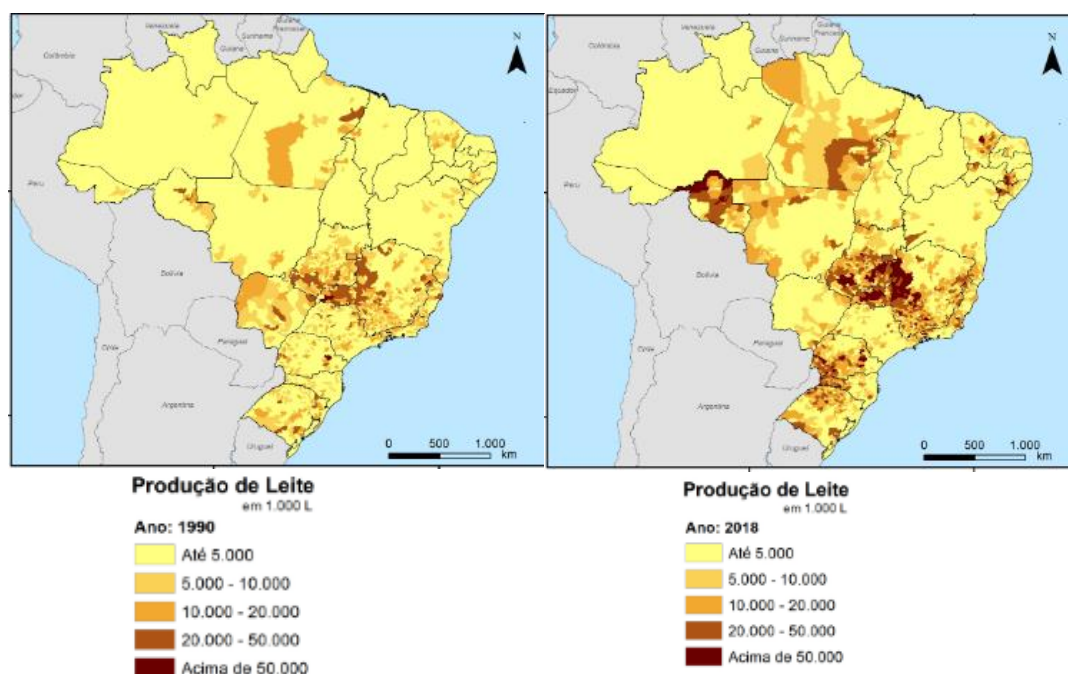


Figura 1. Evolução da produção de leite entre 1990 a 2018. Adaptado Cileite, 2020.

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite, ficando atrás apenas da Índia, Estados Unidos e Paquistão. No ano de 2018 foram produzidos 33 milhões de toneladas de leite (Stok et al., 2020). As regiões sudeste e sul encabeçam a produção nacional, no ano de 2018 foram produzidos pelas respectivas regiões 10,466 e 11,588 milhões de litros de leite (Zoccal, 2020).

O rebanho bovino brasileiro é o segundo maior do mundo, com 214,9 milhões de animais, o que corresponde a um volume significativo de água

destinada à pecuária. De acordo com dados da OCDE-Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Econômico, aproximadamente 70% da água consumida no mundo é destinada a agricultura, sendo que desse total 20% são para a produção de alimentos e para a criação animal. Estima-se que 10% da água consumida é empregada na pecuária. Uma vaca adulta em fase de alta produção pode consumir cerca de 150 litros de água/dia, além do uso para o consumo animal, grande volume de água é utilizado na limpeza da sala de ordenha, tanque de resfriamento e na limpeza de piso do curral. A remoção dos dejetos do curral com água consome em média 380 litros por vaca/dia (Otenio, 2020).

3. 2 Água na Bovinocultura leiteira

O Brasil possui 12% de toda água doce do mundo, as regiões norte e centro-oeste detêm 89% da água doce do país e apenas 14,5% da população se encontram nestas regiões. As regiões sudeste, sul e nordeste possuem mais de 45% da população e 3% dos recursos hídricos. A heterogeneidade da disponibilidade hídrica no país acarreta conflitos em diversas regiões brasileiras, secas extremas e enchentes catastróficas acarretam uma série de conflitos, uma vez que a necessidade dos usuários é maior do que a oferta de água (Barros, 2010; Junior e Silva, 2018; Ana, 2020).

Diante este cenário a gestão hídrica se torna cada vez mais comum. A produção de leite exige grandes volumes de água, o que tem configurado um desafio na atividade para o desenvolvimento de tecnologias que reduzam o desperdício e aumente a produtividade com a premissa em contribuir com o plano global “os 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS)”, objetivos adotados durante a Cúpula das Nações Unidas sobre o Desenvolvimento Sustentável. O plano tem como uma das premissas “garantir a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos” (Otenio, 2020). A produção de alimentos está associada à disponibilidade de água em quantidade e qualidade (Palhares, 2018).

A quantidade de água requerida para os animais na pecuária varia de acordo com as características do sistema adotado, raça dos animais, idade, peso, produtividade, clima e tecnologias adotadas na produção. Uma vaca adulta em fase de alta produção pode consumir cerca de 150 litros de água/dia (Emater, 2015). Além do uso para o consumo animal, grande volume de água é utilizado para limpeza da sala de ordenha e equipamentos (figura 2).

Os sistemas de criação em confinamento chegam a utilizar de 200 a 250 litros por unidade animal por dia com sistema de limpeza hidráulica (Carvalho e Silva, 2006). De acordo com Bewley et al. (2017) o sistema de criação em confinamento aumentou nos últimos anos em virtude a evolução da pecuária leiteira. Assim, a identificação das etapas de maior consumo de água possibilita a indicação de soluções para maior eficiência no uso da água e redução de desperdícios.

O consumo de água para remoção de dejetos nos sistemas de criação pode chegar a 380 litros por vaca/dia, ou 70 litros por m²/dia (Otenio, 2020).

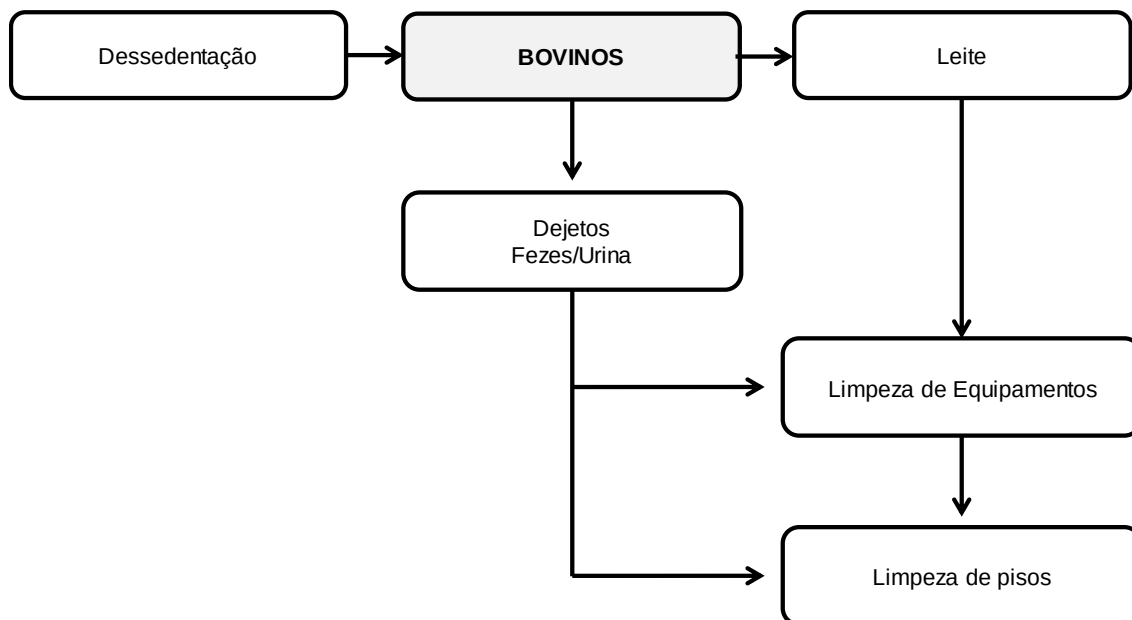


Figura 2. Utilização da água no sistema de produção da pecuária leiteira.

3.3 Efluente da Bovinocultura leiteira

O regime de produção, semiconfinamento, tem ganhado força nos últimos anos em virtude à necessidade de grandes áreas de terras próximas aos grandes centros urbanos e a pressão exercida pelos consumidores para fortalecer a adoção de sistemas de produção mais sustentáveis (Mota et al., 2017). Os países recordistas em produção de leite utilizam o sistema de confinamento para obter melhor produtividade do rebanho (Passetti et al., 2016). Entretanto, esse modo de produção tem como um dos maiores problemas a quantidade de dejetos gerados diariamente. Por ano são gerados no Brasil cerca de 317 milhões de toneladas de dejetos de bovinos leiteiros (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - IPEA, 2012).

A pecuária leiteira, assim como qualquer outra atividade, geram resíduos em seu processo de produção, que podem ou não representar riscos de contaminação ambiental devido à elevada concentração de matéria orgânica, que dispostos de forma inadequada podem causar impacto e sobrecarregar o solo, sendo lixiviados podem contaminar os corpos d'água (Bortoll et al., 2015).

O esterco bovino é proveniente de uma mistura de substâncias não totalmente digeridas no trato digestivo desses ruminantes, contêm elevada concentração de fibras que variam conforme os alimentos ingeridos (He et al., 2016).

Além do esterco a atividade leiteira também gera a água residuária que é a água descartada após utilização em diversas atividades, como por exemplo a lavagem dos pisos na área de semiconfinamento, que pode ser utilizada para fins agrícolas conforme a necessidade de nutrientes do solo e da cultura. Nitrogênio e fósforo são macronutrientes mais abundantes nas águas residuárias da bovinocultura leiteira (Pelissari, 2013). Quando despejados em corpos d'água em elevada quantidade podem ocasionar o crescimento de algas trazendo sérios prejuízos ao corpo receptor (Roston e Silva, 2010).

O efluente gerado em sistema de confinamento e semiconfinamento leiteiro varia entre 9 a 12% do peso vivo do animal por dia, esse percentual depende da quantidade de urina excretada, que por sua vez depende da

quantidade de água ingerida pelos bovinos (Campos et al, 2011) e da quantidade de água utilizada na lavagem dos equipamentos, limpeza da sala de ordenha e manejo alimentar (Campos et al., 2002).

A água residuária da bovinocultura leiteira também é dependente da dieta das vacas em lactação que é definida de acordo com os requerimentos nutricionais necessários para o atendimento da função produtiva do animal, além de considerar o nível de produção, o estágio da lactação, a idade da vaca, o consumo esperado de matéria seca, a condição corporal e os tipos e valores nutritivos dos alimentos a serem utilizados (Embrapa, 2003). Forragens e grãos são os alimentos mais comumente utilizados, a dieta a base de volumosos (pasto, silagem e feno) não são suficientes para manter a produtividade leiteira, sendo necessário fornecer uma mistura de minerais, concentrados, vitaminas e água de qualidade (Medeiros et al., 2015).

Grande parte dos alimentos fibrosos não são totalmente digeridos no rumem dos animais pela fermentação celulolítica, o que acarreta altos teores de celulose, lignina, hemicelulose além de outros componentes em menores concentrações como pectinas, polissacarídeos solúveis, proteínas, clorofila e sais orgânicos no esterco excretado (Martinez et al., 2009).

A lignina, a celulose e a hemicelulose são polímeros estruturais formadores das paredes celulares (Pérez et al., 2002). A celulose representa de 40 a 50% da biomassa, é um polímero linear de β -glicose que formam longas cadeias lineares resultando na formação de uma estrutura fibrosa e resistente chamada de microfibrilas. (Francisco Junior, 2008; Chandra et al., 2012;). Já a hemicelulose, representa de 23 a 30 % da biomassa e é formada principalmente por uma variedade de açúcares (Zheng et al, 2014). A lignina corresponde a aproximadamente 25% da biomassa, é uma macromolécula polifenólica complexa que está altamente organizada na parede celular, conferindo alta recalcitrância na biomassa, sua função é fornecer suporte estrutural resistência química e biológica as plantas. A composição desses polímeros nos vegetais varia consideravelmente entre diferentes substratos (Pérez et al., 2002; Davison et al., 2013; Zheng et al., 2014). A degradação da biomassa lignocelulósica em material fermentável é dificultada pela lignina que atua como barreira física na ação de enzimas e microrganismos (Angelidaki et

al., 2009; Dollhofer et al., 2015).

O dejetto do gado é rico em nutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e matéria orgânica carbonácea (Pelissari et al., 2013; Bai et al., 2016), que são os principais causadores de contaminação ambiental. A utilização do dejetto como fertilizante é amplamente utilizado em todo território brasileiro, seu manejo adequado pode fornecer inúmeros benefícios na manutenção da demanda de nutrientes e aumentar a fertilidade do solo (Wang et al., 2015; Matos, et al., 2015; Cherobim, 2017; Schlegel et al., 2017).

A utilização adequada do esterco bovino pode substituir ou minimizar o uso de fertilizantes químicos além de reduzir as emissões de nitrogênio (Xia et al., 2017). De acordo com Matos e Matos (2017) a aplicação constante de efluentes pode incorporar quantidades apreciáveis de matéria orgânica no solo.

O uso do esterco in natura de maneira descontrolada pode ocasionar deterioração das características do solo e poluição de águas superficiais ou subterrâneas (Font-Palma, 2019). Assim, para utilização do esterco se faz necessário identificar os requerimentos nutricionais do solo. Catapan et al. (2011) destaca o potencial poluidor desse resíduo quando acontece o manejo inadequado, além de favorecer a liberação de gases de efeito estufa (GEE) (Zhuang et al., 2019). De acordo com Chadwick et al. (2011) as emissões de (GEE) do esterco animal ocorre em diferentes fases: alojamento do gado; armazenamento do esterco e deposição do esterco no solo.

A limpeza dos sistemas de criação pode ser realizada por meios mecânicos (raspagem) ou hidráulicos. Na raspagem o esterco é coletado por meio de pás ou raspadores mecânicos ou manuais, já o sistema hidráulico consiste na lavagem do esterco, usualmente realizado por jateamento (Rico et al., 2011a; Rico et al., 2012). A água usada na limpeza dos sistemas em confinamento se mistura com os resíduos orgânicos resultando em um grande volume de esterco líquido. Estima-se que o uso de água no jateamento em uma fazenda leiteira é de aproximadamente 300L por vaca por dia (Technology Focus, 2014). O grande volume de água residuária da bovinocultura leiteira gerada na limpeza das instalações, quando mal manuseada, pode ser uma fonte de contaminação do solo e da água com uma sobrecarga de nutrientes. A contaminação aquática pode ocorrer via lixiviação ou lavagem do solo,

infiltração no solo até o lençol freático ou lançamento direto nos rios e lagos.

Assim, os nutrientes presentes no esterco o tornam uma mercadoria valiosa, como também uma ameaça ao meio ambiente, fazendo necessário o gerenciamento da enorme quantidade de esterco produzido diariamente propondo uma utilização mais inteligente (Neshat et al., 2017). A busca por alternativas que solucionem ou mitiguem estas problemáticas ambientais apresenta-se como um dos grandes desafios dos setores produtivos (Kim et al., 2013).

O aproveitamento da água residuária é uma oportunidade para produção de energia e biogás, incluindo ainda a produção de biofertilizante, diminuindo a dependência do uso de fertilizantes químicos, promovendo um planejamento sustentável para evitar risco de contaminação ambiental.

3.4 Microbiologia da Digestão Anaeróbia

O processo da digestão é realizado por uma complexa comunidade de microrganismos anaeróbios, que na ausência de oxigênio degradam substratos orgânicos (Wu et al., 2010; Batstone e Virdis, 2014; Jonge et al., 2017). É um processo que ocorre naturalmente em ambientes como pântanos, manguezais, solo, trato digestivo de ruminantes, sedimentos de Lagos, rios e mares. O dinamismo do processo anaeróbio envolve processos metabólicos complexos e sequenciais realizados por um consórcio microbiano, que compreendem diferentes espécies de microrganismos. Vários substratos orgânicos são degradados, resíduos mais facilmente biodegradáveis tornam a digestão anaeróbia mais eficiente (Chernicharo, 2007).

A digestão anaeróbia pode ser entendida como um processo de duas etapas. Na primeira etapa tem a formação de ácidos proveniente das fases de hidrólise, acidogênese e acetogênese na segunda etapa os ácidos formados são convertidos em metano e dióxido de carbono na fase da metanogênese (Song et al., 2004; Salomoni et al., 2011).

Esse processo de digestão é amplamente utilizado no Brasil para o tratamento de diversos efluentes com alta carga orgânica e alta concentração de resíduos sólidos com remoções médias de 60 a 70% da carga orgânica (Brasil, 2015), além de reduzir as emissões de gases de efeito estufa (Liang e McDonald, 2015).

O sucesso da digestão anaeróbia depende do equilíbrio entre os seus diferentes estágios denominados hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese que são responsáveis por transformar os componentes orgânicos complexos em produtos menos complexos que posteriormente são convertidos em biogás e biomassa (Angelonidi e Smith, 2015) (Figura 3). Alguns autores retratam o processo de digestão anaeróbia em três etapas: hidrólise, acidogênese e a metanogênese (Neshat et al., 2017).

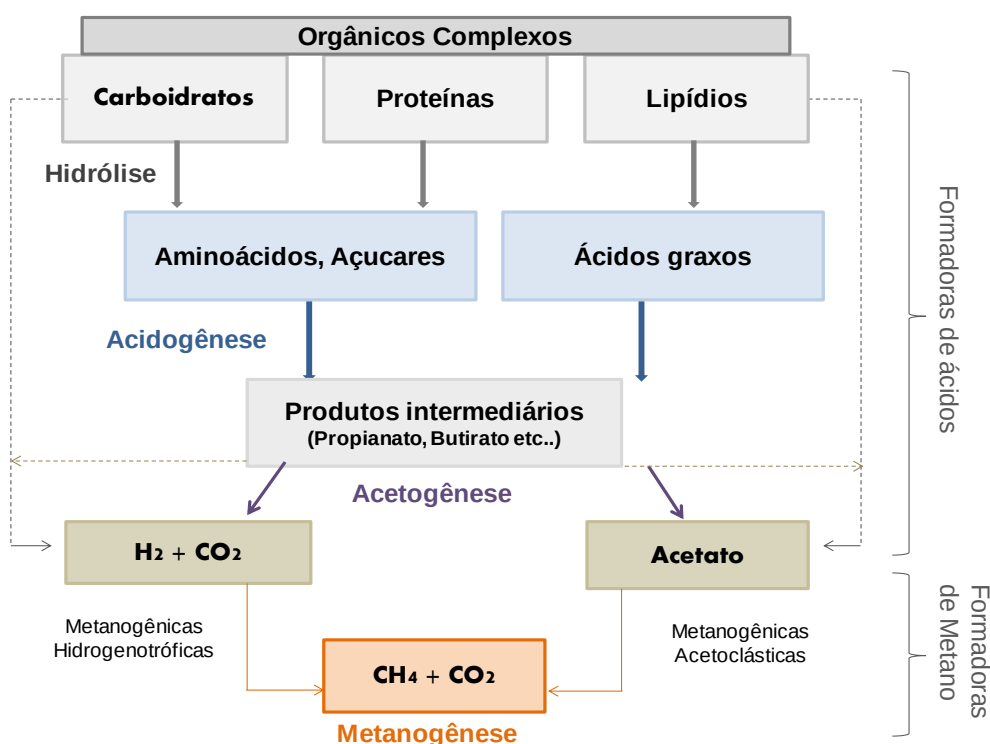


Figura 3. Esquema geral das fases do processo de digestão anaeróbia. Adaptado: Chernicharo, 2007.

O biogás é o principal produto do processo de digestão anaeróbia sendo composto por metano, dióxido de carbono, gás sulfídrico, nitrogênio, hidrogênio e vapor d'água. Dependendo do substrato utilizado durante a digestão o biogás é inodoro e insolúvel (Chernicharo, 2016). Além da produção do biogás,

principalmente o gás metano (CH_4) que pode ser utilizado para fins energéticos como combustível veicular, gás natural, energia elétrica, entre outros, o processo anaeróbio também reduz a concentração da matéria orgânica em diferentes afluentes e tem como vantagem o baixo consumo de energia, menor produção de lodo e menor área para implantação (Chen, 2014; Lymperatou et al., 2017 ; Passos et al., 2017).

3.4.1 Hidrólise

A primeira etapa da digestão anaeróbia é a hidrólise, nesta etapa os materiais particulados complexos como carboidratos, proteínas e lipídeos são hidrolisados pelas bactérias fermentativas hidrolíticas, as quais liberam uma variedade de enzimas, incluindo protease, amilase e lipase que hidrolisam os compostos orgânicos em materiais dissolvidos mais simples, moléculas menores como açúcares, aminoácidos e ácidos graxos. Os compostos orgânicos complexos são insolúveis para as bactérias acidogênicas, após a hidrólise esses compostos mais simples conseguem ser transportados para o interior das bactérias acidogênicas (Eastman; Ferguson, 1981; Chernicharo, 2007; Guo e Xu 2011).

A formação de ácidos orgânicos voláteis é o produto resultante da hidrólise de aminoácidos, monossacarídeos e ácidos de cadeia longa (Vavilin et al., 2008).

Essa primeira etapa é um processo que acontece de forma lenta e muitas vezes é limitante para as etapas subsequentes no tratamento de efluentes que contêm altas concentrações de sólidos suspensos ou partículas muito grandes. A hidrólise dos materiais particulados de maior tamanho se faz necessária para promover a disponibilidade desses compostos para os microrganismos sem afetar as etapas da digestão (Aquino; Chernicharo, 2005).

Alguns substratos possuem características recalcitrantes como lignina, celulose e hemicelulose tornando a hidrólise mais lenta, ou seja, as enzimas hidrolíticas precisam ficar em contato com esses compostos por mais tempo a

fim de hidrolisar essa biomassa em compostos menores e assim serem metabolizados nas próximas etapas da digestão (Yadvika et al., 2004).

Fatores como pH, temperatura, tempo de detenção hidráulica, concentração de matéria orgânica, característica do afluente também podem afetar a eficiência da hidrólise (Rincón et al., 2008; Carballa et al., 2015). Para Luo et al. (2015) variações da temperatura interferem nos filos de bactérias Firmicutes e Bacteroidetes. A complexidade dos microrganismos nas etapas da digestão requer diferentes requisitos ambientais (Khalid et al., 2011).

As enzimas produzidas pelas bactérias hidrolíticas não conseguem romper as estruturas de algumas partículas sólidas tornando o processo parcialmente ineficiente (Chernicharo, 2007; Adekunle e Okolie, 2015). Segundo Insam et al. (2010) e Venkiteshwaran et al. (2015) os principais gêneros dos microrganismos envolvidos na etapa de hidrólise são *Clostridium* produtoras de lipases para degradar ácidos graxos e glicerol, *Acetivibrio* produzem amilases que degradam polissacarídeos a açúcares e *Bacteroides* e *Selenomonas* que são responsáveis pelas proteases que quebram proteínas e aminoácidos. Já Azman et al. (2015) relatam que os principais gêneros na hidrólise durante a digestão anaeróbia são *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Caldicellulosiruptor*, *Caldanaerobacter*, *Butyrivibrio*, *Acetivibrio*, *Halocella*, *Eubacterium*, *Bacteroidetes*, *Fibrobacter*, *Fervidobacterium* e *Thermotoga* e os filos mais encontrados são Firmicutes e Bacteroidetes (Gomes, 2014; Azman et al., 2015).

A diversidade microbiológica na fase da hidrólise comprova a capacidade dos microrganismos em degradar diferentes substratos (Levén; Eriksson; Schnurer, 2007).

3.4.2 Acidogênese

A segunda etapa da digestão anaeróbia conhecida como acidogênese metabolizam os produtos gerados na hidrólise pelo grupo de bactérias fermentativas acidogênicas e secretam compostos mais simples como ácidos

orgânicos, ácidos acéticos e ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AVT), álcoois e cetonas provenientes das moléculas orgânicas formadas na etapa da hidrólise. Nesta etapa grande quantidade de hidrogênio (H_2) é produzida sendo considerada a etapa que mais gera energia devido à rápida cinética na conversão do substrato orgânico em subprodutos, além de possuírem baixo tempo mínimo de geração (~ 30 minutos), assim, a acidogênese só se tornará limitante durante a digestão se o substrato não for devidamente hidrolisado. (Chernicharo, 2007; Kothari et al., 2014).

A maioria das bactérias acidogênicas são representantes dos filos Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Chloroflexi e Actinobacteria (Leng et al., 2018). Os gêneros de bactérias fermentativas como *Clostridium*, *Paenibacillus* e *Ruminococcus* participam desta etapa, (Deublein; Steinhauser, 2008; Gomes, 2014), já os gêneros associados ao filo Firmicutes são identificados como *Clostridium*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Proteiniphilum*, *Desulfovibrio*, *Geobacter*, *Chloroflexus* e *Mycobacterium* (Cai et al., 2016).

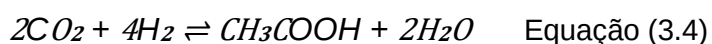
A grande maioria das bactérias na acidogênese são anaeróbias estritas, entretanto, alguns grupos são facultativos, ou seja, podem sobreviver sob condições anaeróbias e aeróbias, responsáveis pela metabolização via oxidativa, utilizam o O_2 comoceptor final de elétrons (Van Haandel; Lettinga, 1994; Chernicharo, 1997).

Os produtos formados na acidogênese podem ser utilizados na acetogênese e na metanogênese. Uma atenção especial deve ser dada a concentração de hidrogênio (H_2) formada durante este processo, se a concentração de H_2 for muito alta muitos compostos reduzidos como propionato e butirato serão formados ocasionando um desequilíbrio na digestão anaeróbia, interferindo no pH do meio. Em situações de equilíbrio o H_2 produzido é consumido via metanogênese, em que os microrganismos metanogênicos utilizam o H_2 e o dióxido de carbono (CO_2) para conversão em metano, o que reduz a pressão de H_2 durante o processo e favorece a produção de metano pela via acetogênica (Mosey, 1983; Foresti et al., 1999).

3.4.3 Acetogênese

A acetogênese é a terceira etapa da digestão anaeróbia, responsável por transformar os produtos da fase anterior em ácido acético, acetato e hidrogênio pelas bactérias acetogênicas (Chernicharo, 2007; Abdelgadir et al., 2014; Ferreira, 2015). Somente o acetato e o H_2 podem ser diretamente utilizados pelos microrganismos metanogênicos.

As bactérias acetogênicas são divididas em dois grupos, as sintróficas acetogênicas e as homoacetogênicas. As sintróficas acetogênicas produtoras de hidrogênio obrigatórias produzem ácido acético, CO_2 e H_2 a partir de uma grande variedade de substratos e só se desenvolvem no meio com baixas pressões de hidrogênio que são mantidos pelas Arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. Os gêneros mais conhecidos são *Syntrophomonas* e *Syntrophobacter*. As homoacetogênicas catalisam a formação de acetato a partir de CO_2 e H_2 e são responsáveis pelo equilíbrio da reação de consumo de hidrogênio e gás carbônico para produção de acetato (equação 3.4) (Chernicharo, 2007; Abreu, 2007; Deublein e Steinhauser, 2008). Os gêneros mais conhecidos das homoacetogênicas são *Actobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Butribacterium*, *Clostridium* e *Pelobacter*.



A pressão de H_2 dentro do sistema é conhecido como transferência de hidrogênio interespecie, os gêneros *Syntrophothermus*, *Pelotomaculum* e *Smithella* são representantes das bactérias acetogênicas envolvidas neste processo e responsáveis pela degradação do propionato, já as *Syntrophus*, *Syntrophomonas* e *Syntrophothermus* oxidam butirato e outros ácidos graxos (Venkiteshwaran et al., 2015; Cai et al., 2016).

3.4.4 Metanogênese

A última fase da digestão anaeróbia é realizada pelas arqueas metanogênicas, grupo estritamente anaeróbio, na presença de oxigênio as arqueas metanogênicas são inibidas ou morrem. São pertencentes ao Domínio Archaea e responsáveis pela conversão dos subprodutos advindos da fase anterior a biogás durante a decomposição da matéria orgânica (Ali Shah et al., 2014).

O biogás produzido é constituído principalmente de metano (CH_4) de 50 a 70%, posteriormente o gás mais abundante é o dióxido de carbono (CO_2) de 25 a 45% e em menores concentrações têm-se o oxigênio (O_2) de 0 a 2%, sulfeto de hidrogênio (H_2S) de 0 a 1%, hidrogênio (H_2) de 0 a 1%, vapor d'água de 2 a 7%, amônia (NH_3) de 0 a 1% e monóxido de carbono (CO) de 0 a 2% (Ali Shah et al., 2014).

As metanogênicas pertencem ao grupo das Euryarchaeota, filo do Domínio Archaea e são divididas em quatro classes: Methanobacteria, Methanococci, Methanopyri e Methanomicrobia com suas referentes ordens: Methanobacteriales, Methanococcales, Methanopyrales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales, as duas últimas pertencem à classe Methanomicrobia (Vazoller et al., 1999) (Figura 4).

As arqueas metanogênicas podem ser hidrogenotróficas ou acetoclásticas, sendo que a última tem afinidade pelo acetato, convertem acetato a metano, via mais relevante na digestão anaeróbia, aproximadamente 60 a 70% do metano produzido durante a digestão anaeróbia. As arqueas metanogênicas hidrogênótóricas convertem hidrogênio e dióxido de carbono a metano e são cruciais no equilíbrio da digestão pela capacidade em consumir o H_2 do meio (Leng et al., 2018).

Classe	Ordem	Família	Gênero
Methanomicrobia	Methanosarcinales	Methanosaetaceae	<i>Methanosaeta</i>
		Methanosarcinaceae	<i>Methanosarcina</i> <i>Methanomethylovorans</i>
	Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	<i>Methanomicrobium</i> <i>Methanogenium</i> <i>Methanoplanus</i> <i>Methanoculleus</i>
Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanospirillaceae	<i>Methanospirillum</i>
		Methanocorpusculaceae	<i>Methanocorpusculum</i>
			<i>Methanobacterium</i> <i>Methanobrevibacter</i> <i>Methanosphaera</i>

Figura 4. Principais grupos de arqueas metanogênicas encontradas em sistemas de tratamento anaeróbio. Adaptado de Madigan et al. (2003).

As arqueas metanogênicas acetoclásticas da ordem das Methanosarcinales tem dois principais gêneros que são as *Methanosrcina* e *Methanosaeta*. As *Methanosrcina* são pertencentes à família Methanosarcinaceae que tem como característica a formação de cocos que se agregam, formando uma espécie de pacote além de apresentarem baixa taxa de crescimento específico, mas alta afinidade pelo acetato. Já as *Methanosaetas* pertencem à família Methanosaetaceae e tem como característica espécies que formam filamentos longos e finos, importantes na formação da trama microbiana presente nos grânulos de reatores anaeróbios e apresentam alta afinidade pelo acetato, porém baixa taxa de crescimento (Jetten et al., 1992; Chernicharo, 2007;. Yu et al., 2005).

A microbiota presente nesta fase mantém o equilíbrio da digestão pelo consumo de hidrogênio e são responsáveis pela produção do gás metano. A

presença de sulfato nas águas residuárias podem promover outra etapa da digestão anaeróbia, a sulfetogênese. Nesta etapa o sulfato é reduzido a sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS). A presença desse grupo de bactérias na digestão anaeróbia inibe a metanogênese por competição de substratos, já que as BRS metabolizam uma maior variedade destes, o que as tornam mais versáteis a diferentes condições além de apresentarem crescimento mais acelerado em relação as arqueas metanogênicas que metabolizam substratos característicos como (H_2 , acetato e CO_2), apresentam crescimento mais lento e são mais sensíveis a variações ambientais como pH, temperatura, compostos tóxicos entre outros durante a digestão. Na sulfetogênese o produto final é o gás sulfídrico (H_2S), gás corrosivo de odor desagradável e tóxico para as arqueas metanogênicas (Chernicharo, 1997; Zhao et al., 2008; Khalid, 2011).

As etapas da digestão devem ocorrer de forma equilibrada e sintrófica para que os produtos gerados durante as fases da digestão sejam consumidos assim que formados, uma vez que os microrganismos metanogênicos são os mais sensíveis do processo anaeróbio (Luo e Angelidaki, 2014). O equilíbrio entre as arqueas metanogênicas e as bactérias acetogênicas é fundamental para não promover o acúmulo de ácidos durante a digestão anaeróbia (arshadia; Sellstedt, 2008). Variações na composição do Material orgânico e nas condições operacionais do processo anaeróbio podem promover o desequilíbrio de todo o processo (Choong et al., 2016). Assim, a degradação da matéria orgânica ocorrerá de forma eficiente se as condições forem favoráveis.

Por se tratar de um processo biológico os fatores ambientais como pH, temperatura, acidez, concentração de nutrientes, produtos tóxicos no meio devem ser monitorados a fim de eliminar condições de limitação durante o processo de digestão anaeróbia, que tem se mostrado uma tecnologia atrativa para obter produtos como calor e energia, além de reduzir o potencial poluidor de efluentes (Li et al., 2020).

Sylvestre et al. (2014) operaram um sistema anaeróbio no tratamento de águas residuárias da suinocultura com o objetivo na redução de indicadores de contaminação biológica. O sistema consistia em dois reatores de manta de lodo

anaeróbio ascendente (UASB) com volume de 510 e 209 L, sendo dispostos em série, os tempos de retenção hidráulica (TDH) aplicados no primeiro reator UASB foram 40, 30, 20 e 11 h, a carga orgânica aplicada foi de 6,8 a 13,7 (g DQO total (L d)⁻¹). O sistema obteve eficiência de remoção de 92,92% a 99,50% para coliformes totais, 94,29% a 99,56% para coliformes termotolerantes e 96,44 a 99,11% para ovos de helmintos. Os autores observaram uma redução de duas unidades logarítmicas para coliformes totais e termotolerantes, entretanto, com a redução do TDH para 11 horas as remoções foram na ordem de um logaritmo.

3.5 Tratamento anaeróbio de águas residuárias da bovinocultura leiteira

A digestão anaeróbia é uma técnica de tratamento biológico empregado para a estabilização da matéria orgânica com geração de biogás e possível fertilizante (El-Mashad & Zhang, 2010; Agyeman & Tao, 2014).

Orrico et al. (2016) utilizaram efluente de bovino na codigestão anaeróbia com óleo de descarte em biodigestores em batelada e observaram incremento nas produções específicas de biogás e reduções dos constituintes sólidos e fibrosos.

Wilkie et al. (2004) trabalharam com a água residuária da bovinocultura leiteira coletada por jateamento hidráulico em reator de leito fixo. Os autores realizaram pré-tratamento para separar as frações líquida e sólida por meio de triagem e sedimentação da água residuária e concluíram que a digestão anaeróbia é viável para este tipo de resíduo, já que o digerido pode ser usado como biofertilizante dada à quantidade de nutrientes que permanecem no efluente.

O pré-tratamento mecânico de esterco animal é um método rápido e facilmente aplicável a fim de preparar a biomassa para a digestão anaeróbia além de favorecer o rendimento de metano (Tsapekos et al., 2017).

Masih-Das et al. (2018) identificaram que a co-digestão anaeróbia com maior proporção de esterco da bovinocultura leiteira inibe a produção de biogás devido à recalcitrância de compostos lignocelulósicos como a celulose a lignina e seus derivados. O pré-tratamento químico, físico e biológico pode facilitar o processo de degradação da biomassa lignocelulósica deste que torne a celulose e hemicelulose mais acessíveis às enzimas hidrolíticas, quebrando assim a ligação entre os polissacarídeos e a lignina (Mustafa et al., 2016).

Garcia et al. (2008) avaliaram o uso de poliacrilamida na biomassa de reator anaeróbio para promover maior sedimentação trabalhando com a fração líquida do esterco bovino. Foram utilizados dois reatores UASB (Reator anaeróbio de fluxo ascendente) no estudo, um com a biomassa livre e outro com a biomassa sob adição de poliacrilamida. Os autores observaram que o reator tratado com poliacrilamida apresentou melhor retenção da biomassa e melhor desempenho operacional. Rico et al. (2012) também utilizaram a poliacrilamida como técnica para separar as frações sólido-líquida do esterco. As características da fração líquida permitem seu tratamento em sistemas de alta carga.

Passos et al. (2017) realizaram a análise técnico-econômica do pré-tratamento termoquímico alcalino e ácido do esterco da bovinocultura leiteira para melhorar a biodegradabilidade do esterco na hidrólise. Foram observados melhores rendimentos de metano após o pré-tratamento nas condições estudadas, entretanto, a análise econômica se mostrou inviável prevalecendo à digestão anaeróbia convencional.

Umaña et al. (2008) avaliaram o desempenho de reatores de leito fixo com diferentes meios suportes, um reator foi preenchido com pedaços de borracha e pedra zeólita e outro somente com pedaços de borracha no tratamento do esterco bovino diluído. Foi observado pelos autores que essas configurações de reatores foram capazes de operar com TDH 5 vezes menores que os reatores convencionais no tratamento do mesmo efluente.

Wang et al. (2020) notaram melhora notável na degradação do esterco bovino semisseco após o pré-tratamento com permanganato de potássio por 8h, alcançando reduções máximas de celulose e lignina em torno de 49% e 48% respectivamente, elevando também a produção de metano.

Rico et al. (2011) observaram que a produção de metano da água residuária da bovinocultura leiteira é favorecida quando ocorre a separação das frações líquida e sólido do esterco e em função do TDH. Os autores concluíram que a biometanização da fração líquida filtrada do esterco leiteiro tem potencial para fornecer até 2% da energia elétrica total na região da Cantábria.

Rico et al. (2012) estudaram a digestão anaeróbia da fração líquida do esterco leiteiro em reator anaeróbio de alta carga (manta de lodo anaeróbio de fluxo ascendente (UASB) operando a 25°C. A separação das frações sólido-líquida do esterco foi realizado por meio de prensagem e centrifugação aprimorada com floculantes. Foi observado redução da eficiência de remoção de DQO com a diminuição do TDH inferior a um dia, entretanto, o reator se manteve estável. A produção volumétrica de metano foi significativamente maior do que a produção observada em reatores de mistura completa convencional que tratam o esterco sem pré-tratamento, além de eficiências de remoção de DQO superiores a 80%.

Vidal (2015) avaliou a Produção de biogás em reator anaeróbio de alta taxa alimentado com fração líquida de esterco bovino peneirado e observou alta remoção de matéria orgânica, eficiências superiores a 90% de remoção de DQO total. Foi observado o aumento na concentração de sólidos voláteis no interior do reator e consequentemente menor produção de biogás foi observada nessa situação, o que evidenciou a retenção de biogás na manta de lodo.

Orozco et al. (2020) avaliaram o efeito da digestão anaeróbia mesofílica em reator de tanque agitado contínuo para o tratamento de esterco da bovinocultura leiteira peneirada em malha de 6,35 mm, com o objetivo de investigar a redução na carga de genes de resistência a antibióticos. Há uma preocupação crescente a respeito do impacto potencial dos antibióticos residuais no meio ambiente. A digestão anaeróbia mesofílica foi capaz de reduzir a coocorrência de diferentes grupos de genes de resistência a antibióticos potencialmente localizados nos mesmos elementos genéticos. Gurmessa et al. (2020) também observaram que a digestão anaeróbia não pode garantir remoção eficaz dos antibióticos veterinários (VAs) e dos genes de resistência a antibióticos (ARGs) do esterco. O uso do efluente digerido

como fertilizante sem tratamento adicional poderia ser um meio de canalizar VAs e ARGs para o meio ambiente. Os autores concluíram que pesquisas futuras precisam se concentrar na obtenção de digestado livre de antibióticos ou torná-lo livre de VAs antes de aplicá-lo ao solo.

3.6 Pós-tratamento aeróbio de águas residuárias

A digestão aeróbia acontece na presença de oxigênio e assim como a digestão anaeróbia a degradação da matéria orgânica é realizada por um grupo de microrganismos (Kothari et al., 2014). Processos de tratamento aeróbio tendem a ser mais autônomos quando comparado à digestão anaeróbia, já que em muitas situações não necessitam de uma etapa adicional para melhorar a qualidade do efluente final e podem alcançar os limites estabelecidos na legislação ambiental para lançamento em corpos d'água (Brasil, 2005).

A biomassa microbiana nos processos aeróbios pode ser suspensa ou aderida sendo constituída basicamente por bactérias, micrometazoários, fungos e protozoários. Micrometazoários como fungos e rotíferos podem ser eventualmente encontrados, mas sua importância é menor (Von Sperling 2016). Esses organismos se concentram formando uma unidade estrutural heterogênea chamada de floco, que além dos organismos vivos também são constituídos por microrganismos mortos, material orgânico e inorgânico, mantidos por meio de uma matriz gelatinosa composta por substâncias poliméricas extracelulares e proteínas (Metcalf e Eddy, 2016).

O Floco aeróbio permite uma associação sintrófica dos microrganismos aderidos a ele, o que o torna bastante heterogêneo. O floco pode ser dividido em zonas anaeróbias, na parte central do floco, zonas anóxicas na camada intermediária e zonas aeróbias que compreende a porção externa do floco (Figura 5) (Gao et al., 2011; Ekama, 2015; Han et al. 2018).

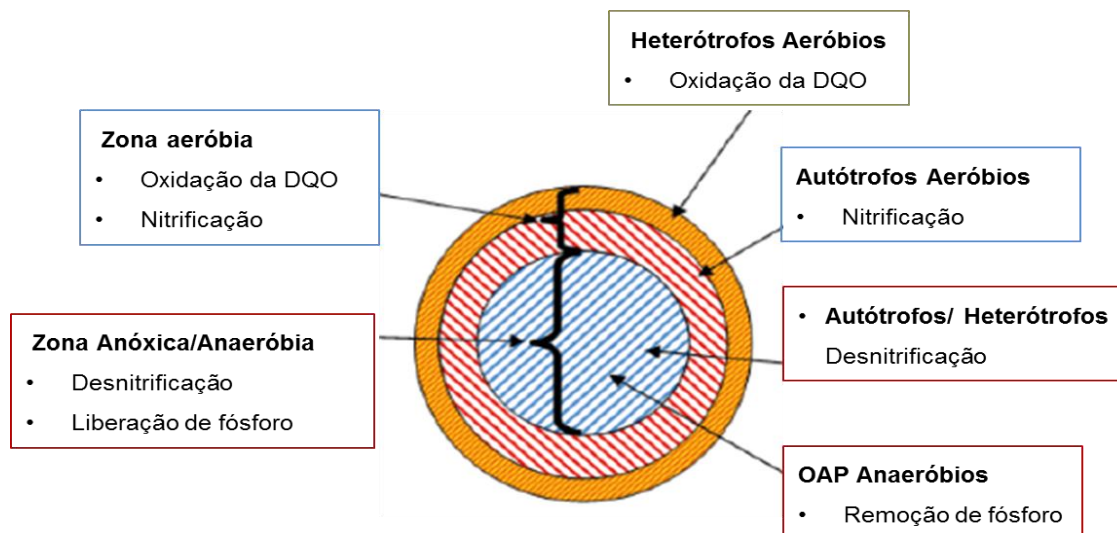


Figura 5. Representação esquemática da estrutura de um floco aeróbio. Adaptado de Ekama, 2015.

O principal objetivo do pós-tratamento aeróbio, quando é utilizado o tratamento misto (anaeróbio-aeróbio) é complementar a remoção de matéria orgânica remanescente e promover a remoção de constituintes não removidos pelo tratamento anaeróbio como nutrientes (nitrogênio e fósforo) e organismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) (Von Sperling; Chernicharo, 2005; Van Haandel e Van Der Lubbe, 2012; Pathak et al. 2020).

Em condições anaeróbias o nitrato é desnitrificado promovendo a redução de formas nitrogenadas a nitrogênio gasoso, além de ser considerada uma zona seletora para os microrganismos armazenadores de fósforo (OAP), que tem o seu desenvolvimento favorecido nesta condição, já que assimilam elevadas concentrações de fósforo do meio líquido, bem superiores aos requisitos metabólicos normais. Essa estratégia permite que uma parcela do fósforo seja eliminado do sistema por meio do descarte do lodo.

Bactérias nitrificantes e as bactérias acumuladoras de fósforo (OAP) se localizam na porção aeróbia do floco, as nitrificantes são responsáveis pela conversão da amônia em nitrato obtendo energia por meio da oxidação de um substrato orgânico. Nesta zona ocorre o consumo do substrato armazenado pelos (OAP) (Beun *et al.*, 2001, De Kreuk *et al.*, 2005; Ekama, 2015). Assim, a remoção do fósforo presente no efluente requer uma condição de alternância

entre as condições anaeróbias e aeróbias (Von Sperling, 2016). Microrganismos dos gêneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e *Aeromonas* são caracterizados como organismos acumuladores de fósforo (Yang et al., 2017)

A água residuária de diferentes indústrias e agroindústrias contém formas nitrogenadas como nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato. As duas últimas formas são as oxidadas e as demais correspondem às formas reduzidas (Von Sperling, 2016; Metcalf e Eddy, 2016).

A liberação de compostos nitrogenados nos sistemas aquáticos tem sido bastante relatada nos últimos anos. Esses compostos em meio aquático provocam problemas de acidificação e eutrofização. Assim, a remoção desses compostos das águas residuárias antes de seu descarte se faz necessária (Silva, 2013).

As tecnologias de tratamento biológico de águas residuárias são uma alternativa promissora e bastante eficiente na remoção de compostos orgânicos e nutrientes. O processo aeróbio de lodos ativados é amplamente utilizado para o tratamento de diferentes águas residuais (Cadet et al., 2016).

Dentre as tecnologias de tratamento aeróbio o sistema de lodos ativados é um dos mais utilizados para o tratamento de esgoto doméstico (Hreiz et al., 2015; Nancharaiah e Reddy, 2017) e é amplamente utilizado nas estações de tratamento de esgoto no Brasil (Ana, 2017). O reator operado em batelada sequencial (RBS) tem sido amplamente utilizado em Países populosos como a Índia e em algumas regiões da Europa, devido à sua baixa exigência de área e de mão de obra para operação (Dutta e Sarkar, 2015).

A biomassa presente neste sistema se encontra em suspensão e opera com uma mistura de água residuária e lodo ativo que é designado de etapa mista, o crescimento e a concentração do lodo ocorrem de forma gradual por meio do metabolismo aeróbio que consome a matéria orgânica convertendo-a em biomassa microbiana, dióxido de carbono, água e minerais (Barros jr., 2008). O descarte de uma porção do lodo às vezes se faz necessária para que o excesso de lodo não prejudique o processo de tal modo que a massa de lodo permaneça constante e garanta o desempenho do sistema, além de controlar o tempo de retenção de sólidos ou idade do lodo no sistema (Van Haandel; Marais, 1999; Henrique et al, 2010; Chon et al., 2012).

Parâmetros como o tempo de retenção celular e a relação alimento/microrganismo (A/M) são comumente utilizados para controlar o processo de lodos ativados. A escolha do tempo de retenção celular e a configuração do sistema interferem diretamente na característica da biomassa (Metcalf e Eddy, 2003; Chon et al., 2012). Variante do processo de lodos ativados como por exemplo, reator operado em batelada sequencial tem como parâmetro a relação A/M de 0,04 - 0,10 (kg DBO/kg SSV⁻¹/d⁻¹) para obter desempenho satisfatório e operação confiável no sistema (Metcalf e Eddy, 2003). Lodo ativado com aeração prolongada apresenta idade do lodo na ordem de 18 a 30 dias, assim o lodo produzido é estabilizado dentro do próprio sistema por meio dos processos metabólicos da biomassa (Von Sperling, 2016).

A comunidade microbiana presente no sistema de lodos ativados é complexa e dinâmica composta em sua grande maioria por bactérias, protozoários e fungos (Bento et al, 2005). A associação deste grupo de microrganismos garante o funcionamento do processo que pode ser afetado pelas condições operacionais impostas, tornando assim o processo instável e desafiador (Amman; Glockner; Neef, 1997; Boorzoei et al., 2019).

Em sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de reatores anaeróbios a remoção dos compostos nitrogenados pode ser dificultada pela remoção de grande parte do material orgânico, o que reduz a relação carbono/nitrogênio. Baixas concentrações de carbono podem inviabilizar a remoção de nitrogênio do sistema, uma vez que pode ocorrer à inibição dos organismos desnitrificantes heterótrofos, que necessitam de carbono orgânico como doador de elétrons para a desnitrificação (Zhang e Zhou 2007). Além de influenciar as frações rapidamente e lentamente biodegradáveis interferindo na qualidade final do efluente (Wentzel et a., 2015).

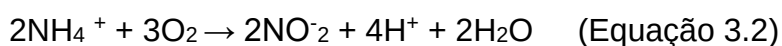
Cao e Ang (2009) operaram um sistema de bancada composto por um reator UASB seguido por um processo de lodo ativado. Os autores observaram alta taxa de nitrificação enquanto a desnitrificação foi pouco eficiente. Determinar a melhor estratégia de operação para os sistemas de lodos ativados ainda é um desafio, dada à complexidade dos fenômenos bioquímicos em virtude aos parâmetros operacionais aplicados ao reator.

Os compostos orgânicos nitrogenados estão presentes nos mais diversos efluentes. A hidrólise das proteínas, componente muito encontrado em efluentes orgânicos, resulta na liberação de aminoácidos para o meio liberando grupo amina, denominado amonificação. O processo de amonificação resulta na produção de nitrogênio reduzido, amônia não ionizada (NH_3) e ou íon amônio (NH_4^+). A concentração da forma nitrogenada predominante é dependente do pH e temperatura do meio. A forma de amônia ionizada é consumida pelos microrganismos para síntese celular, já a forma não ionizada é tóxica para organismos aquáticos, podendo permear por entre a membrana celular conforme sua concentração e a tolerância da espécie aquática (Gerardi, 2006; Von Sperling, 2016). Concentrações de amônia não ionizada entre 0,70 a 2,40 mg/L podem ser letais para peixes (Pereira e Mercante, 2005).

A nitrificação é um processo estritamente aeróbio, conduzido por dois grupos: bactérias oxidadoras de amônia e bactérias oxidadoras de nitrito. A oxidação do nitrogênio amoniacal realizado por bactérias autotróficas nitrificantes a nitrito, utilizam o oxigênio comoceptor final de elétrons e o CO_2 como fonte de carbono. Este processo ocorre em duas fases, à primeira é a oxidação da amônia a nitrito chamado de nitritação realizado pelas bactérias oxidantes de amônia (BOA) e a segunda é a oxidação do nitrito a nitrato chamado nitratação por meio das bactérias oxidantes de nitrito (BON). A conversão do nitrato a nitrogênio gasoso (desnitrificação) é realizado pelas bactérias heterótrofas facultativas sob condições anóxicas (Muller; Stouthamer; Van Verseveld, 1995).

As reações de nitritação envolvem as bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* cujo gênero *Nitrosomonas* é o principal responsável. Já a nitratação, segunda etapa da nitrificação é presidida pelos gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitrocystis*. As *Nitrobacter* têm maior importância nesta etapa. As equações (3.2, 3.3, 3.4) representam estes dois processos:

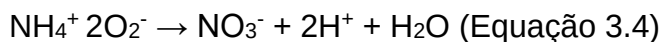
Nitritação (*Nitrosomonas*):



Nitratação (Nitrobacter):



Reação total de nitrificação



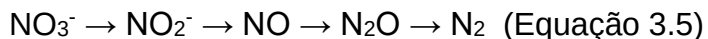
As bactérias nitrificantes apresentam lento crescimento, principalmente as *Nitrosomonas*, assim necessitam permanecer mais tempo no reator para que possam oxidar o nitrogênio amoniacal. Já as bactérias do gênero *Nitrobacter* apresentam taxa de crescimento mais rápido (Costa, 2005). Algumas bactérias do grupo de bactérias oxidadoras de nitrito apresentam crescimento mixotrófico, conseguem utilizar compostos orgânicos como fonte de carbono (Daims *et al.*, 2001). De acordo com Gerardi (2006) as bactérias nitrificantes representam 10% da população bacteriana em processos de lodos ativados.

Nas reações de nitrificação ocorre consumo de oxigênio e liberação de H^+ consumindo a alcalinidade do meio que pode ocasionar no decréscimo do pH inviabilizando a nitrificação, que tem sua velocidade de reação reduzida em pH inferior a 6,8. Para converter um grama de amônia livre são necessários 7,14 g de carbonato de cálcio (CaCO_3) de alcalinidade, caso o efluente não contenha alcalinidade suficiente para tamponar a ação destes íons uma fonte externa de alcalinidade deve ser adicionada ao sistema garantido o equilíbrio do processo (Metcalf e Eddy 2003).

A cinética da reação de nitrificação sofre influência de fatores ambientais como; temperatura, pH e oxigênio dissolvido e pode ocorrer em uma ampla faixa de temperatura 5 a 50°C, mas a ideal é 25 a 30°C (Bitton, 2005).

O processo de desnitrificação, segunda etapa biológica da remoção de nitrogênio, é a redução do nitrato a nitrogênio gasoso. A maioria dos organismos desnitrificantes são bactérias facultativas heterotróficas que utilizam o nitrato comoceptor final de elétrons, e uma variedade de compostos orgânicos como doadores de elétrons e como fonte de carbono para a obtenção de energia (equação 3.5) (Metcalf e Eddy, 2016). Alguns grupos de desnitrificantes autotróficos utilizam a amônia comoceptor final de elétrons

(Ahn et al., 2006). Diferente das nitrificantes, os organismos desnitrificantes apresentam rápido crescimento (Gerardi, 2006).



Sistema em que o efluente será utilizado em aplicações agrícolas como fertilizante a desnitrificação não é desejada, uma vez que é a causa de perdas de fertilizantes nitrogenados. Além disso, a redução do nitrato a nitrogênio gasoso está envolvido na destruição da camada de ozônio (Carmo et al., 2013).

O reator operado em batelada sequencial (RBS) é uma variante do sistema de lodo ativado, integrando todas as unidades, precipitação primária, oxidação biológica e precipitação secundária em um único tanque (Von Sperling; Chernicharo, 2005).

A microbiota do reator operado em batelada sequencial promove a remoção de matéria orgânica e nutrientes operando em ciclos. As etapas de operação do RBS são: Alimentação, reação aeróbia, sedimentação e descarte (Figura 6) (Jordão e Pessoa, 2005; Lee et al., 2010). O processo consiste em um reator de mistura completa onde ocorrem todas as etapas do tratamento, que podem ser modificadas conforme as estratégias operacionais adotadas em decorrência a qualidade do efluente final (Elmolla et al., 2012).

- **Alimentação ou enchimento:** Entrada da água residuária para a atividade microbiana. Esta etapa pode ser estática (entrada do efluente sem mistura ou aeração) ou com mistura (agitação ou aeração são fornecidas para que a biomassa microbiana fique em contato com o efluente). O sistema permite a operação de diferentes tipos de enchimento ao longo do ciclo.
- **Reação aeróbia:** Nesta etapa é possível promover a mistura e a aeração. O objetivo é promover a oxidação biológica da matéria orgânica.
- **Sedimentação:** Esta etapa não envolve mistura nem aeração para que ocorra a sedimentação dos sólidos suspensos, sem interferência de entrada e saída de líquidos. O efluente clarificado fica na parte superior do reator.
- **Descarte:** Retirada do efluente clarificado após a separação da fase sólida e líquida.

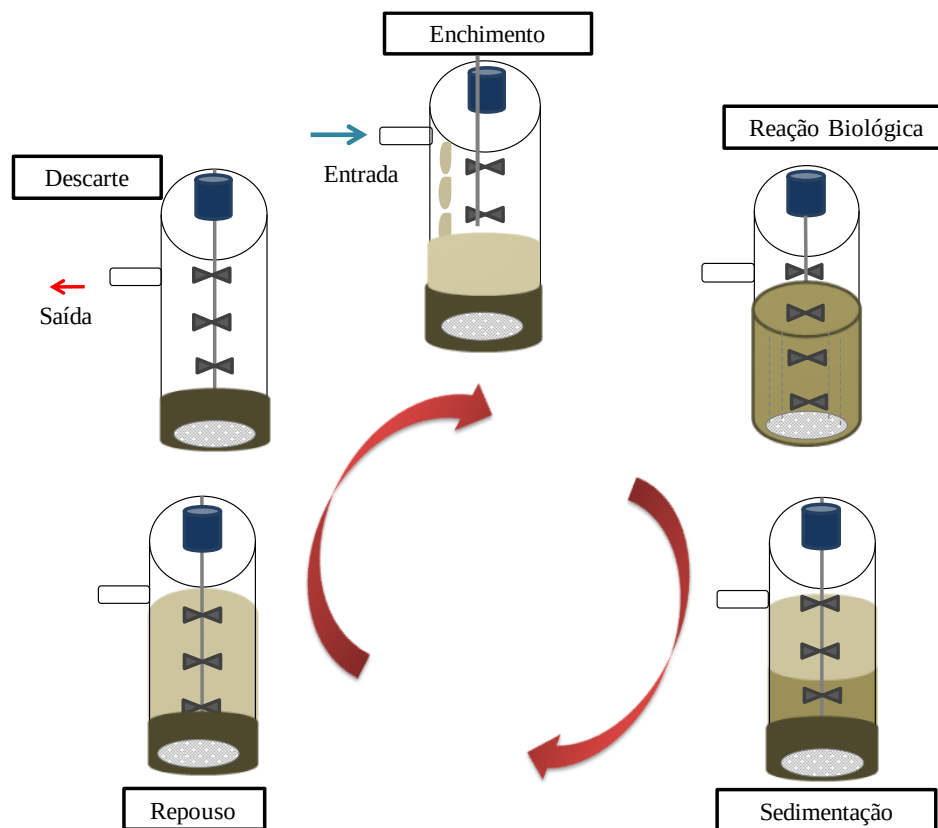


Figura 6: Representação esquemática do funcionamento de um RBS. Fonte: Adaptado de Thans, 2008.

Deng et al. (2008) trabalharam com sistemas de tratamento usando reator UASB seguido de RBS aeróbico no tratamento de águas residuárias de suinocultura. O RBS foi operado com ciclos de 8 horas, 4 horas de aeração, 2 horas de sedimentação, 1 hora de repouso e 1 hora da retirada do sobrenadante. As eficiências de remoção para DQO, nitrogênio e fósforo foram pouco significativas. Os autores realizaram modificações operacionais adicionando efluente bruto ao efluente tratado na proporção de 1:2. Após as modificações as eficiências observadas atingiram valores médios de 94, 98 e 70% respectivamente para o sistema combinado anaeróbio-aeróbico. A adição de água residual bruta ao efluente digerido pode equilibrar a alcalinidade do sistema de tratamento. Como resultado o desempenho do processo foi melhorado.

Para remoção biológica de nutrientes a USEPA (1999) recomenda ciclos operacionais de 4 a 6 horas para sistemas convencionais; e de 6 a 8 horas para sistemas com remoção biológica de nutrientes.

Reatores operados em batelada sequencial (RBS) são eficientes na remoção de nutrientes e compostos de carbono e apresentam vantagens como maior flexibilidade operacional, já que permitem que o afluente permaneça mais tempo em cada etapa do processo, permitindo ao operador a definição dos tempos de operação de cada ciclo, menor custo com mão de obra para a operação, baixa exigência de área e rapidez para alterar parâmetros operacionais, melhor eficiência na remoção de DBO (acima de 90%) quando comparado com sistema convencional (60 a 90%). Tais características fizeram com que o sistema RBS seja amplamente utilizado para tratar diferentes efluentes (Neczaj et al., 2007; Von Sperling, 2016; Dutta e Sarkar, 2015).

Popple et al. (2016) operaram um RBS para tratamento de esgoto doméstico. O sistema removeu até 50% de nitrogênio total, 96% de DBO, 87% de sólidos suspensos totais. O sistema apresentou baixa remoção de fósforo (28%), a baixa eficiência pode ter sido consequência das condições do reator, uma fonte de carbono prontamente disponível não estava presente.

Santos e Olivera (2011) Avaliaram o desempenho de um sistema combinado anaeróbio-aeróbio para o tratamento de águas residuárias de suinocultura, com concentrações médias de sólidos suspensos totais (SST) de 18624 e 11395 mg L⁻¹. Foram utilizados quatro reatores anaeróbios horizontais, instalados em série seguido de um reator aeróbio operado em batelada sequencial (RBS) com volume total de 339 L e com alimentação contínua. Os tempos de detenção hidráulica (TDH) e as cargas orgânicas volumétricas (COV) aplicadas no sistema anaeróbio foram de 12 e 10 h e 53 e 61 g DQO (L d)⁻¹, respectivamente. O RBS foi operado com ciclo de 24 h e COV de 0,34 e 0,50 g DQO (L d)⁻¹. A inclusão do RBS permitiu melhorar a qualidade do efluente e a estabilidade do sistema de tratamento, atingindo eficiências de remoção de DQO_{total} e SST de 99 e 99%, e de 98 e 99%, respectivamente e remoções de até 65% de nitrogênio amoniacal.

Kolecka et al. (2020) avaliaram o desempenho de um RBS tratando esgoto doméstico com o objetivo de remover fármacos: ibuprofeno,

paracetamol, flurbiprofeno, naproxeno, diclofenaco e seus metabólitos. Os autores observaram eficiências significativas na remoção de matéria orgânica, nutrientes e sólidos. Entretanto, a remoção dos fármacos foi variável, exceto para diclofenaco que foi negativa, o que sugere a liberação desse composto no sistema. O resultado obtido sugere que o risco ambiental calculado para os fármacos analisados para espécies selecionadas (*Lemna sp.* e *Daphnia sp.*) foi pouco significativo. Contudo, um impacto negativo cumulativo para a biota devido à presença de diclofenaco não pode ser excluído.

Chen et al. (2018) investigaram o desempenho da remoção de nitrogênio em um reator biológico operado em batelada sequencial (RBS) tratando águas residuais em atividades agroindustriais e as mudanças na comunidade bacteriana após exposição prolongada à roxarsona. Os roxarsones são compostos organoarsênico que tem sido utilizado como aditivo alimentar para controlar parasitas intestinais e para melhorar a taxa de crescimento. Os autores concluíram que a dosagem de roxarsona em longo prazo diminuiu a remoção de nitrogênio em 52,4%, com inibição imediata da desnitrificação e inibição retardada da nitrificação. As análises de atividades enzimáticas bacterianas revelaram que as atividades bacterianas diminuíram e a comunidade bacteriana do ciclo de nitrogênio foi alterada.

Khatri et al. (2020) estimaram modelos de RNA para investigar as interações entre os parâmetros físicos e químicos de águas residuais e a remoção de coliformes fecais e coliformes totais em efluentes tratados em um reator de batelada sequencial de aeração estendida com ciclo intermitente. O estudo foi desenvolvido na estação de tratamento de águas municipais que foi projetada para a proteção da biodiversidade e dos recursos marinhos. O modelo de RNA desenvolvido pode prever variações diárias e sazonais de coliformes fecais e a remoção de coliformes totais. A saúde das fontes naturais de água pode ser analisada e regulada por meio da automação da estação de tratamento de águas residuais para regular a concentração do efluente lançado.

Oliveira e Santana (2011) avaliaram desempenho de dois reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), em série, seguidos de um reator operado em batelada sequencial (RBS) no tratamento

de águas residuárias de suinocultura. As cargas orgânicas volumétricas (COV) aplicadas no reator UASB do primeiro estágio variaram de 14,8 a 24,4 g DQO (L d)⁻¹. Os autores obtiveram remoções médias de 93 a 97%, 92 a 98%, 57 a 78%, 71 a 88% e 68 a 85% para DQO total, SST, P-total, nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e nitrogênio total (NT), respectivamente. Para os coliformes termotolerantes, as remoções foram de 93,80 a 99,99%.

Dentre as tecnologias da digestão aeróbia com a biomassa aderida o uso de filtros biológicos percoladores (FBP) são amplamente utilizados no tratamento de diferentes efluentes. Esse sistema é preenchido com meios suportes para o crescimento microbiano. O efluente entra no FBP por meio de dispositivos na parte superior e escoar por entre o material de enchimento (Figura 7). À renovação do ar é natural e circula entre os espaços vazios do meio suporte, disponibilizando o oxigênio necessário para a respiração dos microrganismos, na qual a transferência de oxigênio para o biofilme é efetuada diretamente ou por meio de difusão molecular (Medeiros, 2011; Jordão e Pessoa, 2014; Ribeiro, 2015).

A adoção de sistemas de pós-tratamento como FBP apresenta vantagens como tecnologia com custos reduzidos sem a necessidade de aeração forçada já que não consomem energia, tem pouca necessidade de área, além de operação e instalação simplificados, são considerados sistemas compactos e econômicos (Mahmoud et al., 2011; Abou-Elela et al., 2015).

A distribuição do efluente nos filtros biológicos percoladores por meio de dispositivos distribuidores podem ser por sistemas fixos ou móveis (rotatórios). Esses dispositivos permitem aplicar uma carga uniforme garantindo o crescimento contínuo da biomassa (Santos, 2005; Jordão e Pessoa 2011).

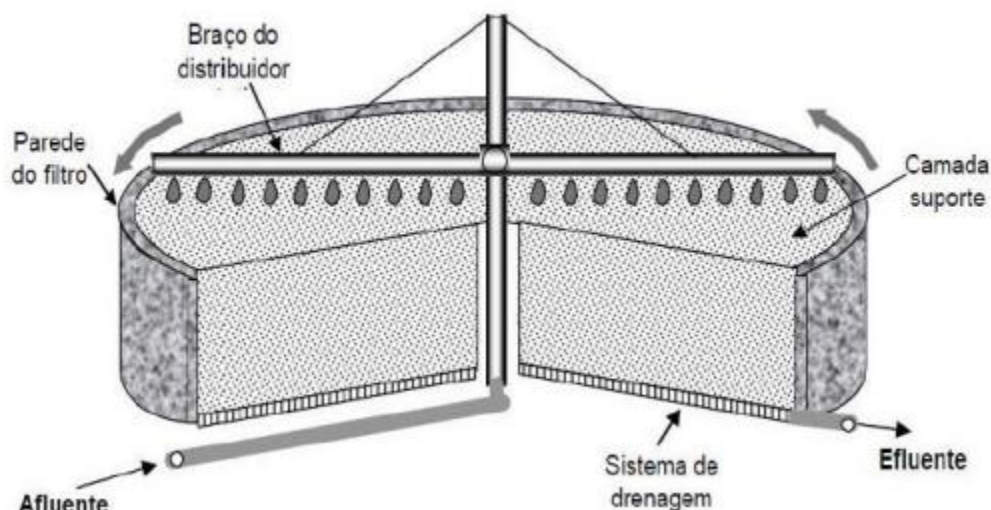


Figura 7: Exemplo de um filtro biológico percolador. Fonte: Nascimento et al.(2001).

A configuração do filtro biológico percolador permite o crescimento de microrganismos na superfície do meio suporte. O escoamento do líquido pela superfície do material de enchimento favorece a formação de uma matriz biológica ativa e heterogênea, constituída por fungos, bactérias facultativas aeróbias e anaeróbias, algas e protozoários, chamada de biofilme (Almeida, 2012). A diversidade e abundância dos microrganismos nos sistemas biológicos é influenciada pelas características do afluente inserido no sistema (Yang et al., 2019).

Diferentes materiais inertes são utilizados como meio suporte, pedras, britas, escória de alto-forno, material plástico e ripas são alguns exemplos utilizados para promover o crescimento do biofilme microbiano (Von Sperling, 2016). A escolha do material como meio suporte deve garantir uma grande área superficial a fim de permitir um maior número de microrganismos por unidade de volume, além de apresentar alta durabilidade (Almeida, 2013; Metcalf & Eddy, 2016;).

O biofilme é um acúmulo de células microbianas que se desenvolvem na superfície do meio suporte e se mantém aderidas por meio de substâncias poliméricas extracelulares presentes na superfície dos microrganismos. A composição do biofilme é dependente dos microrganismos presentes, tipo do

material suporte, condições do meio de crescimento e da fisiologia dos microrganismos. A matriz do biofilme é gelatinosa e constituída por aproximadamente 97% de água (Sutherland, 2001). Aproximadamente 5% da matriz inclui diferentes espécies de microrganismos, além de água e células, os outros componentes da matriz incluem exopolissacarídeo EPS (1 a 2%), as proteínas que incluem produtos líticos e enzimas secretadas (1 a 2%), ácidos nucléicos de células lisadas (1 a 2%), íons e ácidos húmicos (em concentrações-traço) do ambiente (Alisson, 2001).

A formação dos biofilmes pode ser entendida por distintas etapas (Figura 8):

- Transporte de células livres do meio líquido para a superfície do meio suporte.
- Fixação, crescimento e divisão das células fixas, utilizando nutrientes disponíveis no meio líquido e produção de polímeros extracelulares
- Aumento do biofilme por Fixação de células bacterianas flutuantes (e outras partículas).
- Liberação de material celular por erosão (perda de células individuais) ou perda de agregados maiores (Xavier et al., 2002; Toyofuku et al., 2016).

A liberação do material celular ou o desprendimento de placas do biofilme ocorre devido ao grau de estabilização dessas placas e em virtude a tensão causada pela velocidade de escoamento entre os vazios do meio suporte. O oxigênio é quase totalmente consumido na porção externa do biofilme gerando assim uma zona endógena na região mais interior do biofilme, devido à ausência de fonte carbonácea, o que culminará na perda da capacidade de adesão e desprendimento do biofilme. O material liberado é usualmente removido nos decantadores pós FBP como tratamento secundário para diminuir a concentração de sólidos em suspensão no efluente final (von Sperling, 2016; Jordão e Pessoa, 2014).

Os microrganismos aderidos ao biofilme têm como uma das principais vantagens à resistência a forças físicas aumentando a possibilidade de crescimento. Além disso, os biofilmes se desenvolvem onde a concentração de nutrientes é mais abundante ou se mantém estáveis, o que eleva a atividade microbiana no biofilme (Madigan et al., 2010).

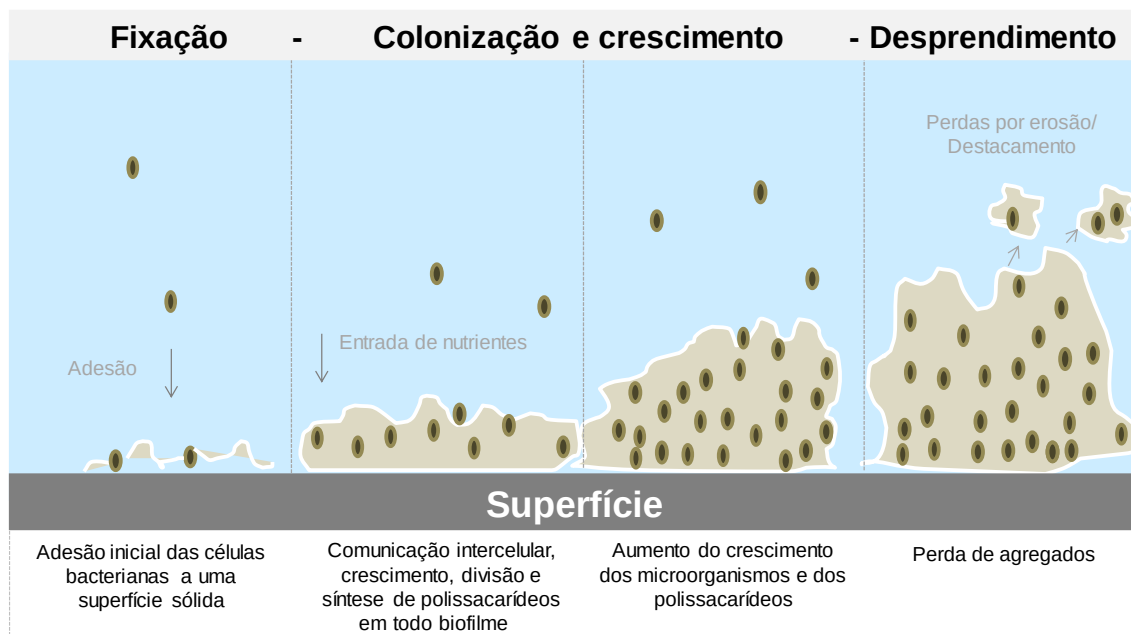


Figura 8: Processos envolvidos na formação e crescimento do biofilme. Fonte: Adaptado (Xavier et al., 2002; Madigan et al., 2010)

Os processos de conversão da matéria orgânica e dos compostos nitrogenados ocorrem no interior do biofilme e o transporte de substratos ocorre através de processos de difusão. As bactérias nitrificantes, bactérias de lento crescimento, ficam na camada mais interna do biofilme, sua posição no biofilme pode desfavorecer a nitrificação pela concentração de oxigênio, enquanto as bactérias de rápido crescimento se encontram na camada externa, onde a concentração de substrato está mais disponível, favorecendo seu crescimento. A competição entre esses grupos microbianos resulta em um biofilme mais estratificado (Victoria, 2006). Para que aconteça a nitrificação e o crescimento dos microrganismos nitrificantes é necessário um ambiente aerado dentro do reator (Duda, 2010; Duda e Oliveira, 2011; Ren et al. 2020).

No fundo do filtro biológico percolador é acoplado uma placa perfurada que separa o material de suporte e o efluente drenado. Sua principal função é direcionar o efluente percolado e a biomassa que se desprende do biofilme para os decantadores secundários a fim de promover a clarificação do efluente (Gonçalves et al., 2001; Santos 2005).

Filtros biológicos percoladores como pós-tratamento de reatores anaeróbios de alta taxa, como reator UASB, tem sido uma estratégia

interessante para elevar a qualidade do efluente. Essa configuração de reatores anaeróbio/aeróbio tem inúmeras vantagens. Efluentes de reatores UASB dificilmente estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação ambiental para lançamento em corpos hídricos (Almeida, 2012; Chernicharo et al., 2016).

Godoy-Olmos et al. (2020) avaliaram o desempenho de filtros biológicos percoladores para a remoção do nitrogênio amoniacal total (NAT) na água de cultivo de peixes em um sistema de recirculação. Foi estudado o efeito de três parâmetros de processo (temperatura 16, 18, 21, 24 e 27 °C, carga hidráulica 11, 8 e 4 m³m²h⁻¹ e carga de nitrogênio amoniacal total 3, 6 e 9 gNAT m³dia⁻¹). Os autores identificaram influência nas taxas de nitrificação em cada um dos efeitos estudados, sendo a carga de NAT o efeito mais determinante. As taxas médias máximas de amônia foram observadas utilizando 6 e 9 gNAT m³dia⁻¹. Nas baixas temperaturas e baixa carga hidráulica o crescimento do biofilme foi estagnado. A maior taxa média de remoção de nitrogênio amoniacal foi observada nos ensaios com carga hidráulica de 11 m³m²h⁻¹, temperatura da água em 27 °C e Carga de 9 gNAT m³dia⁻¹.

Silva e Leite (2014) obtiveram remoção superior a 85% de DQO trabalhando com reator UASB seguido de filtro biológico percolador no tratamento conjugado de lixiviado de aterro sanitário com esgoto doméstico. A configuração estudada constitui uma alternativa eficiente e viável para o tratamento de lixiviado por favorecer seu tratamento por processo biológico.

Duda e Oliveira (2011) avaliaram o desempenho de um reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), seguido de um filtro anaeróbio instalados em série e um filtro biológico percolador (FBP) no pós-tratamento do efluente do sistema anaeróbio, tratando águas residuárias da suinocultura. O FBP foi preenchido com anéis de bambu como meio suporte. A utilização do pós-tratamento contribuiu para o aumento nas eficiências de remoção de DQO (93 a 98%), sólidos suspensos (96 a 99%), nitrogênio total (57 a 86%), P-total (71 a 84%), Cu (91 a 99%) e Zn (96 a 98%). Os autores concluíram que o sistema de tratamento anaeróbio em dois estágios, com o reator UASB e o filtro anaeróbio seguido do filtro biológico percolador e decantador são promissores para o tratamento de águas residuárias de suinocultura com altas eficiências de

remoção de matéria orgânica e nutrientes.

Henrique et al. (2019) avaliaram a combinação de sistemas anaeróbio-aeróbio no tratamento de esgoto sanitário. O sistema foi composto por um reator UASB seguido de filtro biológico percolador em escala de bancada com volumes úteis de 3,35L e 6,34L respectivamente, em regime de batelada com TDH de 8 horas, tratando 10 litros de esgoto/dia. As eficiências de remoção no sistema de tratamento para DQO e nitrogênio foram satisfatórias. O filtro biológico percolador produziu efluentes com qualidade de reuso relacionado ao parâmetro nitrato. Com relação ao parâmetro nitrito o efluente final mostrou-se dentro do valor limite recomendado nos padrões de lançamento (CONAMA 357/2005).

Stockes-Forbis et al. (2018) investigaram a utilização de diferentes meios de suporte em filtro biológico percolador e filtro submersos para desnitrificação no tratamento de águas residuais da suinocultura. O experimento foi realizado em bancada como pós-tratamento de reatores anaeróbios. Foram testados cinco materiais de suporte para o filtro biológico percolador, lodo derivado de pellets de pinho, carvão ativado granular, pedra zeólita, anéis de plástico e cascalho. Os meios suportes utilizados no filtro submerso para desnitrificação foram, areia, lascas de madeira e anéis de bambu. O pH do filtro biológico percolador levou 28 dias para se manter estável, sugerindo que este foi o tempo necessário para estabilização da comunidade nitrificante. Lodo e pedaços de bambu foram selecionados como a melhor combinação de meios para o tratamento devido ao alto desempenho observado. O efluente final do filtro preenchido com anéis de bambu removeu 63% de Nitrogênio total e 99% de turbidez. Portanto, a utilização desses materiais como meio suporte se apresentam como opções promissoras como pós-tratamento sustentável para o gerenciamento de nitrogênio e polimento de efluentes em ambientes de poucos recursos.

A adoção de tecnologia, como o filtro biológico percolador, como pós-tratamento de reatores anaeróbios são promissores para redução do conteúdo orgânico e compostos nitrogenados. Visam melhorar a qualidade do efluente e até mesmo torná-lo um fertilizante, de acordo com as concentrações de nitrato no efluente. Caso a desnitrificação seja necessária novas configurações podem

ser abordadas para esse fim (Stockes-Forbis et al., 2018; Montero-Díez et al., 2019).

3.7 Metagenômica - Técnicas utilizadas no estudo de comunidades microbianas

A utilização de técnicas moleculares na investigação de microrganismos presente em sistemas de tratamento de águas residuárias, aplicando o processo anaeróbio tem transformado o estudo sobre a ecologia microbiana presente em reatores anaeróbios em um novo campo de pesquisa. Os microrganismos envolvidos no processo da digestão anaeróbia e sua complexidade frente às muitas alterações ambientais como, pH, temperatura, fatores hidráulicos, tipo do substrato ainda não são bem compreendidos (Santos, 2009).

Assim, a utilização de ferramentas de biologia molecular permite melhor entendimento das rotas metabólicas envolvidas no processo da digestão anaeróbia além de informações em relação à estrutura e às funções desempenhadas pelos microrganismos (Vanwonterghem et al., 2014).

A utilização de técnicas de biologia molecular começou a ser empregada na década de 1980 (Head et al., 1998), sendo os métodos de biomarcadores os mais utilizados. O RNA ribossomal, parte integrante do ribossomo responsável pela síntese de proteínas presente em todas as células é usualmente utilizado como biomarcador para inferir a identidade dos organismos. É uma região que não sofre alteração, sendo considerado um biomarcador ideal (Psaroulaki; Chochlakis, 2018).

Sequenciamento do gene 16S rRNA e outras abordagens metagenômicas se baseiam em marcadores moleculares e tem permitido identificar interações microbianas complexas e compreender a função de vários grupos microbianos (Madigan et al., 2010). O gene ribossomal 16S apresenta regiões extremamente conservadas e que diferem entre os níveis taxonômicos, sendo considerados importantes marcadores filogenéticos usados para traçar o

perfil de comunidades microbianas (Callahan et al., 2019). O desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de DNA permite o estudo da microbiota de um determinado ambiente (Shokralla et al., 2012).

A evolução das Técnicas moleculares para o estudo dos microrganismos anaeróbios propiciou avanços tecnológicos na Identificação da comunidade microbiana envolvida durante as fases da digestão anaeróbia. O entendimento a respeito dessas comunidades em ambientes extremos representa um cenário importante na análise metagenômica para explorar e identificar novas cepas no campo das bactérias e arqueas (Hedlund et al., 2014; Poli et al., 2017).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (qPCR) é uma das ferramentas de biologia molecular utilizada para investigar a comunidade microbiana em vários ambientes. É um método de amplificação e quantificação do DNA realizados em uma única etapa, minimizando riscos de contaminação nas amostras (Bustin, 2002). É uma técnica quantitativa de ácidos nucleicos que pode ser empregada em diferentes tipos de amostras, devido sua alta especificidade e sensibilidade. Sua desvantagem é a utilização de *primers* altamente específicos (Shipley, 2006).

Outra ferramenta utilizada para estudar a ecologia microbiana são as chamadas tecnologias de nova geração (NGS) que revolucionaram o sequenciamento genômico (Shendure e Ji, 2008), elas dispensam o uso de clonagem in vivo além de reduzir o custo e o tempo durante o processo (Mardis, 2008).

Existem inúmeras tecnologias (NGS) disponíveis como Roche, Life Technologies e Illumina, a qual tem dominado o mercado nos últimos anos (Niedringhaus et al., 2011). Técnicas de Sequenciamento como o Illumina são considerados de alto desempenho, quando comparado à técnica de sequenciamento do gene 16s, pois fornecem informações em relação à estrutura e as funções desempenhadas pelos microrganismos (Guo et al., 2015). Além de fornecer milhões de sequências de DNA por meio de um intenso sequenciamento (Mardis, 2008).

A abordagem metagenômica e o desenvolvimento de análises de bioinformática de última geração têm sido amplamente aplicados para melhorar

nossa compreensão e caracterização da biodiversidade microbiana em diferentes nichos, incluindo reatores anaeróbios (Roesch et al., 2007; Colombo et al., 2016; Martins et al., 2016; Delforno et al., 2017).

Assim, ferramentas Metagenômicas são instrumentos importantes na caracterização e identificação das comunidades microbianas responsáveis pela conversão de substratos em produtos de valor biotecnológico (Guo et al., 2015).

A investigação da comunidade microbiana em sistemas anaeróbios tem sido amplamente investigada (Martins et al., 2016; Cai et al., 2016; Barros et al., 2017) a fim de obter informações mais detalhadas sobre a associação dos microrganismos, a estrutura das comunidades, as rotas microbianas envolvidas e a relação desses organismos com as condições impostas durante a digestão de diferentes substratos (Delforno et al., 2017). O conhecimento a respeito dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia é fundamental para a indústria biotecnológica a fim de compreender as interações e o papel de cada grupo taxonômico nos reatores anaeróbios (Martínez et al., 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O estudo experimental foi desenvolvido na instalação experimental de reatores anaeróbios e aeróbios do Laboratório de saneamento ambiental do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista (UNESP). “As coordenadas geográficas são: latitude de 21°15’22” S; 48°18’58” W e altitude de 575 m. O clima da região, segundo classificação de Koppen, é Awa (subtropical úmido, seco no inverno e com chuva no verão), com precipitação média anual de 1.405 mm e temperatura média anual de 23,2 °C (Universidade Estadual Paulista, 2020).

4.2 Instalação Experimental

A instalação experimental utilizada para o tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira foi composta por uma caixa de armazenamento da fração não diluída (esterco in natura) de 5000 L, uma peneira estática, uma caixa de armazenamento da fração diluída 1000 L, uma bomba helicoidal, um reator anaeróbio UASB (reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo) de 314 L (R1), filtro anaeróbio (FA) de 226 L (R2), Reator operado em batelada sequencial (RBS) 375 L, Filtro Biológico percolador (FBP) de 250 L seguido de decantador (Dec.) de 150 L (Figura 9, 10 e 11).

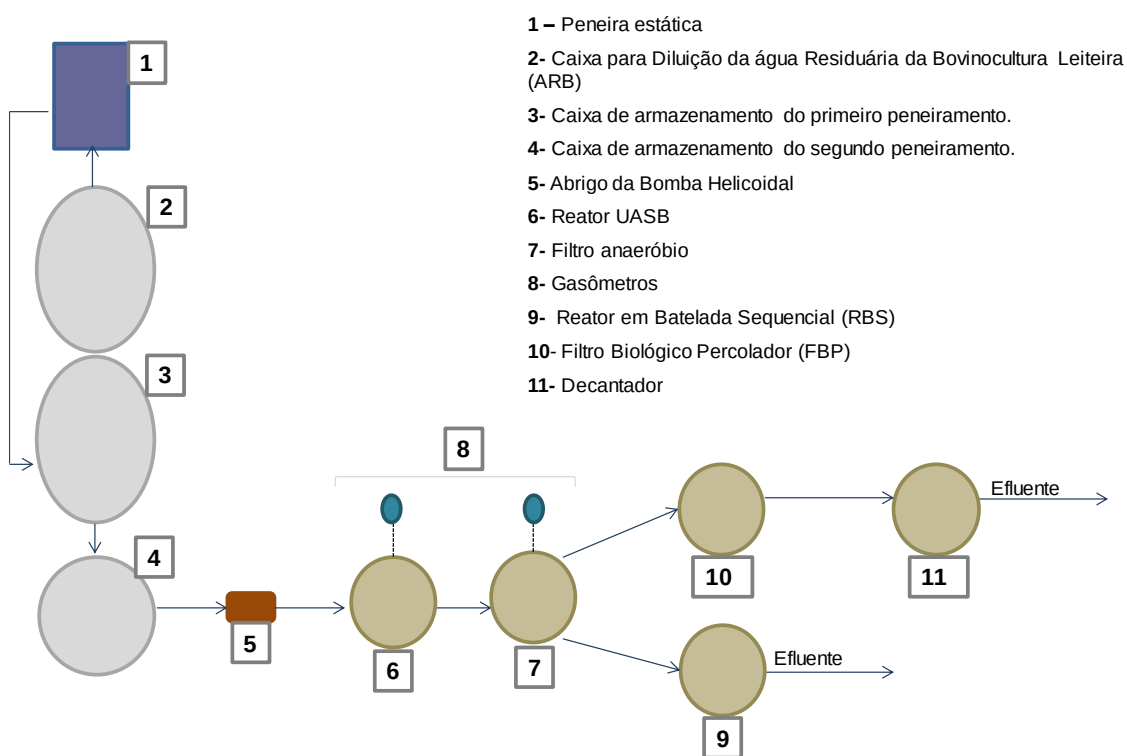


Figura 9: Representação esquemática da instalação experimental do sistema de tratamento anaeróbio e aeróbio da água residuária da bovinocultura leiteira.

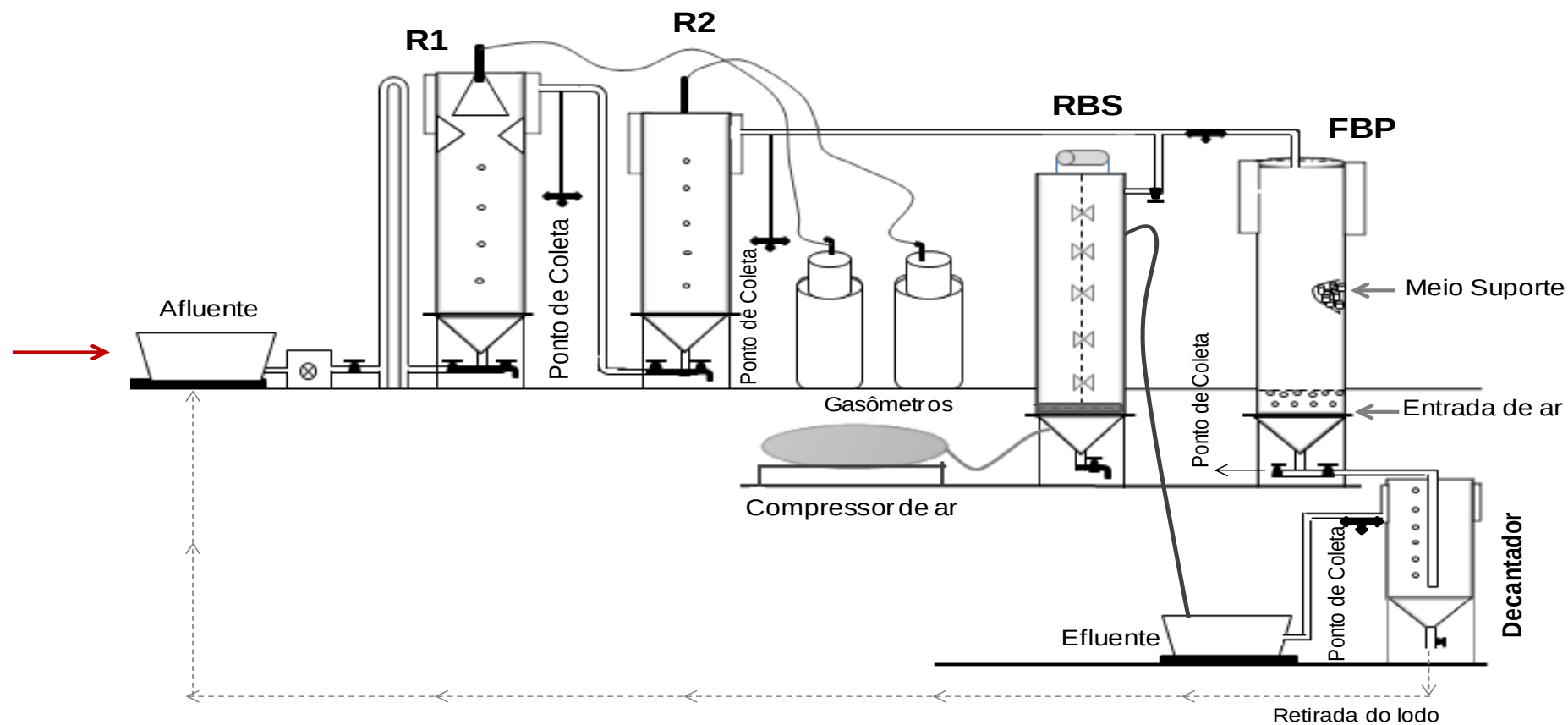


Figura 10: Representação esquemática da instalação experimental composta pelo tratamento anaeróbio, reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB - R1) seguido pelo filtro anaeróbio (FA - R2) e sistema aeróbio composto pelo reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador.



Figura 11. Foto: Sistema de tratamento anaeróbio e aeróbio da água residuária da bovinocultura leiteira. Tratamento anaeróbio: reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB - R1) seguido pelo filtro biológico (FB - R2), sistema aeróbio: reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador.

A alimentação do reator UASB foi mantida por meio de bomba dosadora helicoidal, construída em aço inox. O efluente proveniente do UASB, do filtro anaeróbio, filtro biológico percolador seguido de decantador escoavam por gravidade por meio das tubulações de PVC que os interligavam. O filtro anaeróbio e o Filtro biológico percolador foram preenchidos com anéis de eletroduto corrugado (conduíte) com valores médios de 4,1 cm de

comprimento, 87% de índice de vazios, diâmetro interno e externo de 2,0 e 2,5 cm respectivamente (Figura 12).



Figura 12. Foto dos anéis de eletroduto conrrugado.

4.2.1 Tratamento anaeróbio: Reator UASB seguido de Filtro anaeróbio de fluxo ascendente

O reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) com volume total de 314 L, 2,94 m de altura e filtro anaeróbio 226 L (volume útil de 191 L) e 2,21 m de altura foram construídos com tubo de PVC de seção transversal circular de 400 mm. Essa configuração foi utilizada para alcançar melhores resultados de eficiência, o primeiro reator suporta altas cargas orgânicas o que favorece a estabilização e degradação da matéria orgânica enquanto o R2 realiza a degradação da DQO remanescente (Figura 13). O fundo cônico do reator UASB e do filtro anaeróbio assim como a parte superior do filtro anaeróbio foram construídos de fibra de vidro. A parte interna do reator

UASB contém um separador de fases, sólido, líquido e gás, formado por anel defletor fixado à parede interna do reator com a finalidade de desviar o gás que se forma para dentro do cone fixado logo acima, o qual constitui a câmara de gás e não permite que flocos de lodo saiam no efluente final. O gás produzido na digestão anaeróbia é encaminhado para os gasômetros para monitoramento da produção de gás. O filtro anaeróbio não foi totalmente preenchido com anéis de eletroduto corrugado. Na porção superior do filtro, acima da saída do efluente tratado, foi deixado um espaço de 26 cm sem preenchimento de material suporte para coletar o gás proveniente do processo de digestão.

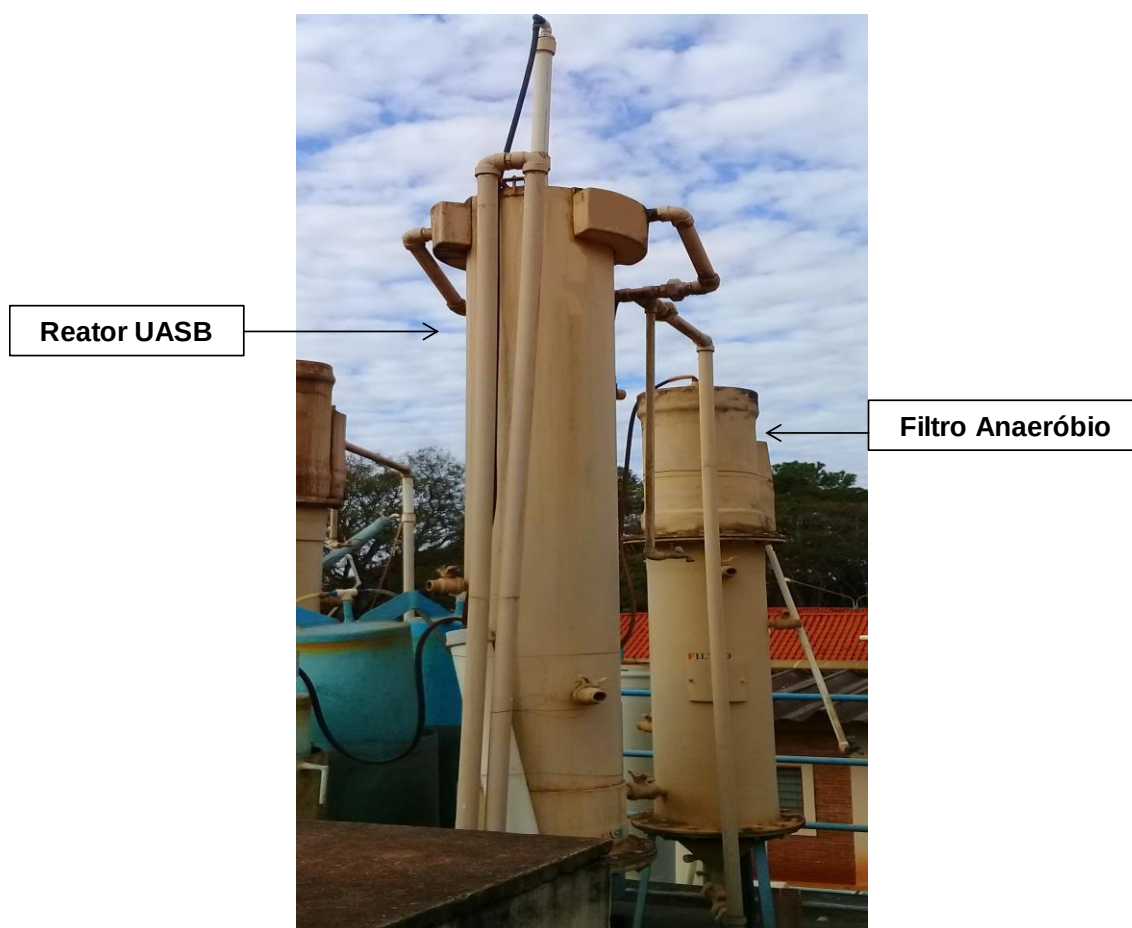


Figura 13: Foto reator UASB seguido de filtro anaeróbio

4.2.2 Tratamento aeróbio: Reator operado em batelada sequencial (RBS)

O reator RBS com volume total de 376 L, altura de 3,39 m foi construído com tubo de PVC de seção transversal circular de 400 mm. O reator foi aerado com uso de compressor. Na parte superior do filtro foi instalado um conjunto motor-redutor conectado a um eixo com pás ao longo da altura do reator, com o objetivo de propiciar a mistura do líquido e lodo (Figuras 14 e 15). Ao longo do reator foram instaladas 16 torneiras com 20 cm de distanciamento para tomada de amostra.



Figura 14: Foto. Sistema aeróbio RBS com motor rotacional e compressor utilizado para aeração do sistema.

Na parte inferior do RBS, parte cônica, foi acoplado um eixo de aço carbono de 12,5 mm de diâmetro, o qual foi revestido com tubo de PVC e encaixado em barra perfurada, confeccionada em aço inox e fixada no fundo do reator. O ar foi distribuído no interior do reator através de um difusor de ar de membrana (bolha fina), o qual foi instalado na base do reator (Figura 15). O eixo rotacional foi constituído por um conjunto de 6 pás rotacionais, contento 6 hastes cada pá (Figura 15 e 16).



Figura 15. Foto: Hastes rotacionais e membrana de bolha fina, utilizados no reator operado em batelada sequencial.



Figura 16: Foto: Interior do RBS com eixo de hastes rotacionais.

Foram instalados temporizadores analógicos para a programação de ligamento e desligamento do compressor e do motor-rotacional. O ciclo operacional do RBS foi de 24 h nos ensaios 2 e 6, divididos em 8,5 h para a reação anaeróbia; 8,5 h para a reação aeróbia; 6,0 h de sedimentação e 1,0 h de descarte. Durante a fase de reação anaeróbia foi acionado o misturador de pás acoplado ao conjunto motor-redutor nos ensaios 2 e 6. Na fase de reação aeróbia, o compressor de ar foi ligado. Foram mantidos 125 L de lodo sedimentado, descartando-se 157 e 250 L de efluente nos ensaios 2 e 6, respectivamente.

4.2.3 Tratamento aeróbio: Filtro Biológico percolador (FBP) seguido de decantador

O filtro biológico percolador com volume de 250 L (altura de 2,25 m) seguido de decantador com volume de 150 L (altura de 1,10 m) foram construídos com tubos de PVC de 400 mm de diâmetro externo (Figura 17). Na parte inferior do FBP foram feitos 30 orifícios, 10 com diâmetros de 4,5 e 20 com diâmetro de 2,5 cm para permitir a entrada de ar (Figura 18). Logo acima da entrada de ar foi fixada internamente uma chapa de aço inox que serviu de apoio para o meio suporte. Na placa de PVC que fica no topo do filtro foi instalado um cano de PVC com ranhuras permitindo a entrada do afluente na região central e foram instalados niples permitindo assim o escoamento do afluente para dentro do filtro de forma homogênea (Figura 19). O efluente do filtro biológico percolador foi direcionado ao decantador por gravidade sendo descarregado até a parte mediana do decantador para evitar a movimentação do lodo sedimentado. Ao longo do decantador foram instalados registros para tomada de amostra. O efluente final do decantador foi coletado por um tubo coletor perfurado de PVC de 20 mm, instalado diametralmente e descarregado na caixa coletora instalada na lateral externa do decantador.

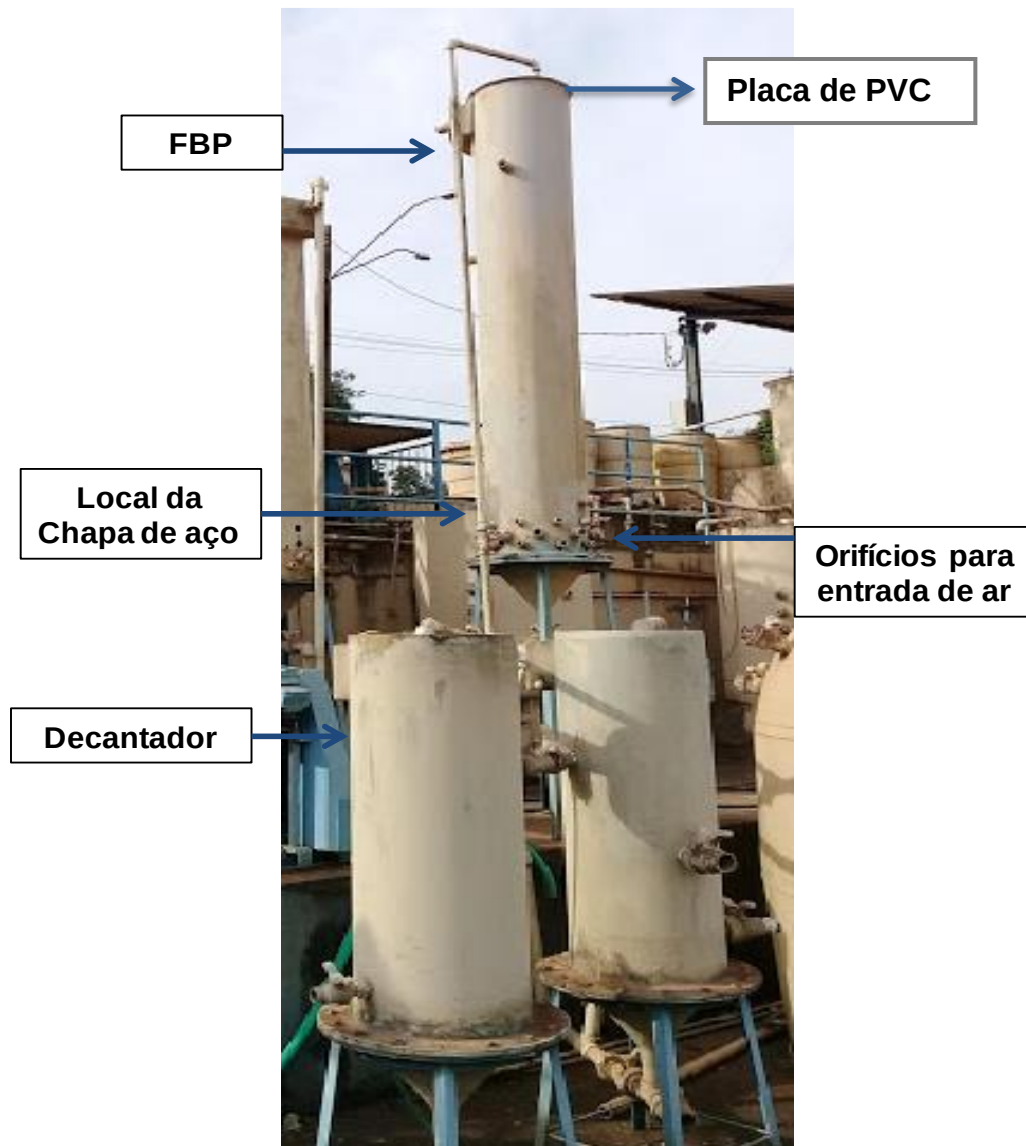


Figura 17. Foto: Filtro biológico percolador seguida de decantador secundário.



Figura 18. Foto: Orifícios para entrada de ar no filtro biológico percolador.

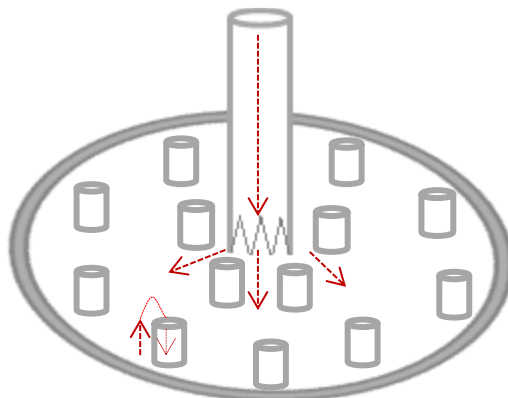


Figura 19. Representação da placa de PVC instalada no topo do Filtro Biológico Percolador. As setas vermelhas indicam o sentido do efluente.

4.3 Substrato

Os dejetos foram coletados duas vezes por semana em um sistema de semiconfinamento (12 horas de descanso a pasto e 12 horas confinadas), localizado no setor de bovinocultura leiteira da Universidade Estadual de São Paulo, em Jaboticabal (Figura 20). A dieta fornecida aos animais da raça holandesa era constituída de 60% volumoso (silagem e pasto), 40% de concentrado, nos quais 55% de grão de milho, 12% de grão de soja, 10% de farelo de algodão, 8% de farelo de trigo e 5% de núcleo mineral para bovino de leite, sal mineral à vontade.



Figura 20. Foto: sistema de confinamento das vacas leiteiras, UNESP.

Para simular as características de um sistema de produção em confinamento da bovinocultura leiteira o esterco foi diluído na proporção de 1:5 (esterco/água) (Dias et al., 2014; Villa-Montoya et al., 2016). O esterco coletado foi pesado em balança digital para cálculo da diluição. Após a pesagem do esterco, ele foi despejado em caixa de policloreto de vinila de 5000 litros e posteriormente foi adicionado água para promover a diluição. O esterco diluído foi direcionado para peneira estática com malha de 2mm por meio de bomba

helicoidal (Figura 21A e B). A fração peneirada foi descarregada em uma caixa de policloreto de vinila de 5000 litros e a fibra retida na peneira foi encaminhada para compostagem (Figura 21 B e C). Na fase 1, fase de partida, o afluente foi peneirado apenas uma vez na peneira estática. A partir da fase 2 foi necessário realizar dupla filtração, sendo utilizado peneira estática (malha 2 de mm) para primeira filtração e peneira quadrada (malha 2 de mm) para segunda filtração com o objetivo de reter maior concentração de sólidos. Entretanto, na fase 3 a peneira estática apresentou problemas operacionais e o afluente foi peneirado apenas na peneira quadrada de 2 mm, já nas fases 4, 5 e 6 foram realizadas duplas filtrações (Figura 21 B e D).



Figura 21. Foto: A: coleta do esterco na bovinocultura de leite; B: Diluição do esterco e filtração na peneira estática; C: Descarga da fração filtrada; D: processo de filtração na peneira quadrada.

A dupla filtração foi necessária para remover maior quantidade de fibras presente no afluente devido a problemas de entupimento no reator UASB (Figura 22).



Figura 22. Foto: Cano de alimentação do reator UASB entupido com excesso de fibra.

O peneiramento é o processo mais utilizado para separar a fração líquida da sólida em efluentes da bovinocultura leiteira (Rico et al., 2012).

4.4 Condições Experimentais

As condições operacionais para o sistema anaeróbio, UASB + FA, estão descritas na Tabela 2 e para o sistema aeróbio RBS e FBP + Dec. estão descritas nas tabelas 3 e 4. Foram realizadas seis fases experimentais (1 a 6) totalizando 602 dias de operação dos reatores, variando-se o tempo de detenção hidráulica (TDH) e a carga orgânica volumétrica (COV). Os reatores operaram em temperatura ambiente. Os dados de temperatura foram coletados diariamente na estação agroclimatológica localizada na Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal (SP), Brasil.

Tabela 2. Condições operacionais do sistema de reatores anaeróbios, reator UASB (R1) e FA (R2), durante as fases 1 a 6.

Fases	Dias de Operação	Parâmetro Anaeróbio						
			vs	TDH	CHV	COV	CB	T° C
1	89	R1	0,016	60	0,39	4,8 ± 2,1	0,48 ±23	20,2 ± 3,2
		R2	0,027	36	0,12	3,0 ± 1,7	0,21 ±14	
2	63	R1	0,026	48	0,5	8,7 ± 2,5	0,75 ±26	23,7 ± 1,6
		R2	0,043	29	0,82	2,8 ± 2,3	0,17 ±13	
3	166	R1	0,046	36	0,66	10,6 ± 3,6	0,73 ±20	20,7 ± 2,7
		R2	0,076	26	1,1	5,7 ± 2,1	0,35 ±21	
4	77	R1	0,046	36	0,66	11,6 ± 3,8	0,61 ±21	24,4 ± 2,5
		R2	0,076	26	1,1	3,4 ± 1,2	0,17 ±13	
5	128	R1	0,066	30	0,80	12,6 ± 4,4	0,55 ±27	21,4 ± 2,7
		R2	0,110	18	1,31	6,0 ± 3,3	0,27 ±11	
6	79	R1	0,066	30	0,80	11,5 ± 3,1	0,50 ±15	23,5 ± 2,0
		R2	0,110	18	1,31	4,1 ± 2,0	0,19 ±23	

vs - velocidade superficial do líquido (m h^{-1}); TDH - tempo de detenção hidráulica (h); CHV - carga hidráulica volumétrica ($\text{m}^3 (\text{m}^3 \text{ d})^{-1}$); COV – carga orgânica volumétrica ($\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$); CB – Carga Biológica kgDQO/kgSVT.d ; T° C – Temperatura média durante as fases experimentais.

Tabela 3. Condições operacionais do sistema aeróbio reator operado em batelada sequencial (RBS) durante as fases 2 e 6.

Fases	Dias de Operação	Parâmetros aeróbios				
			Qs	TDH	COV	OD
2	63	RBS	2,11	24	0,9 ± 0,9	2,31 ± ,4
6	79	RBS	2,53	20	1,38 ± 1,3	3,14 ± 0,3

TDH - tempo de detenção hidráulica (h); COV – carga orgânica volumétrica ($\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$), Qs – taxa de aplicação hidráulica superficial (vazão/área de aplicação superficial) $\text{Qs} (\text{m}^3 (\text{m}^2 \text{ d})^{-1})$, OD - oxigênio Dissolvido (mg L^{-1}).

Tabela 4. Condições operacionais do sistema aeróbio filtro biológico percolador (FBP) seguido por decantador (Dec.) durante as fases 4 e 5.

Fases	Dias de Operação	Parâmetros aeróbios				
			Qs	TDH	COV	OD
4	77	FBP	2,11	24	1,9 ± 0,8	4,37 ± 0,4
		Dec	1,54	17	-	2,73 ± 0,4
5	128	FBP	2,53	20	2,6 ± 1,1	4,44 ± 0,3
		Dec	1,84	14	-	2,80 ± 0,4

vs - velocidade superficial do líquido (m h^{-1}); HRT - tempo de detenção hidráulica (h); OLR – carga orgânica volumétrica ($\text{g COD}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$), $T^{\circ}\text{C}$ – Temperatura média durante as fases experimentais; Qs – taxa de aplicação hidráulica superficial (vazão/área de aplicação superficial) $\text{Qs} (\text{m}^3 (\text{m}^2 \text{d})^{-1})$, OD - oxigênio Dissolvido (mg L^{-1}).

O tempo de detenção hidráulica (TDH) é o tempo em que o afluente fica dentro do reator em contato com a biomassa. O cálculo do TDH foi realizado conforme a equação 4.

$$\text{TDH} = \frac{V}{Q} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde V é volume do reator e Q é a vazão de alimentação. Segundo Mao et al. (2015) um baixo TDH ou períodos curtos de permanência do afluente no reator podem não promover um contato eficiente da biomassa ativa com a matéria orgânica, resultando no acúmulo de ácidos graxos voláteis inviabilizando o processo de digestão anaeróbia. Longos períodos de TDH podem prejudicar a biomassa ativa por escassez de nutrientes.

A carga orgânica volumétrica (COV) é a quantidade de matéria orgânica aplicada ao reator por um período determinado. A COV é calculada a partir do TDH e da concentração de demanda química de oxigênio (DQO) presente no afluente do reator (equação 5).

$$\text{COV} = \frac{\text{DQO}}{\text{TDH}} \quad (\text{Kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}) \quad (\text{Equação 5})$$

O aumento da COV de 4,8 a 12,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹ foi gradativo durante as fases 1 a 6 e os valores do TDH foram decrescentes de 60 para 30h nas fases 1 a 6 respectivamente (Tabela 2).

Assim como o TDH, a COV também pode afetar a atividade microbiana. Alta carga orgânica vai interferir diretamente nos primeiros estágios da digestão anaeróbia favorecendo a formação de ácidos graxos, o que pode levar o sistema ao colapso, caso a microbiota não esteja adaptada.

A carga hidráulica volumétrica é a quantidade de água residuária aplicada diariamente ao reator por unidade de volume (equação 6). A CHV não deve ultrapassar o valor de 5,0 (m³/ m³. d) para não ocasionar falhas no sistema, como perda ou arraste de lodo (Chernicharo 2016).

$$CHV = \frac{Q}{V} \text{ (m}^3 \cdot \text{d)} \quad \text{(Equação 6)}$$

Onde V é volume do reator e Q é a vazão de alimentação.

Carga biológica é definida como quantidade de matéria orgânica aplicada ao reator, por unidade de biomassa presente. O critério indicado é o de utilizar CB=0,05 a 0,15 KgDQO/kgSVT.d na partida do UASB e, atingido o regime permanente, pode atingir valores em torno de 2,0 kgDQO/kgSVT.d (Chernicharo 2016) (Equação 7)

$$CB = \frac{Q \cdot S_0}{M} \quad \text{(Equação 7)}$$

Q = vazão m³ /d; S₀ = concentração de substrato afluente (kgDQO/m³)
M= biomassa (kgSVT/m³).

Os parâmetros operacionais TDH e COV são inversamente proporcionais, a DQO é proporcional a COV aplicada. Assim, identificar o melhor TDH e COV são fundamentais para manter a estabilidade do processo, além de aproveitar a capacidade máxima do reator sem prejuízos econômicos.

A área de aplicação superficial no filtro biológico percolador foi de 0,099 m² para a utilização. A área de aplicação superficial foi calculada dividindo-se o volume útil (0,217 m³) pela altura útil (2,20 m).

Os valores da taxa de aplicação superficial observadas durante o estudo ficaram abaixo dos valores máximos citados por Gonçalves et al. (2001) de 20 a 30 (m³ (m² d)⁻¹) tratando esgoto sanitário.

O final de cada fase foi determinado quando o tempo de operação dos reatores atingiu no mínimo 63 dias e os parâmetros de monitoramento pH, alcalinidade e ácidos voláteis se mantiveram estáveis.

O aumento da COV de 4,8 a 12,6 g COD_{total} (L d)⁻¹ foi gradativo durante as fases 1 a 6 e os valores do TDH foram decrescentes de 60 para 30h nas fases 1 a 6 respectivamente (Tabela 2). Os valores de COV e TDH do Filtro anaeróbio e filtro biológico percolador foram calculados utilizando o volume útil dos reatores. Os valores da taxa de aplicação superficial (Qs) aplicada ao filtro biológico percolador e decantador foi calculado levando em consideração a vazão aplicada.

A operação do RBS foi subdividida em ciclos operacionais durante as fases 2 e 6. Na tabela 5 estão apresentadas as condições impostas ao RBS aeróbio de acordo com Santana (2008).

Tabela 5. Característica dos ciclos operacionais impostas ao reator operado em batelada sequencial (RBS) durante as fases 2 e 6.

Característica do ciclo operacional	
Tempo de ciclo (h)	24
Reação anaeróbia (h)	8,5
Reação aeróbia (h)	8,5
Tempo de sedimentação (h)	6
Descarte (h)	1

4.5 Partida do sistema

4.5.1 Partida do sistema anaeróbio

Os reatores anaeróbios foram inoculados com lodo proveniente de reator anaeróbio, reator UASB, utilizado no tratamento de efluentes da suinocultura. O lodo de inóculo apresentava concentrações de sólidos totais (ST) $15,6 \text{ g L}^{-1}$ e sólidos voláteis (SV) $11,9 \text{ g L}^{-1}$. Para iniciar o sistema a quantidade inoculada foi de 30% do volume total de cada reator, ou seja, aproximadamente 94 litros para o reator UASB e 67 litros para o filtro anaeróbio.

4.5.2 Partida do sistema aeróbio

Para partida do reator operado em batelada sequencial na fase 2 foram utilizados 90 Litros de lodo sedimentado com concentrações de ST $11,81 \text{ g L}^{-1}$ e sólidos voláteis (SV) $9,03 \text{ g L}^{-1}$. O lodo foi proveniente do tanque de aeração de um sistema de lodos ativados da estação de tratamento de esgoto sanitário (ETE) da cidade de Matão (SP). Ocorreu reinoculação do RBS na fase 6 com concentrações de ST de $14,6 \text{ g L}^{-1}$ e SV $10,5 \text{ g L}^{-1}$.

A relação alimento microrganismo (A/M) para sistema com aeração prolongada pode variar de 0,04 a $0,1 \text{ Kg DBO/Kg SSV d}^{-1}$ segundo Metcalf e Eddy (2016) e de 0,08 a $0,15 \text{ Kg DBO/Kg SSV d}^{-1}$ para sistema de operação intermitente (batelada) de acordo com Von Sperling (2016). Com base nos dados apresentados, os valores da relação A/M nas fases 2 e 6 permaneceram dentro das supracitadas faixas de $0,08 \text{ Kg DQO/Kg SSV d}^{-1}$ e $0,1 \text{ Kg DQO/Kg SSV d}^{-1}$ respectivamente.

Durante a fase 2 não foi realizado descarte de lodo. A idade do lodo na fase 2 foi calculada por meio da perda de sólidos voláteis no efluente de descarte. Já na fase 6 o descarte foi realizado em função da idade do lodo que ficou entre 17 a 21 dias. Conforme recomendado por Sperling (2012) a idade

do lodo entre 20 a 25 dias e 15 a 30 dias citado por Metcalf (2016) são essenciais para promover a remoção de nutrientes e favorecer o crescimento das bactérias nitrificantes em sistema por batelada.

Para partida do filtro biológico percolador não foi utilizado inóculo. O crescimento do biofilme microbiano na superfície do meio suporte foi gradativo conforme o FBP era alimentado.

4.6 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos nos afluentes, efluentes, lodo e biogás do reator UASB e filtro anaeróbio de fluxo ascendente, em série, reator operado em batelada sequencial (RBS), filtro biológico percolador (FBP) e do decantador.

Para determinação dos constituintes orgânicos e inorgânicos foram coletadas amostras duas vezes por semana do afluente e efluente dos reatores. As amostras dos reatores UASB, filtro anaeróbio e filtro biológico percolador seguido de decantador foram compostas, ou seja, para compor uma amostra pequenas frações de efluente foram coletados a cada 30 minutos no período das 07:30 a 11:30 h.

No RBS foram coletadas amostras simples na etapa de descarte do efluente após o término do ciclo operacional. As amostras de lodo foram coletadas quinzenalmente para a determinação de ST e SV, as quais foram retiradas em quatro pontos de amostragem no reator UASB e cinco pontos no filtro anaeróbio.

Na Tabela 6 estão relacionadas às análises físicas, microbiológicas e determinações químicas executadas nas amostras dos afluentes e efluentes, no lodo e biogás durante as fases experimentais.

Durante as fases 4 e 5, foram retirados diariamente 6 litros de lodo do decantador e misturado a caixa do afluente para alimentação do reator UASB (R1) a fim de promover o tratamento secundário do lodo.

Tabela 6. Exames e determinações, frequências e fontes das metodologias utilizadas.

Exames e determinações		Referência bibliográfica
Afluente e efluentes		
pH	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Ácidos voláteis totais	2 x semana	DILLALO & ALBERTSON (1961)
Alcalinidade total, parcial e intermediária	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (1998) JENKINS et al. (1983)
Demanda química de oxigênio (DQOtotal); DQO da fração dissolvida (DQOdiss.)	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (método colorimétrico e digestão com refluxo fechado)
Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV)	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	Semanal	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Nitrogênio amoniacal (N - am.)	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Fósforo total (P-total)	2 x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Ortofosfato total (OFT)	Semanal	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Potássio, cálcio, magnésio, sódio, cobre, ferro, manganês, boro e zinco	Quinzenal	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Condutividade elétrica	Semanal	Condutímetro de Bancada
Coliformes totais e termotolerantes	Final da fase	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Colilert)
Efluente – (RBS, FBP, decantador)		
Oxigênio dissolvido	Diário	Oxímetro
Biogás-UASB		
Produção	Diária	OLIVEIRA (1997) (gasômetros)
Composição	Quinzenal	APHA, AWWA, WPCF (2005) utilizando cromatografia gasosa
Lodo - UASB/RBS		
Sólidos totais (ST) e voláteis (SV)	Semanal	APHA, AWWA, WPCF (2005)

Os valores de amônia livre (NH₃ Livre) foram calculadas utilizando a equação de Emerson et al. (1975), onde: T = Temperatura do meio (C°) e pH = pH do meio.

$$\frac{\text{NH}_3 \text{ Livre (\%)}}{\text{Amônia Total}} = \frac{100}{1 + 10^{(0,09018 + (\frac{2729,92}{T + 273,20}) - \text{pH})}}$$

4.7 Produção de Biogás

A produção do biogás nos reatores anaeróbios foi determinada diariamente pelo volume de biogás produzido diariamente, medindo-se o deslocamento vertical dos gasômetros e multiplicando-se pela área da seção transversal interna dos gasômetros. Após cada leitura, os gasômetros eram zerados, descarregando-se todo o gás neles armazenados. A correção do volume de gás para as condições de 1 atm e 0°C foi efetuada por meio da expressão que resulta da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac:

$$\frac{V_0 \times P_0}{T_0} = \frac{V_1 \times P_1}{T_1}$$

Onde,

V₀ = volume corrigido do biogás;

P₀ = pressão corrigida do biogás (10332,72 mm H₂O);

T₀ = temperatura corrigida do biogás, em °K (273 °K);

V₁ = volume do biogás nas condições de leitura (área do gasômetro multiplicada pela leitura, sendo as áreas de 0,0907 m², para os gasômetros dos reatores UASB e filtro anaeróbio).

P₁ = pressão do biogás no gasômetro, em mm de coluna de água (pressão atmosférica do local (9632,43) + pressão interna do gasômetro).

T₁ = temperatura do biogás no instante de leitura, em K.

As análises de composição do biogás foram realizadas quinzenalmente para determinação dos teores de metano (CH₄). As amostras eram coletadas e

posteriormente analisadas em cromatógrafo de fase gasosa (APHA, 2005).

Como a pressão atmosférica média de Jaboticabal é de 9632,43 mm coluna de água, resultou na seguinte expressão para a correção do volume de biogás para 0°C e 1 atm.:

$$R1 \text{ e } R2 \longrightarrow V_0 = \frac{V_1 \times 255,51}{T_1}$$

4.8 Aplicação da técnica molecular

Foram coletadas amostras de lodo do reator UASB e do filtro anaeróbio ao final da fase 4 para análise da comunidade microbiana por meio de PCR quantitativa em tempo real (qPCR) e sequenciamento via plataforma Illumina MiSeq (Figura 23). Foram utilizados diferentes primers para as análises das técnicas de biologia molecular.

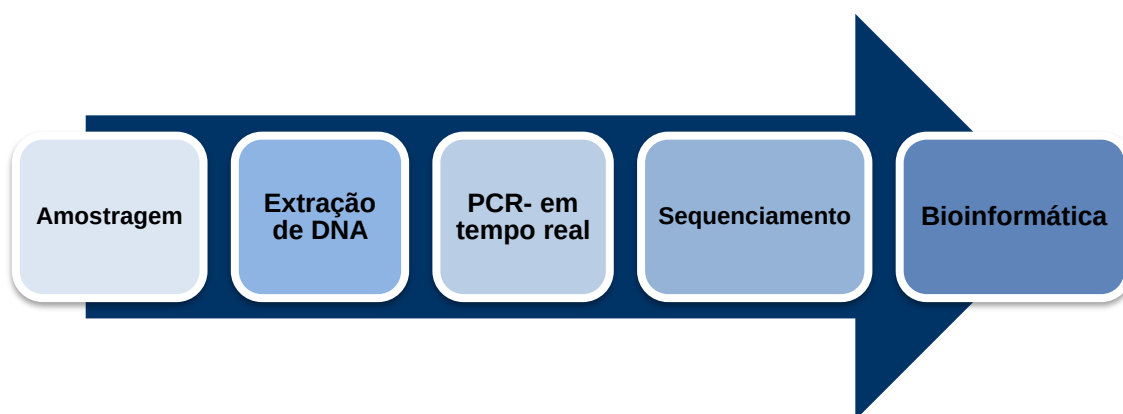


Figura 23. Esquema representativo das análises de biologia molecular.

As amostras foram coletadas em quatro pontos amostradores de lodo ao longo do reator (R1) e cinco amostradores de lodo do (R2) (Figura 24). Foram calculadas as concentrações de SV de todos os pontos para estimar a mesma concentração para todos os pontos amostrados. As concentrações de lodo coletado de cada ponto do reator UASB foram (F1) 47,7 g L⁻¹; (P1) 36,6 g L⁻¹;

(P2) 41,1 g L⁻¹; (P3) 34,3 g L⁻¹ e (P4) 25,3 g L⁻¹ para o filtro anaeróbio as concentrações foram (F2) 51,0 g L⁻¹; (P5) 50,7 g L⁻¹; (P6) 39,1 g L⁻¹; (P7) 28,0 g L⁻¹ e (P9) 19,8 g L⁻¹. As amostras do R1 foram agrupadas, assim como as amostras do R2, totalizando duas amostras, uma amostra composta para cada reator (Figura 24).

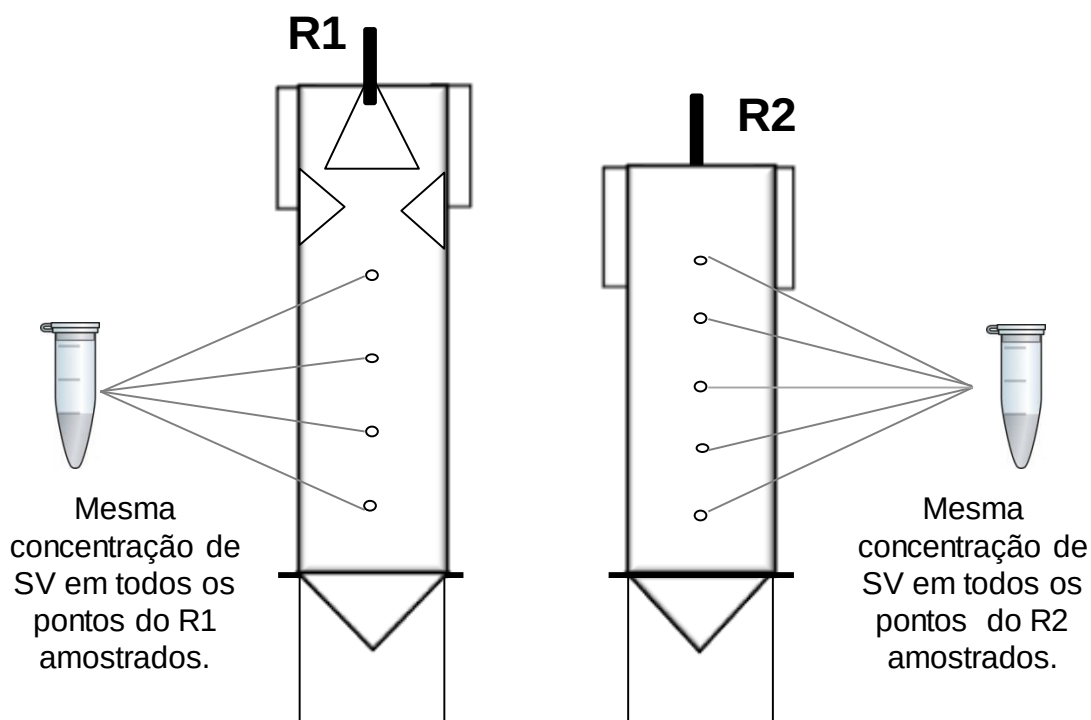


Figura 24. Desenho esquemático da coleta de amostras para análise de biologia molecular dos reatores anaeróbios UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2).

4.8.1 PCR quantitativa em tempo real (qPCR)

A qPCR foi realizada com o DNA genômico de amostras de lodo do inóculo. Os domínios Archaea e Bacteria, as ordens Methanobacteriales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales, e duas famílias, Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae foram quantificados por amplificações das regiões 16S rDNA, usando primers específicos (Song et al., 2010). As reações de qPCR foram conduzidas no aparelho Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR. As reações incluíram 6,25 µL de Power

SYBR Green® MasterMix 244 (Applied Biosystems), primers em diferentes concentrações dependendo do microrganismo, 10 ng de DNA metagenômico e água ultrapura para perfazer o volume da reação a 12,5 uL. Todas as reações foram conduzidas em placas de 96 poços no aparelho Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System® (Applied Biosystems) com as seguintes definições: dois minutos a 50°C; 10 minutos a 95°C; 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos, um minuto em temperatura específica de anelamento e 30 segundos a 78°C. Após estas etapas, houve uma etapa com o aumento da temperatura (60 para 95°C) para obter a curva de dissociação dos produtos da reação. O número de cópias de cada amostra foi determinado por diluição em série da curva padrão a partir do plasmídeo linearizado (gene 16S rDNA específico, referente a cada microrganismo estudado), 3×10^8 a 3×10^2 (1:10). O número de alvos do gene 16S rRNA foi determinado por sólidos voláteis em 1 mL de lodo peletado, de acordo com (Barros et al., 2017).

4.8.2 Sequenciamento de nova geração

Com o objetivo de identificar, de forma mais ampla e detalhada a diversidade microbiana presente no sistema de tratamento anaeróbio de águas residuárias da bovinocultura leiteira, foi realizada uma análise através da plataforma de sequenciamento de nova geração MiSeq (*Illumina*). As amostras coletadas foram enviadas para o laboratório de microbiologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP) para a construção das bibliotecas e sequenciamento.

A qualidade inicial dos dados foi aferida utilizando o programa “FastQC” (Versão: 0.11.9; Andrews, 2010). Em seguida, foram estipulados os parâmetros para o processamento por meio do programa “USEARCH” (Versão: 11.0.667; Edgar, 2010), onde se estabeleceu os limiares para poda de qualidade (“-fastx_info”) e tamanho (“-fastq_eestats2”), bem como a posição dos primers utilizados para a amplificação da região V4 (“-search_oligodb”). As extremidades contendo os adaptadores foram podadas pelo programa “Fastp”

(Versão: 0.23.2; Chen *et. al.*, 2018), removendo bases de acordo com os valores previamente estabelecidos (“--trim_front1 18”; “--trim_front2 19”). Então, os pares de bibliotecas foram fundidos com o programa “Flash” (Versão: 1.2.11; Magoč & Salzberg, 2011) com alteração no parâmetro de sobreposição mínima permitida para 5 bases (“--min-overlap 5”).

As leituras processadas e fundidas foram submetidas ao pipeline “DADA2” (Versão: 1.22.0; Callahan *et. al.*, 2016) através de seu pacote para o programa estatístico “R” (versão: 4.1.2; R Core Team, 2021). As leituras passaram por um processo de controle de qualidade (“filterAndTrim”), onde realizou-se uma truncagem de tamanho (“truncLen = 254”) e filtragem de qualidade (“maxEE = 2”). Em seguida, aferiu-se as sequências variantes de amplicons (do inglês: “amplicon sequence variants” ou “ASVs”) exatas para cada amostra, as quais foram posteriormente classificadas taxonomicamente (“assignTaxonomy”), com base no banco de dados de referências “SILVA” (versão: 138.1; Quast *et.al.*, 2012). As anotações taxonômicas das ASVs, bem como suas contagens por amostra, foram exportadas em forma de um objeto “phyloseq” (pacote R “phyloseq”; Versão: 1.38.0; McMurdie & Holmes, 2013) e transformadas em dados composicionais (função `phyloseq_standardize_otu_abundance` do pacote R “metagMisc”; Versão: 0.0.4; Mikryukov, 2019). Os perfis taxonômicos foram ilustrados por gráficos gerados no R através do pacote “ggplot2” (Versão: 3.3.5; Wickham, 2011).

4.9 Cálculo do RAS – Razão de adsorção de sódio

A relação de adsorção de sódio (RAS) é a relação entre as concentrações de Na⁺ e as concentrações dos íons divalentes Ca²⁺ e Mg²⁺. A RAS avalia a concentração de sódio em relação ao cálcio e magnésio.

$$\text{RAS} = \frac{\text{Na}}{\frac{\sqrt{\text{Ca} + \text{Mg}}}{2}}$$

5.0 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), para os reatores anaeróbios e aeróbios com diferentes repetições no tempo para cada parâmetro avaliado. Os valores dos parâmetros determinados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, utilizando-se para a comparação das médias o Teste de Duncan 5%, utilizando software Info Stat 16132013.

6. RESULTADO E DISCUSSÃO

6.1 Temperatura

Na Tabela 7 e na Figura 25 estão apresentados os valores das temperaturas do ar máximas, médias e mínimas, observadas na Estação Agroclimatológica da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, durante a operação do sistema de tratamento nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

A temperatura é um importante parâmetro no processo de digestão anaeróbia, podendo variar de acordo com as estações do ano e influenciar o metabolismo da atividade microbiana. Além de afetar a solubilidade de gases, a viscosidade dos líquidos, as reações químicas e a dinâmica das reações.

Os valores médios das temperaturas do ar máxima, média e mínima observadas durante as fases 1 a 6 diferiram significativamente ($p < 0,01$). As maiores temperaturas foram observadas durante as fases 2, 4 e 6 de 30,3; 31,2 e 31,6 °C respectivamente, e não diferiram significativamente entre si ($p < 0,01$).

Tabela 7. Valores máximos, médios, mínimos e desvio padrão da temperatura do ar durante as fases 1 a 6.

Fases	Temperatura do ar (°C)		
	Máxima	Média	Mínima
1	27,8 ± 4 d	20,1 ± 3 c	13,7 ± 3 d
2	30,3 ± 2 b	23,7 ± 1 a	18,7 ± 1 b
3	28,1 ± 4 d	20,7 ± 2 bc	14,4 ± 3 c
4	31,2 ± 4 ab	24,5 ± 3 a	18,8 ± 2 b
5	29,1 ± 4 c	21,4 ± 3 b	14,7 ± 3 c
6	31,6 ± 3 a	24,1 ± 2 a	19,5 ± 1 a
Teste f	19,3**	43,9**	98,7**

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** p<0,01 (Significativo a 1% de probabilidade); * p<0,05 (Significativo a 5% de probabilidade); ns: p>0,05 (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

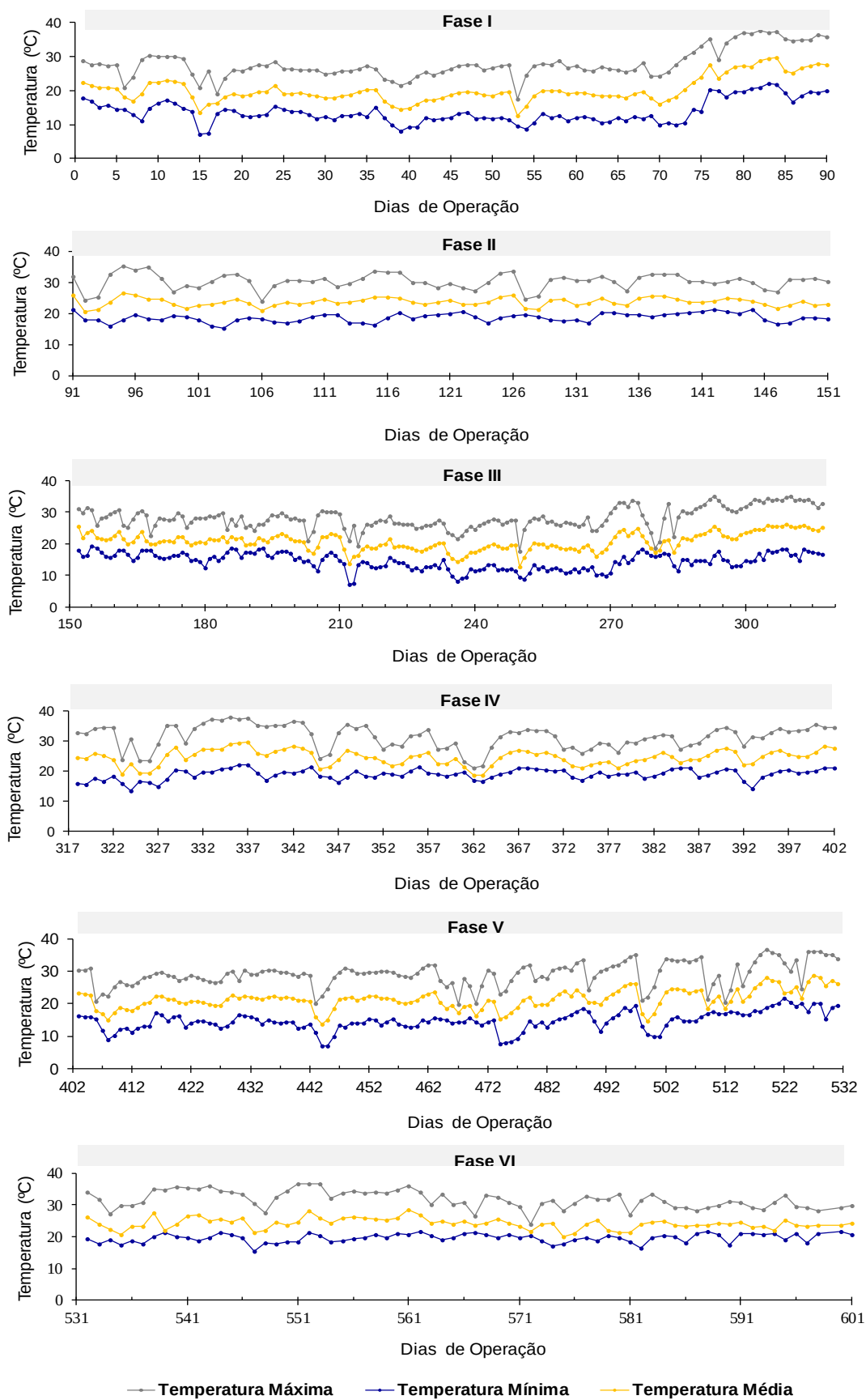


Figura 25: Temperatura máxima, mínima e média nas fases 1 a 6.

A fase 2 foi realizada durante os meses de outubro a dezembro de 2017, já a fase 4 foi testada entre setembro a dezembro de 2018 e a fase 6 foi executada entre os meses de outubro a dezembro de 2019. Os menores valores de temperatura média ($p < 0,01$) do ar, de 13,7; 14,4 e 14,7°C foram observadas nas fases 1, 3 e 5, respectivamente. A fase 1 foi realizada nos meses de maio a dezembro de 2017, de abril a outubro de 2018 foi executada a fase 3, já a fase 5 compreendeu os meses de maio a outubro de 2019.

Os maiores valores de temperaturas médias do ar foram significativamente iguais ($p < 0,01$) de 23,7; 24,5 e 24,1°C durante as fases 2, 4 e 6.

Durante o período experimental foi observado à predominância da faixa mesofílica, temperaturas médias entre 20 a 30°C, faixas adequadas para promover a digestão anaeróbia, mas fora da faixa de temperatura ótima, de 30 a 35°C (Chernicharo, 2016).

A biomassa microbiana é muito sensível à instabilidade da temperatura, o consórcio microbiano é favorecido quando a temperatura é mantida constante (Mao et al., 2015). Em baixas temperaturas a termodinâmica das reações sofrem alterações, o que interfere na eficiência dos reatores, além de acúmulo de sólidos no leito do reator, já que a capacidade hidrolítica e metanogênica diminuirá gradualmente (Chong et al., 2012).

6.2 pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais.

Os valores médios e coeficiente de variação do pH, alcalinidade parcial, alcalinidade intermediária, alcalinidade total, relação AI/AP e ácidos voláteis dos reatores anaeróbios, UASB e Filtro anaeróbio durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 estão apresentados na tabela 8. A figura 26 demonstra o comportamento do pH durante todo o período experimental.

Tabela 8. Valores médios e coeficiente de variação do pH, alcalinidade parcial, alcalinidade intermediária, alcalinidade total, relação AI/AP e ácidos voláteis dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.

		Fase I		Fase II		Fase III		Fase IV		Fase V		Fase VI		Teste F
		Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	
pH	Afluente	6,3 b	6	6,3 b	6	6,0 a	7	6,4 b	7	6,4 b	6	6,8 c	4	11,15**
	R1	6,8 ab	4	7,0 ab	2	6,9 a	4	7,2 b	3	6,9 a	3	7,0 ab	2	2,53*
	R2	7,2 c	4	7,0 a	2	7,0 b	3	7,3 c	2	7,0 b	2	7,1 bc	2	7,53**
AP (mg CaCO ₃ /L)	Afluente	171 a	54	355 b	6	205 a	129	427 c	63	329 b	48	911 d	17	47,44**
	R1	583 a	5	964 c	23	669 ab	25	675 ab	17	731 b	23	958 c	13	10,18**
	R2	606 a	48	1001 c	20	754 b	26	704 ab	15	783 b	21	1002 c	13	9,69**
AI (mg CaCO ₃ /L)	Afluente	520 b	55	659 c	43	441 b	47	299 a	62	406 a	31	289 a	21,9	7,71**
	R1	209 a	70	106 bc	31	104 c	52	113 bc	61	132 bc	43	154 b	47,4	7,29**
	R2	136 a	70	95 ab	45	98 ab	90	84 b	37	121 ab	39	136 a	39,2	1,72**
AT (mg CaCO ₃ /L)	Afluente	665 a	49	1250 b	17	581 a	58	722 a	33	736 a	20	1201 c	13,4	17,98**
	R1	793 a	38	1070 b	23	773 a	23	788 a	20	863 a	20	1113 b	15,4	8,69**
	R2	742 a	40	1097 c	20	853 ab	27	792 ab	16	904 b	18	1139 c	13,1	8,82**
AI/AP	R1	0,45 a	84	0,11	2	0,16	59	0,16 b	25	0,19 b	58	0,16 b	0,13 b	11,0**
	R2	0,29 a	79	0,09 b	43	0,13 b	87	0,12 b	32	0,16 b	51	42,8	36,0	5,08*
AVT (mg/L)	Afluente	646 ns	48	694 ns	49	636 ns	24	706 ns	20	710 ns	30	629 ns	28	0,61 ns
	R1	302 b	47	223 a	37	215 a	32	220 a	41	257 ab	22	217 a	17	2,80*
	R2	228 ns	99	186 ns	14	180 ns	31	165 ns	29	201 ns	22	177 ns	17	1,0 ns

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** p<0,01 (Significativo a 1% de probabilidade); * p<0,05 (Significativo a 5% de probabilidade); ns: p>0,05 (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

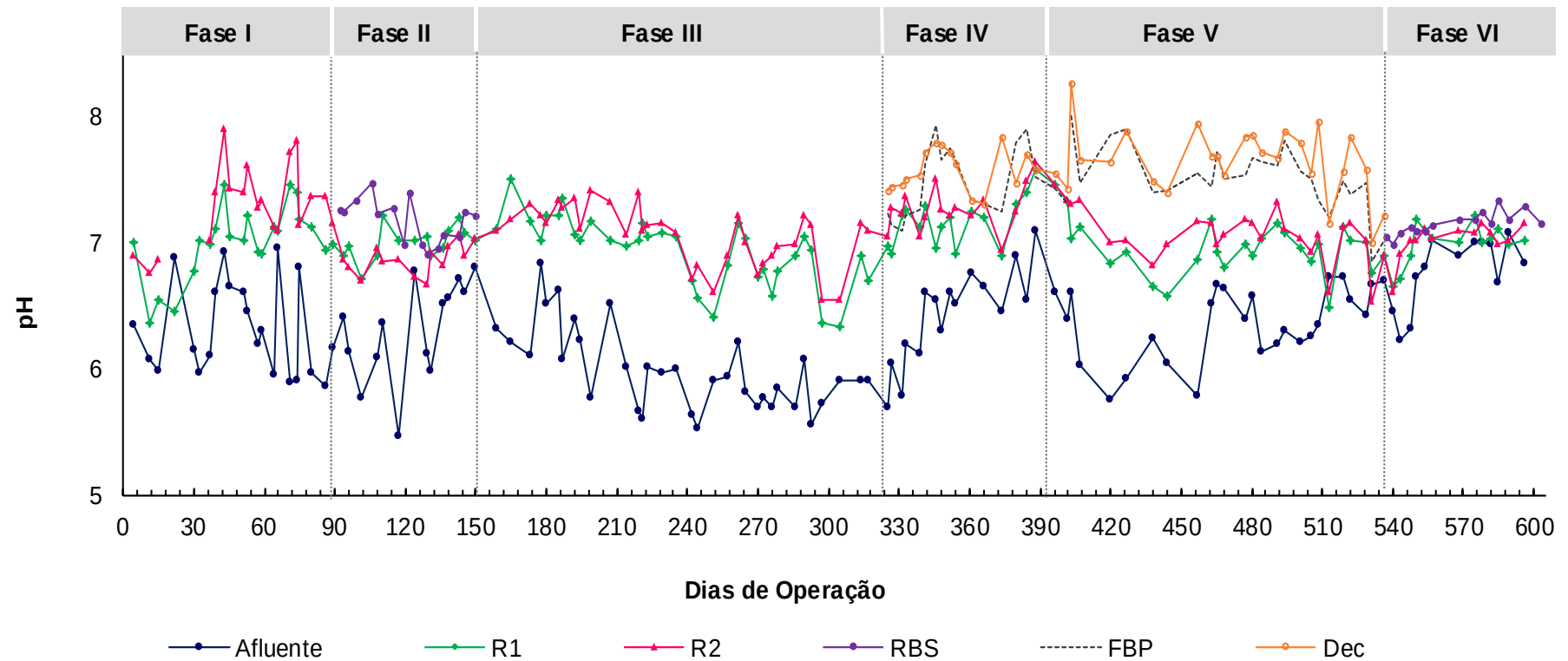


Figura 26. Comportamento do pH afluente e efluente nos reatores UASB (R1), filtro anaeróbio (R2), reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.

Os valores de pH afluente variaram de 6,0 a 6,8 e foram crescentes do afluente aos efluentes dos reatores R1 e R2 durante todo período experimental. O R1 (UASB) apresentou valores entre 6,8 a 7,2 e o filtro anaeróbio (R2) apresentou valores médios entre 7,0 a 7,3.

Os valores observados no estudo são similares aos observados por Masihdas e Tao (2018) tratando resíduos alimentares na co-digestão com efluente líquido de digestores mesofílicos de uma fazenda de gado leiteiro em reatores mesofílicos agitados continuamente, próximos à faixa ideal para a digestão anaeróbia de 6,1 a 8,3 (Mao et al., 2015) e adequado para o crescimento das arqueas metanogênicas (Chernicharo, 2007; Leite et al., 2015; Kunz et al., 2019). Nas fases da hidrólise e acidogênese os níveis apropriados de pH situam-se entre 5,5 a 6,5 (Khalid et al., 2011). O pH se manteve dentro da faixa recomendada para produção estável de metano de 6,6 a 7,4. Portanto, os valores observados durante o experimento se mantiveram dentro da faixa ótima de pH conforme Tabela 8 e Figura 26. O sistema de tratamento foi responsável por manter o pH estável e não houve necessidade de ajuste em nenhum momento.

No reator operado em batelada sequencial (RBS) os valores de pH foram 7,17 e 7,15 nas fases 2 e 6. Valores na faixa de neutralidade proporcionam maior disponibilidade e atividade dos microrganismos (Silva Jr., 2011; Chang et al., 2014).

No filtro biológico percolador (FBP) foram observados valores de 7,5 nas fases 4 e 5 e 7,6 nas fases 4 e 5 no decantador secundário, tais valores evidenciam acréscimo do pH em relação ao efluente do R2. Os valores observados nos reatores aeróbios RBS e FBP (Tabela 9) são indicados para a ocorrência do processo de nitrificação que ocorre em pH acima de 6,5, que é a faixa em que as bactérias nitrificantes são mais eficientes (Metcalf e Eddy, 2003). Valores de pH na faixa de 7,2 a 8,8 são recomendados para as bactérias do gênero *Nitrosomonas* e valores na faixa de 7,2 a 9,0 para as bactérias do gênero *Nitrobacter* (Chen et al., 2006). Os valores médios de pH observados nos reatores aeróbios permaneceram dentro da faixa recomendada para a ocorrência dos processos de nitrificação e desnitrificação.

2020 Tabela 9. Valores médios e coeficiente de variação do pH, alcalinidade parcial, alcalinidade intermediária, alcalinidade total,
 2021 relação Al/AP e ácidos voláteis dos reatores aeróbios, RBS, FBP e Dec durante as fases 2, 4 ,5 e 6.

		Fase II		Fase IV		Fase V		Fase VI		Teste F
		Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	
pH	RBS	7,2 ns	2,6	-	-	-	-	7,2 ns	1,3	1,07 ns
	FBP	-	-	7,5 ns	3,5	7,5 ns	3,4	-	-	2,24 ns
	Dec	-	-	7,6 ns	2,1	7,6 ns	3,6	-	-	2,74 ns
AP (mg CaCO ₃ /L)	RBS	777 a	21,1	-	-	-	-	532 b	25,4	49,17**
	FBP	-	-	260 a	13,7	421 b	25,6	-	-	31,94**
	Dec	-	-	370 a	18,8	487 b	22,3	-	-	16,19**
Al (mg CaCO ₃ /L)	RBS	79 ns	61	-	-	-	-	87 ns	57	1,01 ns
	FBP	-	-	67 a	23	89 b	33,6	-	-	7,26*
	Dec	-	-	73 a	25	101 b	45,6	-	-	6,19*
AT (mg CaCO ₃ /L)	RBS	857 a	19,9	-	-	-	-	619 b	28,3	41,2**
	FBP	-	-	327 b	21,1	510 a	23,1	-	-	33,48**
	Dec	-	-	443 a	16,1	589 b	21,0	-	-	19,67**
AVT (mg/L)	RBS	170 ns	37	-	-	-	-	124 ns	19	2,70 ns
	FBP	-	-	125 ns	19	143 ns	21	-	-	3,83 ns
	Dec	-	-	111 a	25	131 b	18	-	-	5,30*

2022 Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** p<0,01 (Significativo a 1% de probabilidade); * p<0,05 (Significativo a 5%
 2023 de probabilidade); ns: p>0,05 (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

2024

2025

De acordo com Chernicharo (2007) o pH está relacionado com a atividade enzimática dos microrganismos e com a geração de compostos que podem se tornar tóxicos em determinadas condições de operação dos reatores.

O monitoramento da alcalinidade é fundamental para aferir a estabilidade do processo, pequenas reduções nos valores de pH implicam em elevado consumo de alcalinidade, já que a escala do pH é logarítmica (Foresti, 1999).

Os valores de alcalinidade total (AT) foram crescentes do afluente aos efluentes dos reatores anaeróbios (Figura 27). Os valores médios de alcalinidade total (AT) no afluente variaram de 581 a 1250 mg L⁻¹ durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Nos efluentes dos reatores R1 e R2 os valores de AT aumentaram para 793; 1070; 773; 788; 863 e 1113 mg L⁻¹ e 742; 1097; 853; 792; 904 e 1139 mg L⁻¹, nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente (Tabela 8).

O incremento nos valores de AT nos efluentes dos reatores R1 e R2 evidenciam a capacidade tampão dos reatores. O aumento da alcalinidade total (AT) ocorreu em virtude do acréscimo na concentração de bicarbonatos, como pode ser observado por meio dos aumentos dos valores médios da alcalinidade parcial (AP) nos efluentes do R1 e do R2 em relação aos valores dos afluentes, como pode ser observado na (Tabela 8) e (Figura 27).

Os valores de alcalinidade parcial (AP) nos efluentes dos reatores anaeróbios aumentaram. No R1 os valores observados foram de 583, 964, 669, 675, 731 e 958 e para o R2 os valores foram de 606, 1001, 754, 704, 783 e 1002 mg L⁻¹, nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente (Tabela 9 e Figura 28). Mazareli et al. (2016) também observaram maiores valores de alcalinidade parcial (AP) nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais na co-digestão de resíduos vegetais com águas residuais da suinocultura. O acréscimo nos valores da AP dos afluentes para os efluentes evidencia a capacidade de tamponamento do sistema.

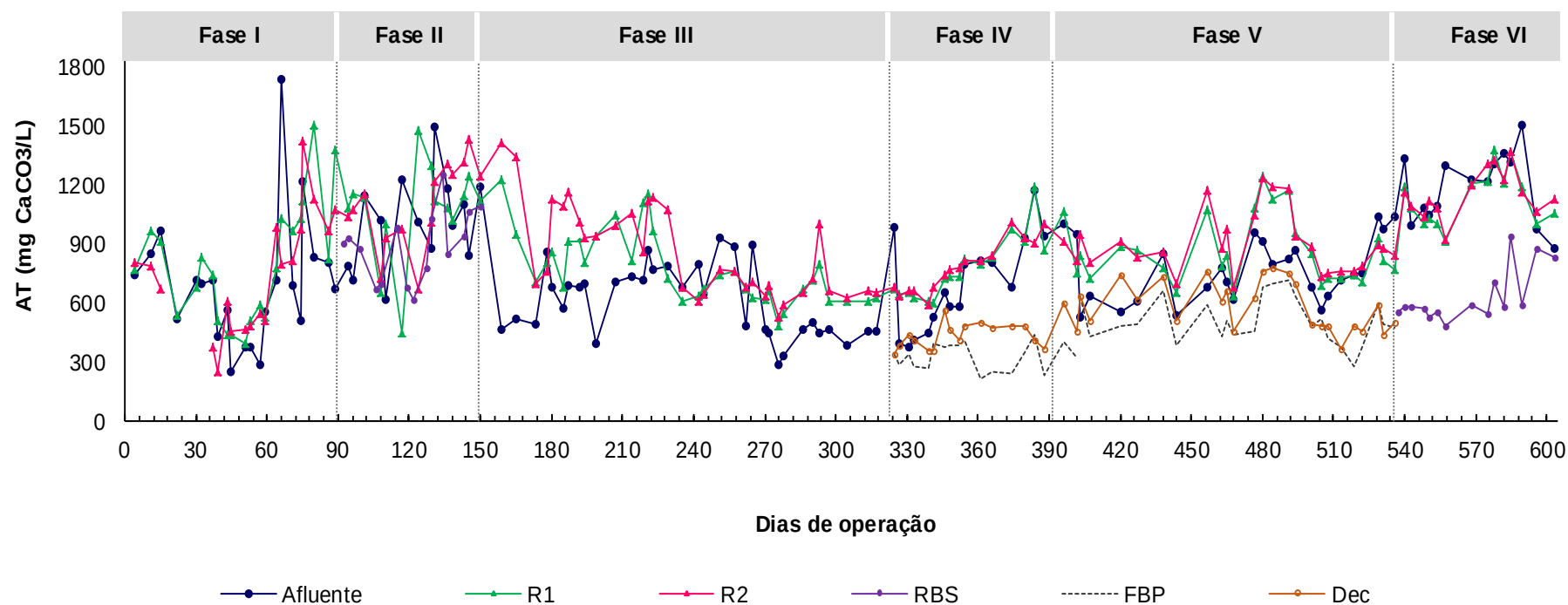


Figura 27. Comportamento da alcalinidade total (AT) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbico, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

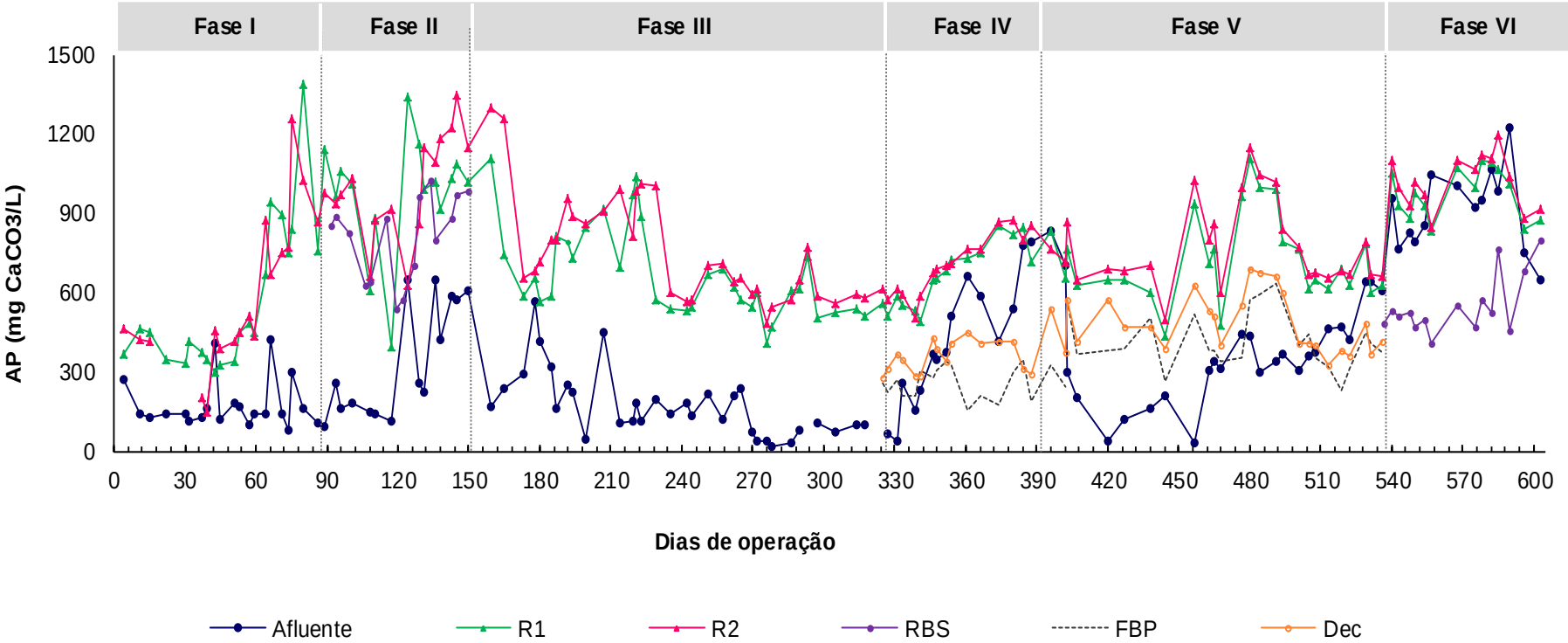


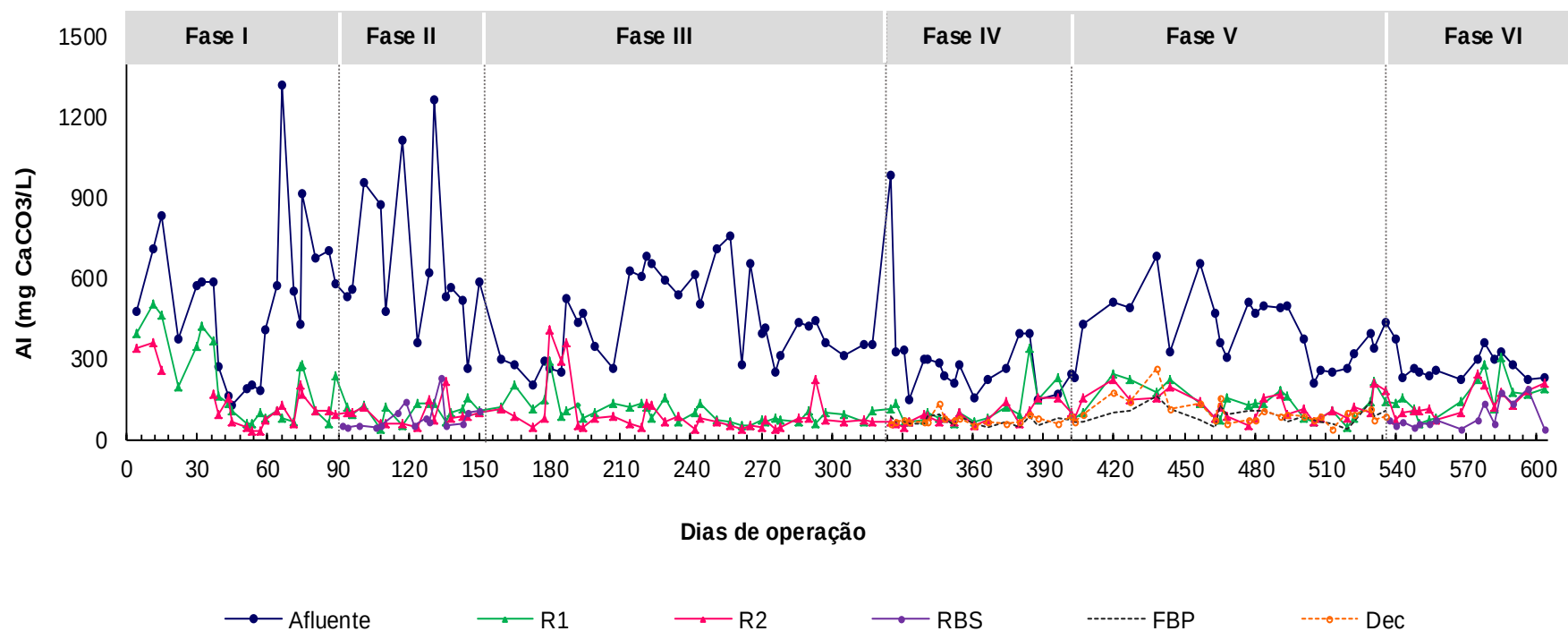
Figura 28. Comportamento da alcalinidade parcial (AP) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.

Os valores médios da alcalinidade intermediária (AI) correspondem à diferença entre a alcalinidade total e a alcalinidade parcial. Os valores encontrados no R1 foram 209, 106, 104, 113, 132 e 154 mg L⁻¹ e do R2 de 139, 95, 98, 84, 121 e 136 mg L⁻¹ durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente e reduziu dos afluentes para os efluentes dos reatores anaeróbios proporcionada pelos ácidos graxos voláteis, indicando o consumo destes ácidos, principalmente no R1 conforme a (Tabela 8 e Figura 29).

Foi observado um consumo da alcalinidade total (AT) nas condições aeróbias, no RBS o consumo foi de 1097 para 857 mg CaCO₃ L⁻¹ na fase 2 e de 1139 para 620 mg CaCO₃ L⁻¹ na fase 6, para o FBP o consumo foi de 792 para 327 mg CaCO₃ L⁻¹ na fase 4 e de 904 para 510 mg CaCO₃ L⁻¹ na fase 5, evidenciando a ocorrência do processo de nitrificação, uma vez que esta reação envolve o consumo de alcalinidade. O maior consumo de alcalinidade total foi observado na fase 4, fase de operação com FBP. O decréscimo dos valores médios da alcalinidade no FBP pode ser um indicativo da alta atividade nitrificante nesta fase.

No decantador secundário foi observado aumento da alcalinidade de 443 e 589 mg CaCO₃ L⁻¹, nas fases 4 e 5 respectivamente (Tabela 9).

No sistema aeróbio composto pelo RBS ocorreu decréscimo nos valores de AP para 777 e 532 mg L⁻¹ nas fases 2 e 6, respectivamente. Nas fases 4 e 5 para o FBP os valores observados também decresceram para 260 e 421 mg L⁻¹. A mesma tendência foi observada para alcalinidade intermediária (AI) nos reatores aeróbios, houve decréscimo nos efluentes do RBS nas fases 2 e 6 e no FBP nas fases 4 e 5.



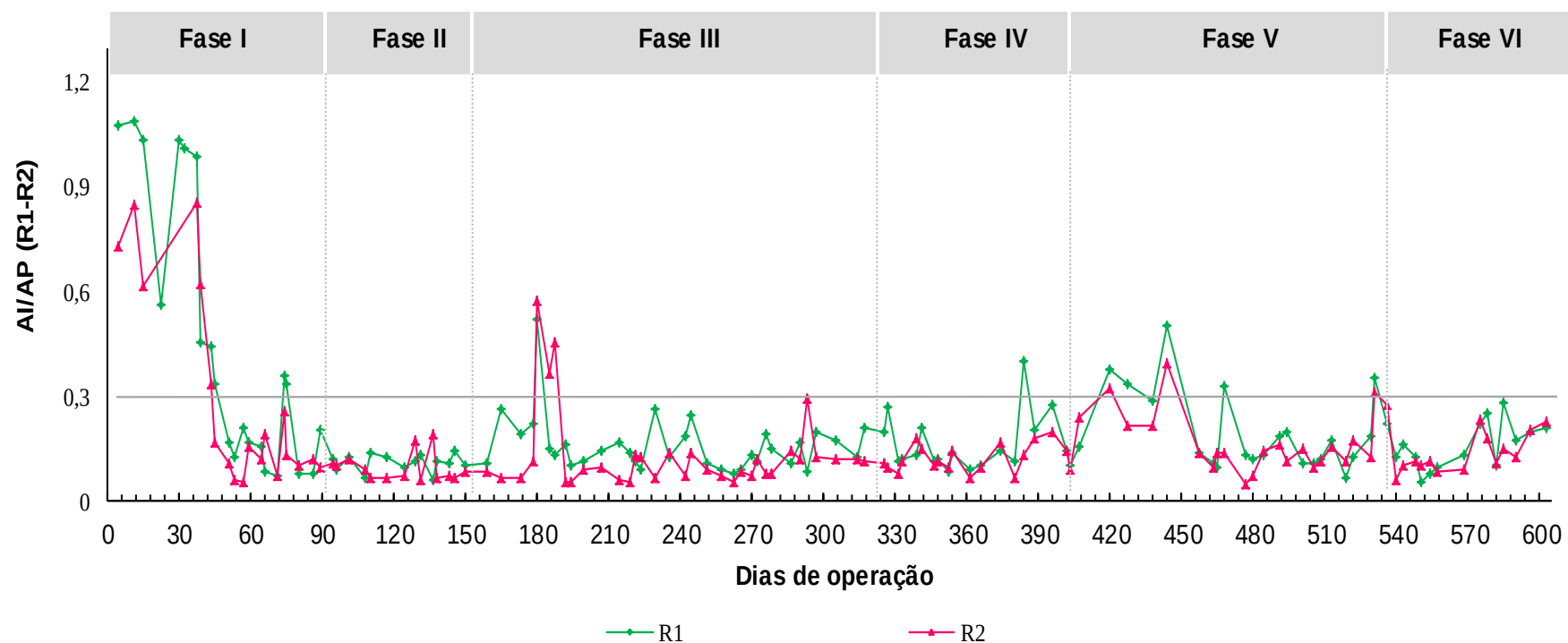
1

2 Figura 29. Comportamento da alcalinidade intermediária (AI) afluente e efluente nos reatores UASB, filtro anaeróbio, reator
 3 operado em batelada sequencial, filtro biológico percolador e decantador durante as fases 1 a 6.

4

A razão (alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial) AI/AP indica o desempenho dos reatores quanto ao equilíbrio tamponante e a processos de distúrbios e instabilidade nos reatores. O valor recomendado por Ripley et al. (1986); Martín-González et al. (2013) de 0,3 para esgoto sanitário foi observado durante as fases 2, 3, 4, 5 e 6 de 0,11; 0,16; 0,16; 0,19 e 0,16 para o R1, respectivamente. Na fase 1 no R1 o valor encontrado foi de 0,45, valor que demonstra instabilidade no processo, entretanto, a fase 1 foi o início de operação do sistema e período de adaptação dos microrganismos. Nesse período, a adição do afluente provocou aumento da relação AI/AP. (Tabela 8 e Figura 30), e apesar da maior relação o reator não apresentou indícios de desequilíbrio. A relação AI/AP no R2 foi de 0,29; 0,09; 0,13; 0,12; 0,16 e 0,13 para as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. A correlação observada na (Figura 31 a e b) foi negativa, o que evidencia que com o aumento da alcalinidade parcial a relação AI/AP diminui. O mesmo não foi observado na (Figura 31 c e d) que demonstrou uma correlação positiva, quanto mais ácidos voláteis eram gerados no sistema a relação AI/AP aumentava. Os resultados obtidos mostraram que a relação AI/AP permaneceu abaixo do valor recomendado pela literatura durante as fases subsequentes a partida do sistema. É possível obter estabilidade no processo anaeróbico mesmo com AI/AP superiores a 0,3 (Duda, 2006; Barros et al., 2017). Esta análise deve ser criteriosa e investigada para cada caso em particular, como ocorreu no R1 na fase 1, sem comprometer a estabilidade de outros parâmetros de monitorização averiguados.

O aumento da COV de 4,8 para 12,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e a redução do TDH de 60 para 30 horas não ocasionaram instabilidade no sistema e os reatores permaneceram estáveis como evidenciado pelos valores de AI/AP durante toda a fase experimental. Essa evidência já era esperada e a adaptação dos microrganismos foi gradual. Durante os primeiros 40 dias de operação a relação AI/AP foi superior a 0,3 devida à instabilidade do consórcio microbiano. Ao final da fase 1 a relação AI/AP foi inferior a 0,3 confirmando a estabilidade operacional associada a outros parâmetros como pH e ácidos, corroborando assim a aptidão dos reatores anaeróbios para o tratamento do efluente da bovinocultura leiteira.



38

39 Figura 30. Relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP) dos efluentes dos reatores UASB e filtro anaeróbio,
 40 durante as fases 1 a 6.

41

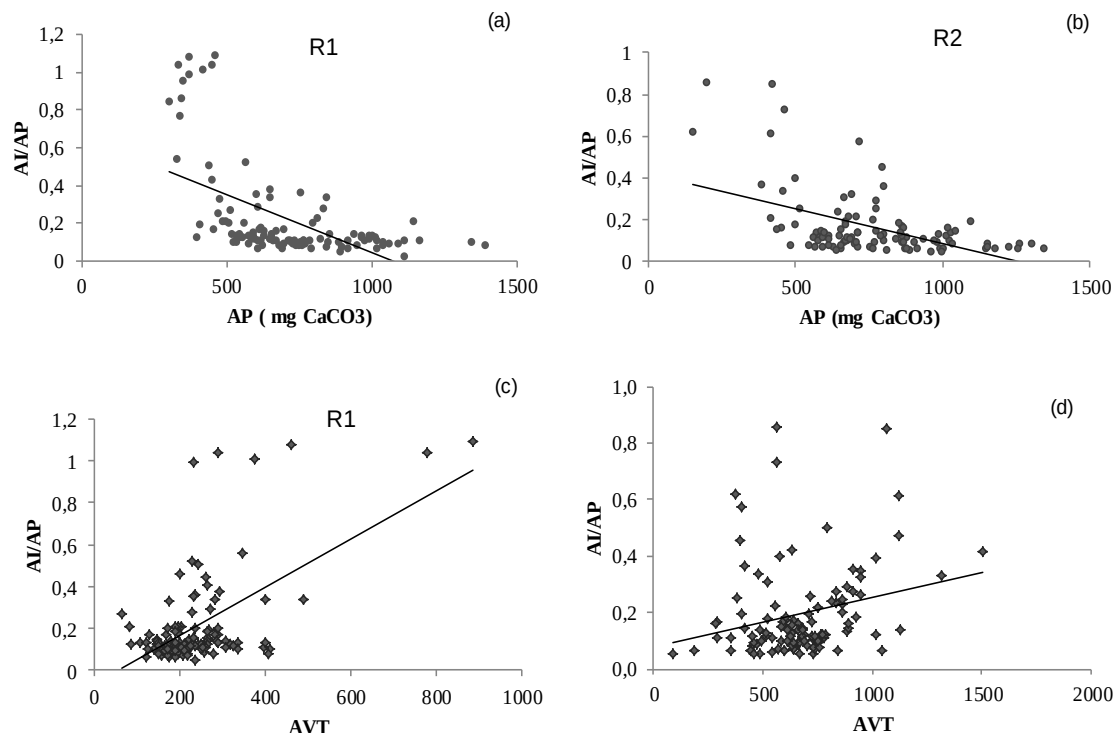
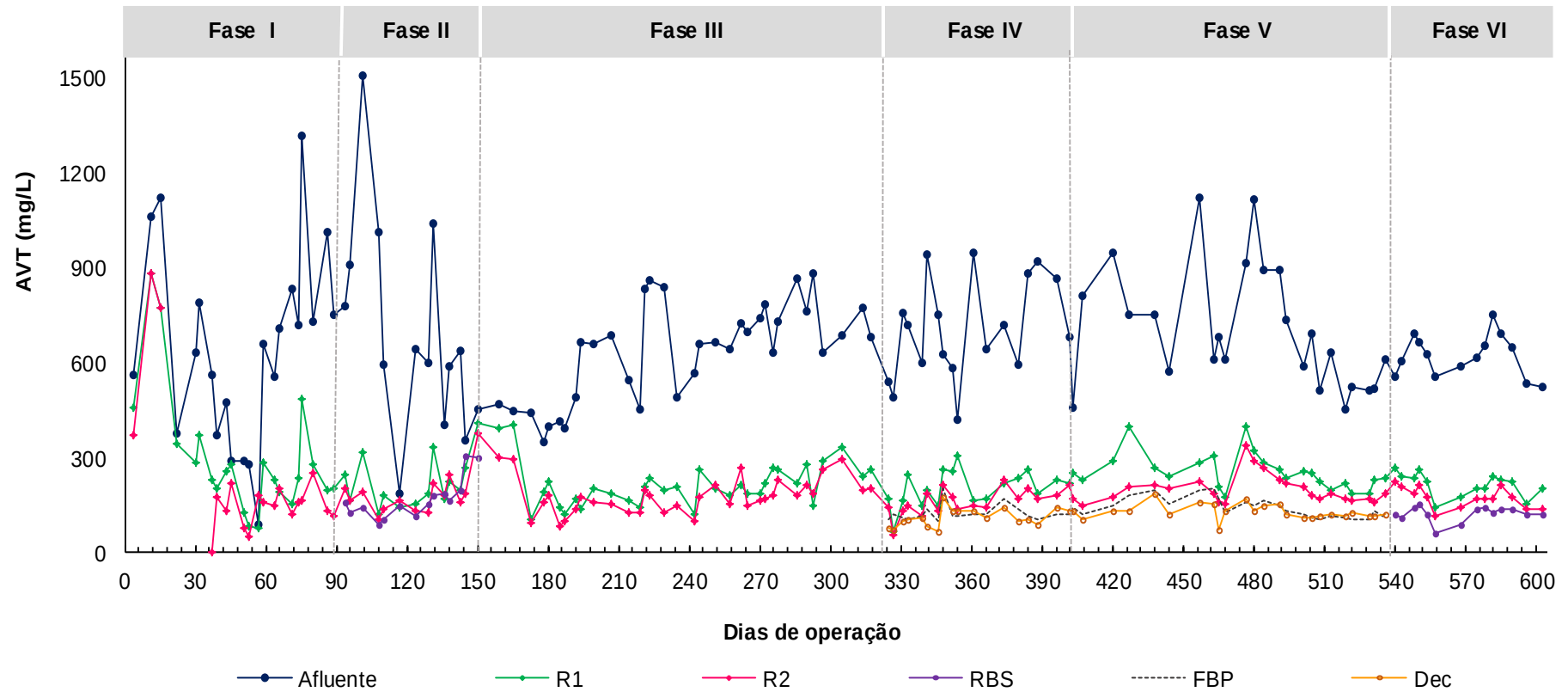


Figura 31: Gráfico de correlação relação AI/AP – AP nos reatores R1 e R2 (a e b). Gráfico de correlação da relação AI/AP – AVT (c e d).

Os valores de ácidos voláteis totais (AVT) no afluente e efluente dos reatores anaeróbios e aeróbios durante as seis diferentes fases do experimento são demonstrados nas Tabelas 8 e 9 e Figura 32. Os AVT gerados durante o processo de degradação da matéria orgânica apresentaram comportamento inversos aos valores do pH e foram decrescentes do afluente para os efluentes do reator UASB e FA, o que indica que o sistema era estável e os AVT foram consumidos pelas acetogênicas sintróficas e metanogênicas.

O aumento da carga orgânica não interferiu nos valores de ácidos do afluente que variaram de 629 a 710 mg L⁻¹ durante as fases 1 a 6 e não diferiram estatisticamente. Os valores de AVT no R1 foram de 302, 223, 215, 220, 257 e 217 mg L⁻¹ durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente, já para o R2 os valores foram de 228, 186, 180, 165, 201 e 177 nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente. Indicativos de uma condição operacional adequada.



1

2 Figura 32. Comportamento dos ácidos voláteis totais (AVT) dos afluentes e efluentes dos reatores UASB, filtro anaeróbico, RBS,
 3 FBP e decantador durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

O acúmulo de ácidos pode indicar uma situação de estresse no processo de digestão, o que não aconteceu neste estudo indicando que a alcalinidade parcial produzida foi satisfatória para consumir os ácidos gerados e garantir o equilíbrio do processo sem provocar decréscimo do pH, que é dependente da capacidade tampão dos reatores relacionada com a alcalinidade dos carbonatos e bicarbonatos.

Os crescentes valores da COV e decréscimos no TDH não implicaram em distúrbios na operação dos reatores anaeróbios, o mesmo foi observado por Oliveira e Santana (2011) operando um reator UASB de dois estágios. A redução do TDH consequentemente aumenta a carga orgânica, o que induz maior atividade das bactérias hidrolíticas e acidogênicas resultando em maior concentração de AVT nos reatores. Os valores observados nos efluentes do R1 ($p < 0,05$) durante as fases experimentais foram mais relacionadas com a heterogeneidade no afluente do que com as mudanças nas condições de operação do reator UASB.

O monitoramento da concentração de ácidos no processo de digestão indica seu potencial inibitório. As maiores concentrações de ácidos voláteis podem indicar distúrbios nos reatores anaeróbios e implica em menores produções de metano pelas metanogênicas (Barret et al., 2012). No conjunto de reatores em série, (UASB + FA), em todas as fases foram observados consumo de mais de 60% dos ácidos gerados. O reator UASB - R1 foi responsável pela maior remoção de ácidos evidenciando que as arqueias metanogênicas estavam em condições ambientais favoráveis. Já o filtro anaeróbio – R2 consumiu aproximadamente 25% dos ácidos, o que induz que neste reator a remoção de DQO depende de compostos recalcitrantes.

Reatores UASB são considerados mais robustos e capazes de acomodar altas cargas orgânicas e hidráulicas (Lettinga et al., 1980). O conjunto de reatores anaeróbios em série (R1+R2) suportou maiores cargas orgânicas sem perder a estabilidade do processo de digestão anaeróbia.

As concentrações de AVT no RBS e FBP nas fases 2, 4, 5 e 6 não diferiram significativamente, os valores observados para o RBS foram de 170 e 124 mg L⁻¹ para as fases 2 e 6 respectivamente, já para o FBP os valores foram de 111 e 131 mg L⁻¹ nas fases 4 e 5 respectivamente, conforme Tabela 9 e figura 32. O consumo de AVT nos reatores aeróbios correspondeu a 25 e 30%

no RBS nas fases 2 e 6 respectivamente e 33 e 35% nas fases 4 e 5 para o FBP respectivamente.

6.3 Demanda química de oxigênio (DQO)

Na Tabela 10 e Figura 33 estão apresentados os valores médios da demanda química de oxigênio total (DQO total), demanda química de oxigênio da fração dissolvida (DQO dissolvida) e demanda química de oxigênio da fração particulada (DQO particulada) dos afluentes e efluentes do sistema de tratamento anaeróbio composto pelo reator UASB (R1) e filtro anaeróbio de fluxo ascendente (R2) e do pós-tratamento aeróbio reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador (Dec.) e das eficiências de remoção obtidas durante o experimento.

As cargas orgânicas volumétricas (COV) médias aplicadas no reator UASB (R1) foram de 4,8; 8,7; 10,6; 11,6; 12,6 e 11,5 g DQO total (L d)⁻¹ ($p < 0,05$) nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente (Tabela 10). No filtro anaeróbio (R2) as cargas médias aplicadas foram 3,0; 2,8; 5,7; 3,4; 6,0 e 4,1g DQO total (L d)⁻¹. A COV aplicada no filtro anaeróbio é dependente da eficiência de remoção de matéria orgânica aplicada no reator UASB, já que o efluente do R1 é o afluente do R2.

Rico et al. (2011) trabalharam com reator UASB, o qual suportou carga orgânica de (40 kg DQO m⁻³ d⁻¹) tratando efluente de bovinos leiteiros. A alta carga orgânica relatada pelos autores pode ser atribuída ao método de separação líquido, sólido usado no estudo, (floculação, coagulação e peneiramento).

As variações da DQO afluente, foram atribuídas à heterogeneidade do esterco coletado em virtude do manejo alimentar aplicado aos animais.

Os valores médios de DQO total no efluente do R1 foram 4634, 3368, 5622, 2821, 4557 e 2653 mg L⁻¹ nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente e diferiram estatisticamente ($p < 0,05$).

No filtro anaeróbio os valores médios efluentes foram de 2227, 2001, 2990, 1927, 2066 e 1848 para as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente. O

efluente do (R2) na fase 5 não diferiu significativamente das demais fases estudadas.

Os valores médios de eficiência de remoção de DQO total no sistema combinado anaeróbio (UASB+FA) foram significativos ($p < 0,01$) (Figura 33). As maiores eficiências de remoção não apresentaram diferença estatística e foram observadas nas fases 2, 4, 5 e 6 de 87, 88, 86 e 89%, respectivamente. As maiores temperaturas médias do ar observadas aconteceram nas fases 2, 4 e 6 de 23,7; 24,5; e 24,1 °C, respectivamente, o que pode ter contribuído para o melhor desempenho do sistema. As reações bioquímicas são influenciadas pela temperatura por meio do aumento das taxas de reações aumentando a solubilidade de compostos orgânicos, o que propicia menores tempos de detenção hidráulica. O desempenho do sistema na fase cinco pode ser atribuído à estabilidade dos microrganismos no sistema.

Como pode ser observado na Tabela 10 e Figura 33 à redução do TDH e o aumento da COV não implicaram em menores eficiências de remoção da DQO, indicando que os microrganismos presentes no reator eram capazes de processar todo o substrato recebido, exceto nas fases 1 e 3. Nas respectivas fases, a eficiência de remoção de DQO total foram 79 e 76%, a fase 1 foi a partida do sistema e nas fases 1 e 3 também foram observadas menores temperaturas de 20,1 e 20,7 °C respectivamente, além de acúmulo de sólidos nos reatores e constantes entupimentos. Nestas fases o afluente foi peneirado apenas uma vez. Na fase 1, o efluente foi peneirado apenas na peneira estática e na fase 3 apenas na peneira quadrada, a peneira estática apresentou problemas operacionais nesta fase. Após a observação do comportamento do sistema anaeróbio na fase 1 foi tomada a decisão de realizar dupla filtração em virtude ao substrato utilizado que continha muitos sólidos. A obtenção da fração líquida após o peneiramento resulta em um material mais facilmente biodegradável (Rico et al., 2011; Rico et al., 2012). A separação das frações sólida e líquida do esterco propicia um resíduo mais facilmente manejável ao processo de digestão anaeróbia, o que resulta em menores TDH quando comparado ao resíduo sem filtração (Kratky, et al., 2011).

Tabela 10. Valores médios e coeficiente de variação (C.V) da carga orgânica volumétrica (COV) aplicada, demanda química de oxigênio total, dissolvida e particulada dos afluentes e efluentes dos reatores anaeróbios e das eficiências médias de remoção obtidos durante a operação do sistema nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

		FASE I		FASE II		FASE III		FASE IV		FASE V		FASE VI		Teste
		Média	c.v %	Média	c.v %	Média	c.v %	Média	c.v %	Média	c.v %	Média	c.v %	F
TDH (h)		60	-	48	-	36	-	36	-	30	-	30	-	
COV		4,8 a	41	8,7 b	28	10,6 bc	34	11,6 cd	33	12,6 d	35	11,5 bcd	12	13,74**
DQO Total (mg L ⁻¹)	Afluente	11876 a	47	17334 c	29	15888 ab	41	17260 c	33	15710 bc	35	13198 ab	30	3,10*
	R1	4634 ab	56	3368 a	83	5622 b	78	2821 a	30	4557 ab	55	2653 a	42	3,40*
	Ef. (%)	58 a	38	79 c	17	56 a	38	82 c	8	71 bc	21	69 c	4	6,80**
	R2	2227 bc	85	2001 ab	48	2990 c	72	1927 ab	32	2066 abc	38	1848 a	58	3,36*
	Ef. (%)	48 ns	50	32 ns	17	34 ns	48	28 ns	40	45 ns	59	41 ns	34	0,55ns
	Ef. (%) R1 + R2	79 a	9	87 b	27,5	76 a	20	88 b	6	86 b	6	89 b	2	6,96**
DQO Dissolvida (mg L ⁻¹)	Afluente	2431 a	52	4994 cd	39	3553 b	52	5277 d	56	4199 bc	41	2081 a	25	11,71**
	R1	748 a	31	1296 ab	46	1175 a	38	834 a	34	1138 b	34	1007 a	29	4,48*
	Ef. (%)	61 ab	26	72 c		52 ab	87	79 bc	10	68 bc	23	52 a	22	3,37*
	R2	457 a	58	822 b	26	741 ab	32	583 ab	26	903 c	26	680 ab	41	9,38**
	Ef. (%)	44 b	60	30 a	11	28 ab	14	26 a	118	17 a	119	35 ab	38	3,37 *
	Ef. (%) R1 + R2	78 ab	18	82 b	9	73 ab	36	85 b	7	74 ab	12	69 a	14	1,94 *
DQO Particulada (mg L ⁻¹)	Afluente	7765 a	50	11785 ab	32	10602 ab	49	11983 ab	42	11739 ab	46	11169 b	17	1,51*
	R1	3709 bc	66	2173 ab	98	4447 c	94	1987 ab	61	3509 bc	73	1672 a	23	3,91*
	Ef. (%)	59 a	48	73 bc	34	52 a	82	81 bc		68 ab	36	89 c	3	5,95*
	R2	1528 bc	95	1125 ab	89	2182 c	92	1303 a	55	1189 a	66	866 a	28	4,0*
	Ef. (%)	47 ab	47	11 ab	79	31 ab	98	28 ab	58	46 b	98	25 a	76	1,16 ns
	Ef. (%) R1 + R2	81 a	12	88 bc	12	74 ab	31	87 bc	6	88 bc	10	93 c	5	5,13 *

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** p<0,01 (Significativo a 1% de probabilidade); * p<0,05 (Significativo a 5% de probabilidade); ns: p>0,05 (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

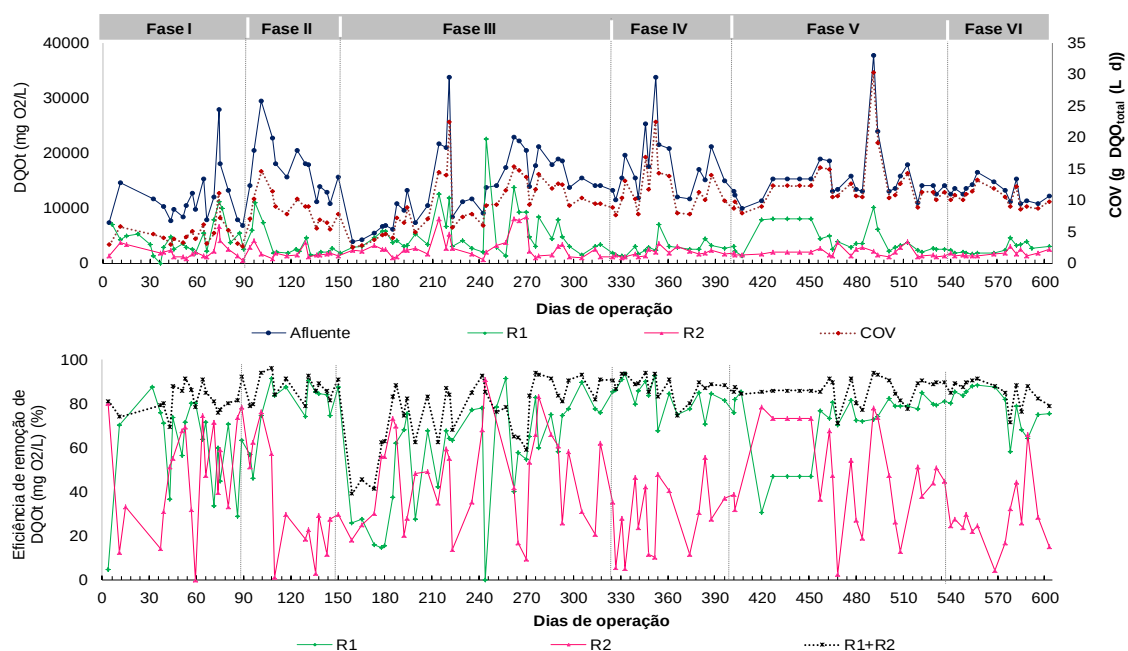


Figura 33. Valores de DQO total afluente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO total no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.

A hidrólise pode ser comprometida em situações que não existam um pré-tratamento físico em virtude da elevada concentração de material fibroso de difícil degradação. Assim, a atividade hidrolítica na digestão anaeróbia pode ser afetada e interferir nas etapas subsequentes resultando em menor produção de biogás (Zheng et al., 2014; Fan et al., 2019).

O aumento gradual da COV permitiu uma maior adaptação da biomassa nos reatores resultando em altas eficiências de remoção da matéria orgânica. Na digestão da vinhaça em reatores anaeróbios Barros et al. (2017) também observaram maior adaptabilidade dos microrganismos com aumento gradativo da COV.

García et al. (2008) obtiveram eficiência de 87% na remoção de DQO em um reator UASB após peneiramento da água residuária da bovinocultura leiteira, aplicando o TDH de 72h e uma DQO afluente de 14760 mg DQO total (L d)⁻¹. Neste estudo obteve-se a mesma eficiência na fase 2 operando com TDH de 48h e uma DQO afluente de 17334 mg DQO total (L d)⁻¹. Rico et al. (2011) utilizando poliacrilamida como agente floculante para separar as frações sólido-líquida do esterco bovino à temperatura constante de 35°C

também obtiveram 87% de remoção de DQO.

O reator R1 alcançou melhores eficiências de remoção em todas as fases quando comparada com as eficiências de remoção do R2. Na fase 4 o R1 removeu 81% de DQO total, enquanto o R2 foi responsável por 28% de remoção. Esses resultados corroboram com Botello Suárez et al. (2018) que obtiveram no R1 - 74% e no R2 - 38% de eficiência na remoção de DQO, resultando em uma eficiência global de 84%, com COV de 18,2 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e TDH de 30h tratando águas residuárias do despulpamento de café em reator UASB de dois estágios. Indicando que as remoções de DQO total não foram limitadas pelas altas COV aplicadas. O aumento da COV de 4,8 até 12,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e a redução do TDH de 60 para 30 horas não impediram os acréscimos nas remoções de DQO_{total} no sistema de tratamento anaeróbio em dois estágios (R1+R2).

Aparentemente uma maior DQO afluenta no R1 proporciona melhor resultado em R2. Esse melhor desempenho pode ser atribuído a uma maior estabilidade do R1 que possibilitou maior fração de DQO não biodegradável para o filtro aneróbio (R2). O efluente da bovinocultura leiteira apresenta compostos fibrosos de difícil degradação, sendo assim esses compostos persistem no efluente do R1 para o R2, o que reduz a degradação da matéria orgânica nesse reator gerando baixas eficiências de remoção.

O R2 foi importante para a manutenção da estabilidade do conjunto de reatores elevando a eficiência do sistema de reatores anaeróbios (R1+R2) confirmando a vantagem de aplicar o processo anaeróbio em dois estágios. O conjunto em série conseguiu remover até 89 % da DQO total.

Esses resultados corroboram com a ideia de que o R1 detém a maior parte dos sólidos em suspensão presentes no efluente. De acordo com as eficiências observadas, é provável que a remoção da matéria orgânica mais facilmente degradável aconteça no R1 favorecendo o crescimento microbiano. O R2 apresentou boas eficiências quando foram observadas baixas eficiências no reator UASB, o que evidencia a importância em trabalhar com reatores anaeróbios em série elevando a eficiência do conjunto de reatores.

Os valores médios da DQO dissolvida do afluenta corresponderam a 20; 28; 22; 30; 26 e 15 % da DQO total, e os da DQO particulada a 65; 68; 67; 69; 74 e 84% da DQO total, nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente, indicando a

predominância de sólidos suspensos orgânicos nas águas residuárias da bovinocultura leiteira (Tabela 10 e Figuras 34 e 35).



Figura 34. Valores de DQO Dissolvida afluyente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO Dissolvida no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.

O alto percentual de sólidos orgânicos nas águas residuárias da bovinocultura leiteira reafirma a ideia em trabalhar com dois reatores anaeróbios em série. O conjunto de reatores (R1 + R2) removeram 78, 82, 73, 85, 74 e 69 % de DQO dissolvida nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente (Figura 34). Para DQO particulada foram observadas remoções de 81, 88, 74, 87, 88 e 93% nas respectivas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 (Figura 35). O reator UASB operou com menores velocidades ascensionais, permitindo maior retenção de sólidos na manta de lodo, o que evidencia a maior remoção de DQO particulada na fase 6. A fração lentamente biodegradável da DQO particulada permanece mais tempo no reator para sofrer hidrólise e ser assimilada pela biomassa microbiana enquanto a fração não biodegradável permanece no lodo.

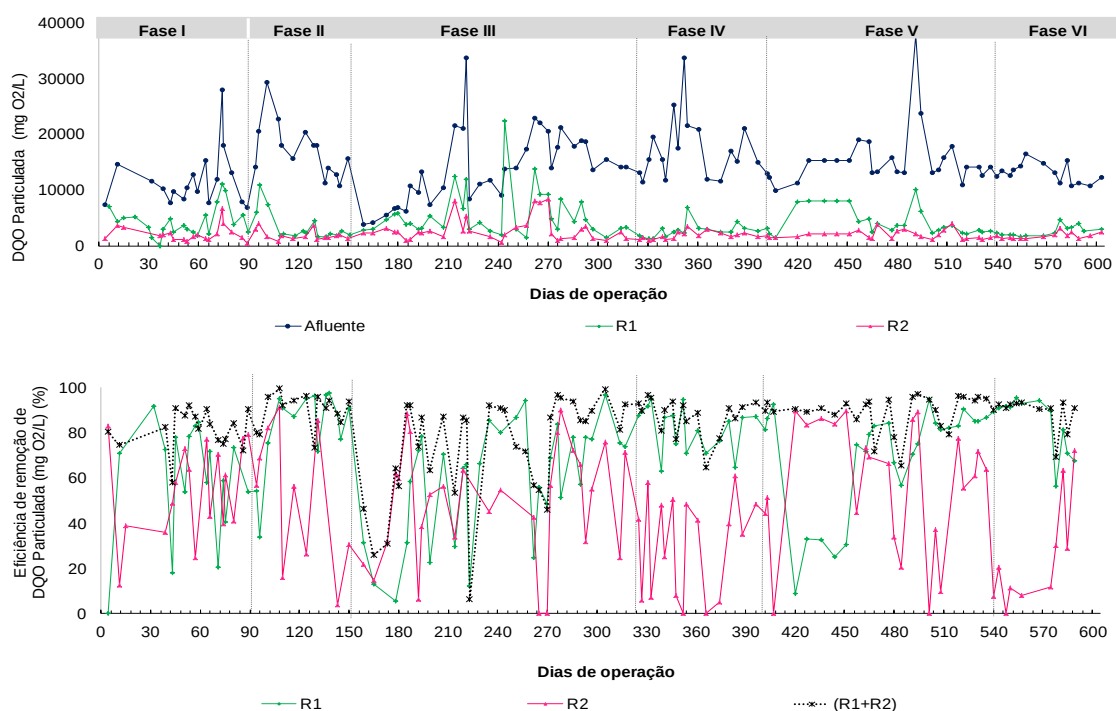


Figura 35. Valores de DQO particulada afluente e efluente dos reatores anaeróbios (R1 e R2) e eficiências de remoção de DQO particulada no R1 e R2 e no conjunto de reatores (R1+R2) durante as fases 1 a 6.

As maiores eficiências de remoção ($p < 0,05$) de DQO dissolvida foram observadas no reator UASB nas fases 2 e 4 de 72 e 79% com COV de 8,7 e 11,6 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 48 e 36h, respectivamente. A eficiência da DQO particulada foi significativa ($p < 0,05$) na fase 6 no reator UASB de 93% com COV de 11,5 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 30 h. Para o conjunto de reatores anaeróbios (R1 + R2) as maiores eficiências de DQO dissolvida ocorreram nas fases 2 e 4 de 82 e 85%, respectivamente.

Na Tabela 11 e Figuras 36, 37 e 38 estão apresentados os valores médios da demanda química de oxigênio total (DQO total), demanda química de oxigênio dissolvido (DQO dissolvida) e demanda química de oxigênio particulada (DQO particulada) do afluente, efluente e eficiências de remoção do RBS e do sistema de tratamento combinado (R1+R2+RBS), do FBP seguido de decantador e do sistema combinado (R1+R2+FBP+Dec) obtidos durante as fases 2, 4, 5 e 6.

1 Tabela 11. Valores médios de DQO total, DQO filtrada e DQO particulada nos reatores aeróbios RBS, FBP, Dec. nas fases 2, 4, 5
2 e 6.

		Fase II		Fase IV		Fase V		Fase VI		Teste
		Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	Média	c.v. %	F
DQO Total (mg L ⁻¹)	RBS	1603 a	45	-	-	-	-	943 b	10	11,40*
	Ef. (%)	27 a	55	-	-	-	-	49 b	39	18,55**
	FBP	-	-	957 a	32	1305 b	26	-	-	11,47 *
	Ef. (%)	-	-	48 a	-	32 b	20	-	-	4,25*
	Dec	-	-	830 b	36	1082 a	19	-	-	9,99*
	Ef. (%)	-	-	13 ns	29	15 ns	59	-	-	0,42 ns
Ef. (%) sistema (anaeróbio + aeróbio)		90 ns	27	95 ns	3	92 ns	17	94 ns	2	18,48 ns
DQO Dissolvida (mg L ⁻¹)	RBS	625 a	33	-	-	-	-	484 b	20	4,81 *
	Ef. (%)	15 a	28	-	-	-	-	25 b	59	17,78*
	FBP	-	-	318 a	28	770 b	20	-	-	51,05**
	Ef. (%)	-	-	51 a	50	14 b	42	-	-	10,0*
	Dec	-	-	214 a	88	624 b	36	-	-	40,59**
	Ef. (%)	-	-	44 ns	61	20 ns	18	-	-	9,29*
Ef. (%) sistema (anaeróbio + aeróbio)		85 bc	8	93 c	12	81 abc	19	70 a	14	2,22*
DQO Particulada (mg L ⁻¹)	RBS	920 a	68	-	-	-	-	453 b	23	11,54*
	Ef. (%)	11 b	41	-	-	-	-	66 a	-	4,17*
	FBP	-	-	607 ns	63	543 ns	65	-	-	0,7 ns
	Ef. (%)	-	-	50ns	1	45 ns	1	-	-	0,4 ns
	Dec	-	-	589 ns	56	375 ns	65	-	-	0,03 ns
	Ef. (%)	-	-	14 ns	13	43 ns	1	-	-	0,6 ns
Ef. (%) sistema (anaeróbio + aeróbio)		92 b	6	95 a	2	96 a	1	97a	1	2,79*

14 Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** p<0,01 (Significativo a 1% de probabilidade); * p<0,05 (Significativo a
15 5% de probabilidade); ns: p>0,05 (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

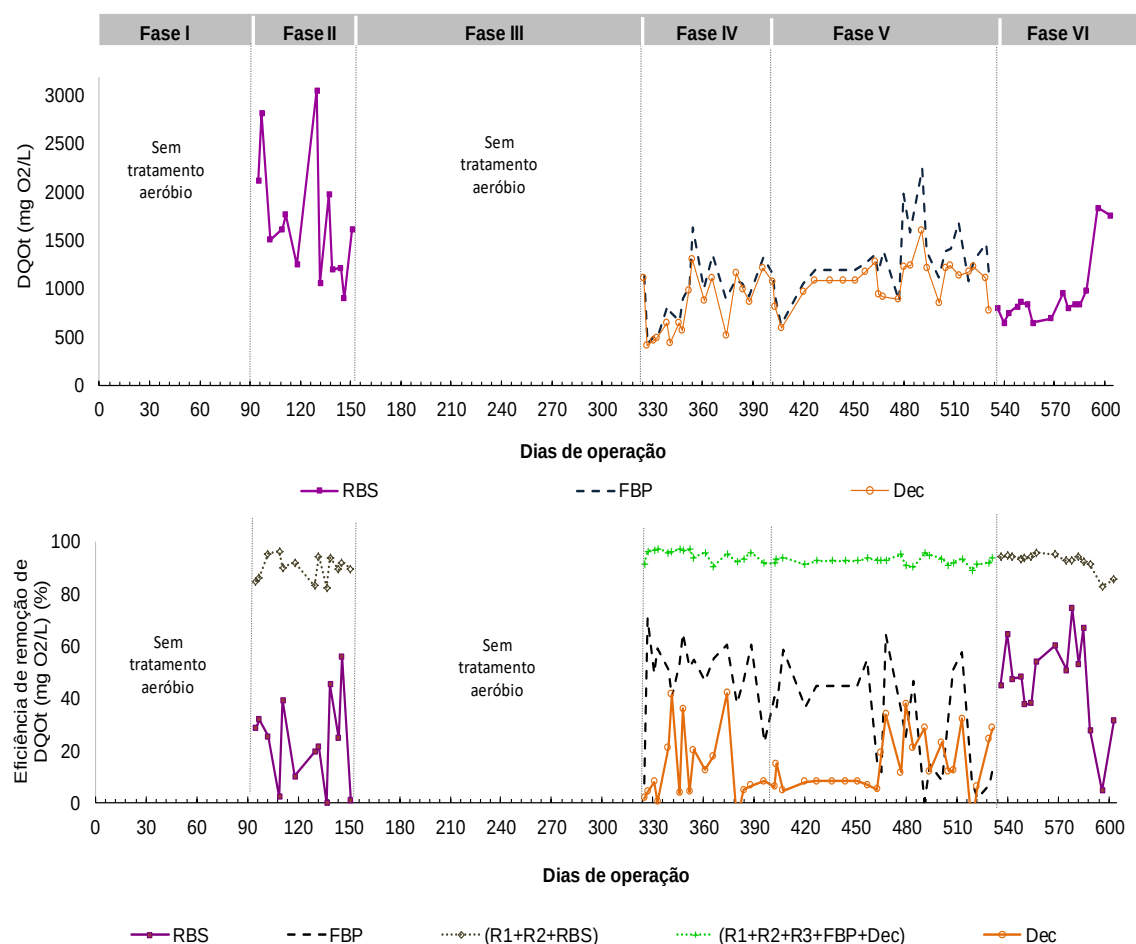


Figura 36. Valores de DQO total afluente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP seguido de Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+R3+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.

A DQO total afluente do RBS teve valores médios de 1603 e 943 mg L⁻¹ ($p > 0,05$) e COV de 0,9 e 1,6 (DQO total (L d)⁻¹) nas fases 2 e 6, respectivamente. Os valores médios de DQO total do FBP e Dec. nas fases 4 e 5 foram de 957, 830 e 1305 e 1082 mg L⁻¹ ($p > 0,05$), respectivamente. A COV aplicada ao FBP foi de 1,9 e 2,6 (DQO total (L d)⁻¹) nas fases 4 e 5, respectivamente.

Com a adição do pós-tratamento aeróbio o sistema combinado (R1+R2+RBS) obtiveram 90 e 94% de eficiência de remoção para DQO total nas fases 2 e 6, respectivamente (Figura 36 e Tabela 11).

Mesmo com o aumento da COV de 8,7 para 11,5 g (DQOtotal (L d)⁻¹) e TDH de 48 e 30 horas durante as fases 2 e 6 respectivamente, as eficiências

de remoção para DQO total não diferiram significativamente ($p>0,05$) (Tabela 11).

A concentração média de DQO dissolvida no RBS foi de 625 e 485 mg L⁻¹ para as fases 2 e 6 respectivamente (Tabela 11 e Figura 37). A alteração na carga de alimentação do sistema resultou em diferença significativa ($p>0,05$) no efluente do RBS. Os efluentes do FBP também apresentaram diferença estatística ($p>0,05$) para as fases 4 e 5 de 318 e 770 mg L⁻¹ respectivamente. No lodo aeróbio acontecem reações aeróbias, anaeróbias e anóxicas permitindo a remoção de matéria orgânica e nutriente de forma simultânea por meio das microzonas formadas na estrutura do lodo (Gao et al., 2011; Show et al., 2012).

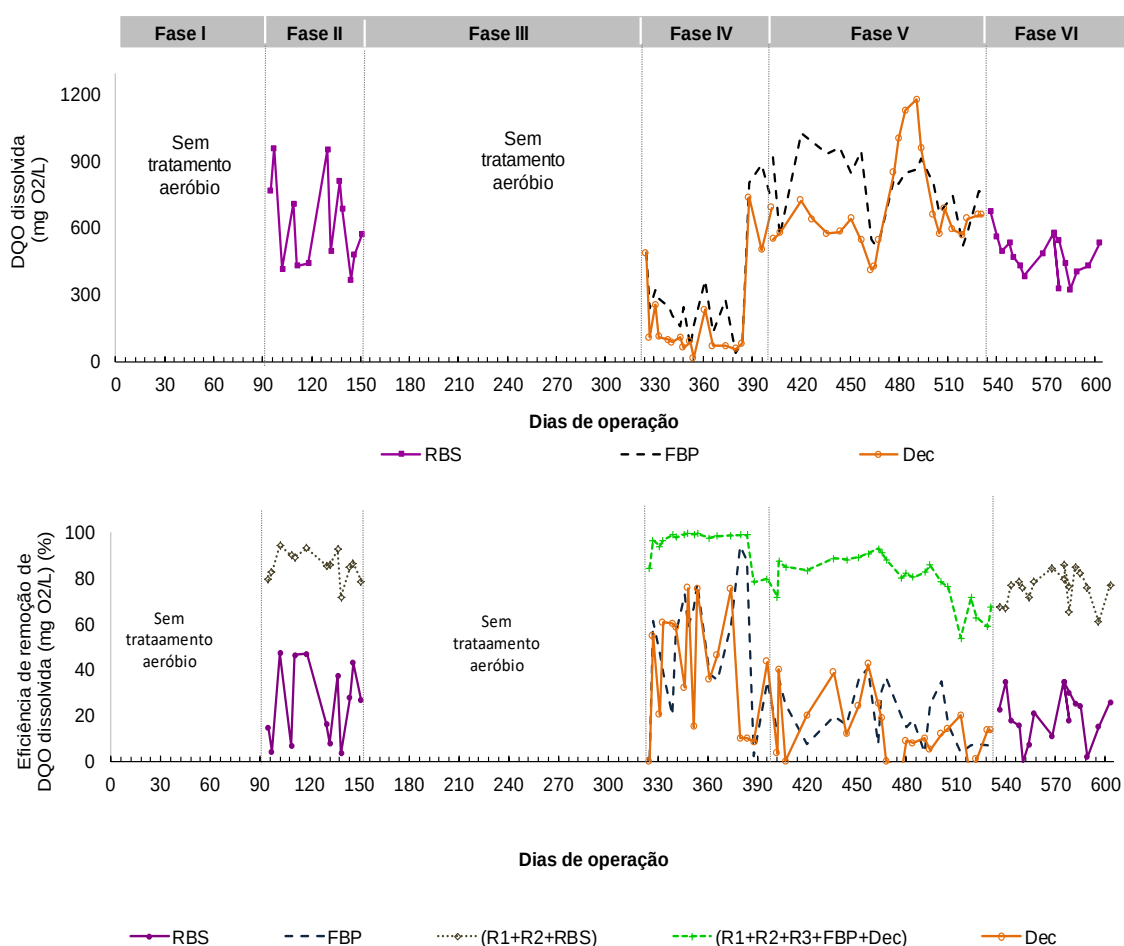


Figura 37. Valores de DQO dissolvida afluente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP seguido de Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.

As eficiências de DQO dissolvida nas fases 2 e 6 para o RBS e nas fases 4 e 5 para o FBP foram de 15, 25, 51 e 14% respectivamente, e diferiram entre si. Nas fases de menor carga orgânica, fase 2 com carga orgânica de 8,7 g (DQO_{total} (L d)⁻¹) significativamente mais baixa ($p < 0,05$) que a fase 6 de 11,5 g (DQO_{total} (L d)⁻¹) e na fase 4 com carga orgânica de 11,6 g (DQO_{total} (L d)⁻¹) significativamente mais baixa que a fase 5 de 12,6 g (DQO_{total} (L d)⁻¹) ocorreram as maiores eficiências de remoção para DQO dissolvida no sistema.

A eficiência de remoção de DOQ total ($p < 0,01$) observada no RBS foi de 27 e 49% nas fases 2 e 6 respectivamente. Para a DQO particulada foram observadas remoções de 11 e 66% ($p < 0,05$) nas mesmas fases (Tabela 11 e Figura 38). A maior fração da DQO dissolvida foi removida no tratamento anaeróbio, o que evidencia a assimilação da fração dissolvida pelos microrganismos.

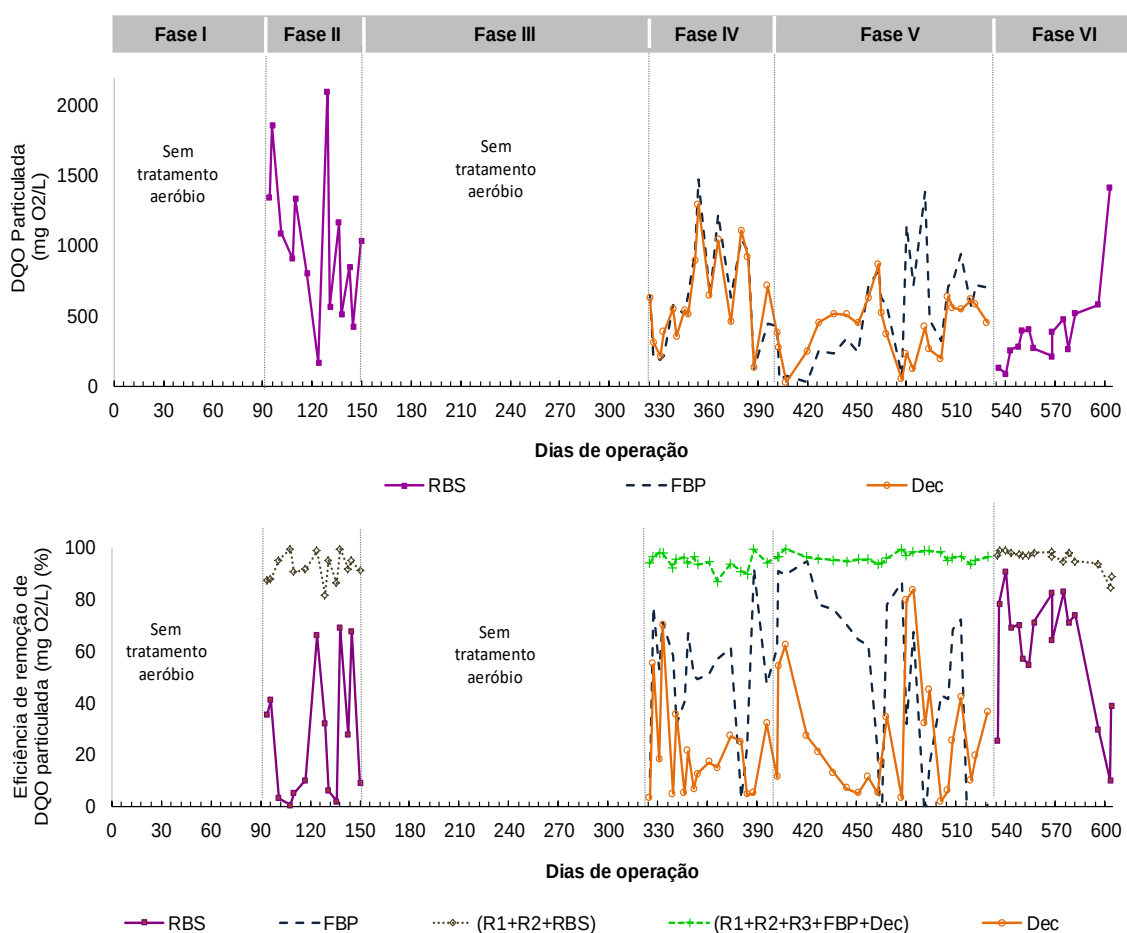


Figura 38. Valores de DQO particulada afluyente e efluente dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiências de remoção no RBS, FBP,

Dec. e no conjunto de reatores (R1+R2+RBS) e (R1+R2+FBP+Dec.) durante as fases 2, 4, 5 e 6.

As eficiências médias observadas no sistema combinado (R1+R2+FBP+Dec) para as fases 4 e 5 foram de 95 e 92% respectivamente, ($p > 0,05$) para DQO total. A redução do TDH e o aumento da COV não implicaram em menores eficiências de remoção nas fases 2, 4, 5 e 6 com o pós-tratamento aeróbio para DQO total. A análise ANOVA não apresentou diferença estatística para eficiência de remoção de DQO total entre as fases, mas foi estatisticamente diferente para as eficiências de remoção de DQO dissolvida e DQO particulada no conjunto anaeróbio + aeróbio nas fases 2, 4, 5 e 6 (Tabela 11 e Figuras 37 e 38). A fase 5, fase de maior COV 12,6 g (DQO_{total} (L d)⁻¹) e menor TDH 30 horas, foi observada satisfatória eficiência de remoção para DQO, superior a 90% para DQO total e particulada e superior a 80% de DQO dissolvida.

Reduzir o TDH sem déficit na eficiência de remoção é considerado um aspecto positivo nos sistemas de tratamento, permite a remoção de maior concentração de matéria orgânica em menores TDH, que devem ser otimizados para equilibrar benefícios e deficiências, entretanto, o aumento da carga orgânica volumétrica deve ser monitorado para não impactar negativamente o sistema.

6.4 Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV)

As concentrações de SSV e SST de cada reator nas diferentes fases são mostradas na Tabela 12. Os respectivos valores médios de SST e SSV no afluente variaram de 6026 a 10177 mg L⁻¹ e de 5339 a 9928 mg L⁻¹, nas fases 1 a 6 respectivamente. As maiores ($p < 0,05$) concentrações de SST e SSV no afluente foram observadas na fase 4 e os menores valores ocorreram na fase 1 ($p < 0,05$) (Tabela 12). As variações desse parâmetro estão apresentadas nas Figuras 39, 40, 41 e 42.

Tabela 12. Valores médios de SST, SSV e eficiências de remoção dos afluentes e efluentes dos reatores anaeróbios UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.

		Fases												Teste F
		I	(cv %)	II	(cv %)	III	(cv%)	IV	(cv %)	V	(cv %)	VI	(cv %)	
SST (mg L ⁻¹)	Afluente	6026 ^c	38	9138 ^{bc}	29	9347 ^{bc}	59	10177 ^a	46	8305 ^{ab}	27	8059 ^b	36	5,77*
	R1	2414 ^{ab}	61	2521 ^{ab}	50	3012 ^a	49	1931 ^b	55	3286 ^a	52	2559	23	2,24 *
	Ef (%)	59 ^b	43	70 ^{ab}	10	65 ^{ab}	47	79 ^a	18	61 ^b	44	66 ^{ab}	14	2,60 *
	R2	1570 ^{ns}	53	1775 ^{ns}	48	1695 ^{ns}	73	1209 ^{ns}	40	1562 ^{ns}	57	1785	30	1,08 ^{ns}
	Ef (%)	38 ^{ab}	56	29 ^b	40	46 ^a	50	47 ^a	36	54 ^a	49	28 ^b	39	3,14 *
	(%) R1 + R2	70 ^b	41	83 ^{ab}	8	78 ^{ab}	24	89 ^a	7	78 ^{ab}	31	76 ^{ab}	12	1,98 *
SSV (mg L ⁻¹)	Afluente	5339 ^c	36	8741 ^{ab}	28	9128 ^a	63	9928 ^a	46	8005 ^{ab}	29	7086 ^{cb}	41	7,64 **
	R1	2281 ^{ab}	65	2434 ^{ab}	52	2884 ^{ab}	52	1845 ^b	58	3112 ^a	52	2140	32	2,21 *
	Ef (%)	67 ^b	50	70 ^{ab}	10	65 ^{ab}	38	79 ^a	18	58 ^b	45	68 ^{ab}	15	2,14 *
	R2	1502 ^{ns}	56	1700 ^{ns}	49	1595 ^{ns}	35	910 ^{ns}	44	1441 ^{ns}	39	1619	41	1,13 ^{ns}
	Ef (%)	34 ^{bc}	23	29 ^c	40	47 ^{ab}	43	50 ^{ab}	31	55 ^a	49	30 ^b	48	3,73 *
	(%) R1 + R2	69 ^b	43	82 ^{ab}	8	79 ^{ab}	22	89 ^a	6	82 ^{ab}	19	79 ^{ab}	10	2,36*

1 Letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%, (ns) não significativo no nível de 5% de probabilidade. SST: Sólido suspenso total,

2 SSV: Sólido suspenso volátil.

3

4

As relações SSV/SST no afluente foram de 0,88; 0,95; 0,97; 0,97; 0,96 e 0,87 nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente, indicando a presença de maior fração orgânica e baixos valores de sólidos suspensos fixos (SSF) no afluente ($p < 0,05$).

Os valores médios de SSV não diferiram significativamente no afluente durante as fases 2, 4, 5 e 6 e corresponderam a 96, 96, 97, 96 e 87% dos valores médios de SST nas respectivas fases.

Os resultados encontrados demonstraram que a água residuária da bovinocultura leiteira contém predominantemente material orgânico nos sólidos suspensos. O efluente do (R1) reator UASB apresentou concentrações médias de SST de 2414; 2521; 3012; 1931; 3286 e 2559 mg L^{-1} nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 (Tabela 12 e Figura 39) e concentrações de SSV de 2281; 2434; 2884; 1845; 3112 e 2140 para as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente (Tabela 12 e Figura 41).

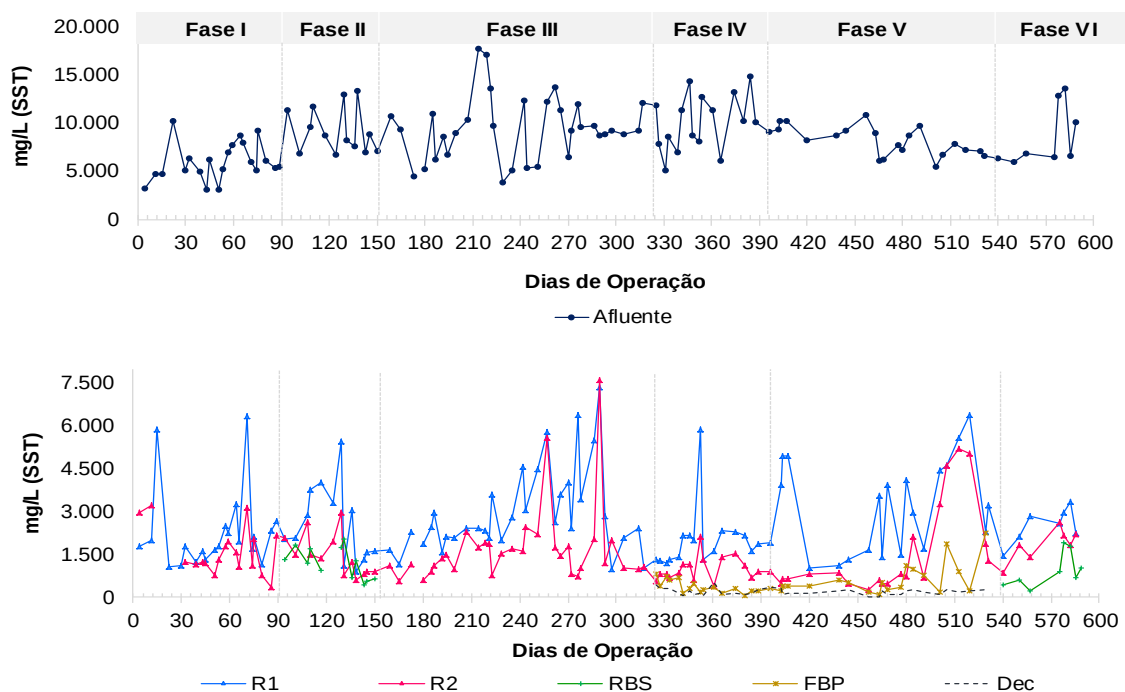


Figura 39. Valores médios de SST afluente e efluente dos reatores anaeróbios, UASB e filtro anaeróbio e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador (Dec.).

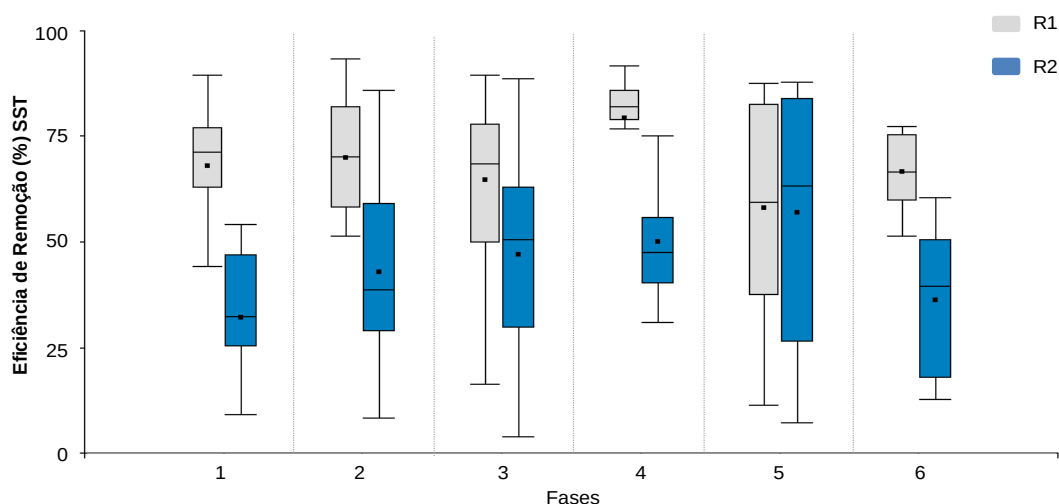


Figura 40: Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SST dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) durante os ensaios 1 a 6.

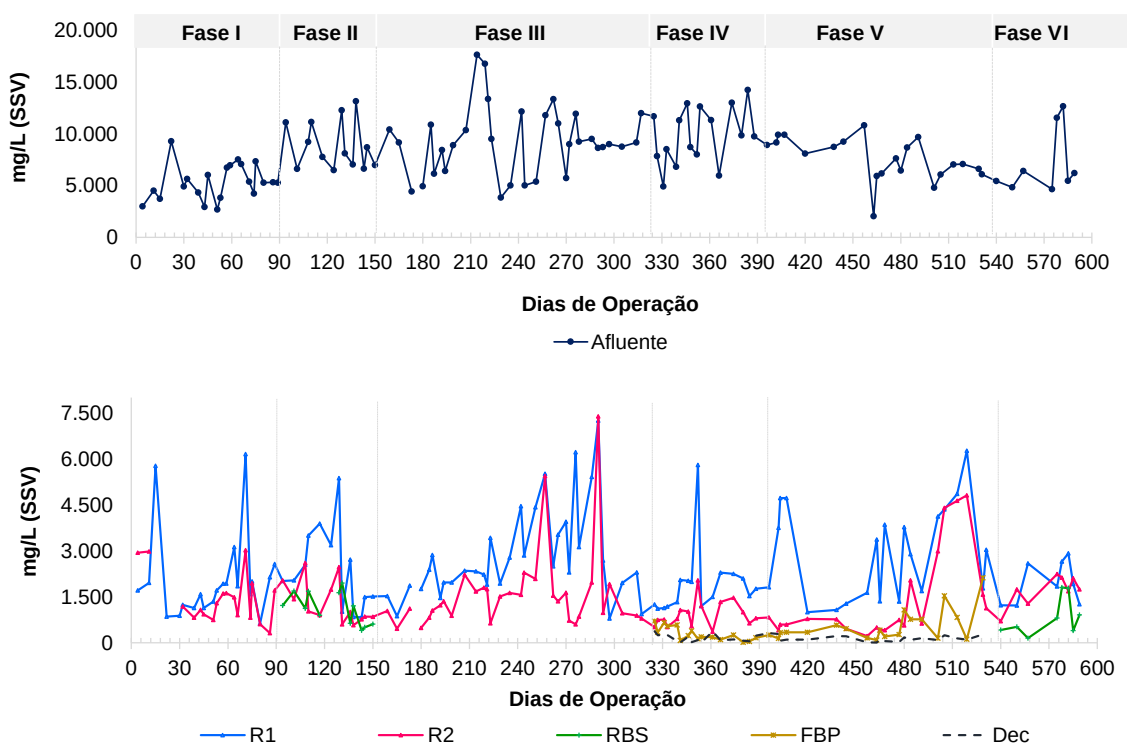


Figura 41. Valores médios de SSV afluente e efluente dos reatores anaeróbios, UASB e filtro anaeróbio e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador (Dec.).

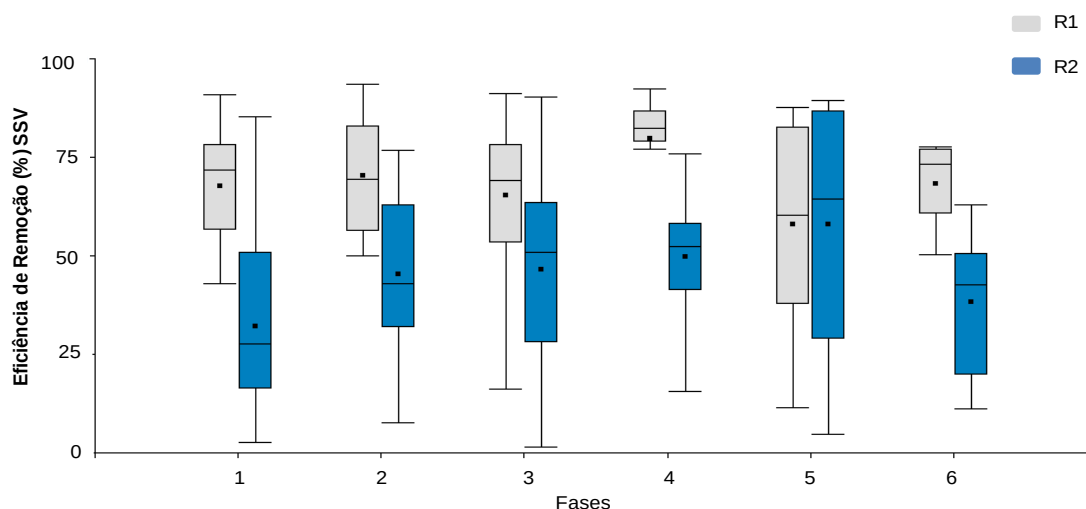


Figura 42: Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SSV dos reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) durante os ensaios 1 a 6.

Em todas as fases foram observadas remoções acentuadas no R1 (Tabela 12 e Figura 43). A retenção de sólidos suspensos na fase 4 foi superior as demais fases. Esse fato pode estar relacionado ao período de adaptação do lodo evidenciando equilíbrio da biomassa ativa no reator UASB.

As eficiências médias de remoção de SST no R1, nos ensaios 1, 2, 3, 4, 5 e 6 foram respectivamente de 59, 70, 65, 79, 58 e 66%, e de 67, 70, 65, 79, 58 e 68% para SSV.

No efluente do filtro anaeróbio (R2) as concentrações médias de SST e SSV foram de 1570; 1775; 1695; 1209; 1562 e 1785 mg L⁻¹ e de 1502; 1700; 1595; 910; 1441 e 1619 mg L⁻¹ (Tabela 12), nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente e não diferiram significativamente ($p < 0,05$). As eficiências médias de remoção no R2 foram inferiores as eficiências observadas no R1 em todas as fases, o que corrobora com a ideia de que o material de difícil degradação foi encaminhado para o R2. A utilização dos reatores em série elevou as eficiências de remoção em todas as fases (Figura 43 e 44).

O conjunto de reatores anaeróbios (R1+R2) removeu 70, 83, 89, 78, 82 e 76% de SST e 69, 82, 79, 89, 82 e 79 de SSV nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. A fase 4 se destaca na remoção de sólidos suspensos ($p < 0,05$) com COV aplicada de 11, 6 g DQO total (L d)⁻¹, TDH de 36 horas e temperatura média do ar de 24,4 °C. A elevada remoção de sólidos observada nesta fase pode estar relacionada à maior temperatura média do ar registrada

durante o tratamento e a maior adaptabilidade da biomassa nos reatores anaeróbios.

Maior TDH e temperatura permitem maior solubilização dos compostos orgânicos suspensos (Oliveira e Foresti, 2004). Baixas temperaturas afetam o grau de dissociação dos compostos orgânicos e a velocidade das reações, o que leva a menores eficiências de remoção e acumulação de sólidos suspensos na camada de lodo (Chong et al., 2012; Bialek et al., 2012).

Em todas as fases experimentais mais de 55% da DQO consistiu em sólidos suspensos, o que demonstra a importância da hidrólise neste estudo. A hidrólise pode ser considerada limitante no processo, responsável pelo fornecimento de material dissolvido para as etapas subsequentes da digestão anaeróbia.

Vila-Montoya et al. (2017) trabalharam com dois reatores UASB em série no tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira e obtiveram remoções de 74% para SST e 78% para SSV. Os reatores operaram com COV de 6,2 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 12 dias. Os autores observaram redução na eficiência de remoção de SST, ao aumentar a carga para 14,2 g DQO total (L d)⁻¹ e reduzir o TDH para 7,5 dias.

No referido estudo a maior carga trabalhada foi de 12,6 g DQO total (L d)⁻¹ e o menor TDH foi de 30 horas. Nestas condições a eficiência alcançada foi de 78 e 82 % para SST e SSV. Com COV de 4,8 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 60 horas. As eficiências observadas foram de 70 e 69% para SST e SSV respectivamente. O que implica dizer que o aumento gradativo da COV e redução do TDH propiciaram condições de estabilidade operacional de acordo com as elevadas remoções de matéria orgânica alcançada durante o experimento.

Com a inclusão do sistema de pós-tratamento, as concentrações médias de SST e SSV foram reduzidas para 1191; 1128, 1016 e 907 mg L⁻¹ nas fases 2 e 6, respectivamente (Figuras 43 e 44). As concentrações de SST e SSV no filtro biológico percolador foram de 447 e 375 na fase 4 e de 657 e 584 mg L⁻¹ na fase 5, respectivamente (Tabela 13). Para o decantador secundário os valores observados foram de 211 e 167 mg L⁻¹ para SST e 163 e 121 mg L⁻¹ para SSV nas fases 4 e 5 respectivamente sem diferenças significativas.

A remoção de sólidos no RBS não atingiu 50% de eficiência em nenhuma das fases experimentais (Tabela 13), já o decantador secundário removeu 53 e 68% de SST e 62 e 73% de SSV nas fases 4 e 5 respectivamente. A associação do (FBP + Dec) removeram 75 e 83% de SST e 78 e 86% de SSV nas fases 4 e 5, respectivamente (Figuras 43 e 44).

A utilização do pós-tratamento aeróbio contribuiu para elevar as eficiências de remoção de SST e SSV, o conjunto de reatores (R1 + R2 + RBS) removeram 88% de SST e 88 e 87% de SSV nas fases 2 e 6 respectivamente. Já o conjunto (R1 + R2 + FBP + Dec.) nas fases 4 e 5 removeram 98% de SST e 98 e 97% de SSV respectivamente (Tabela 13 e Figuras 43 e 44). O que comprova a eficácia do sistema de tratamento na redução das concentrações de SST e SSV operando com COV de 11,6 e 12,6 g DQO (L d⁻¹) e TDH de 36 e 30 h respectivamente.

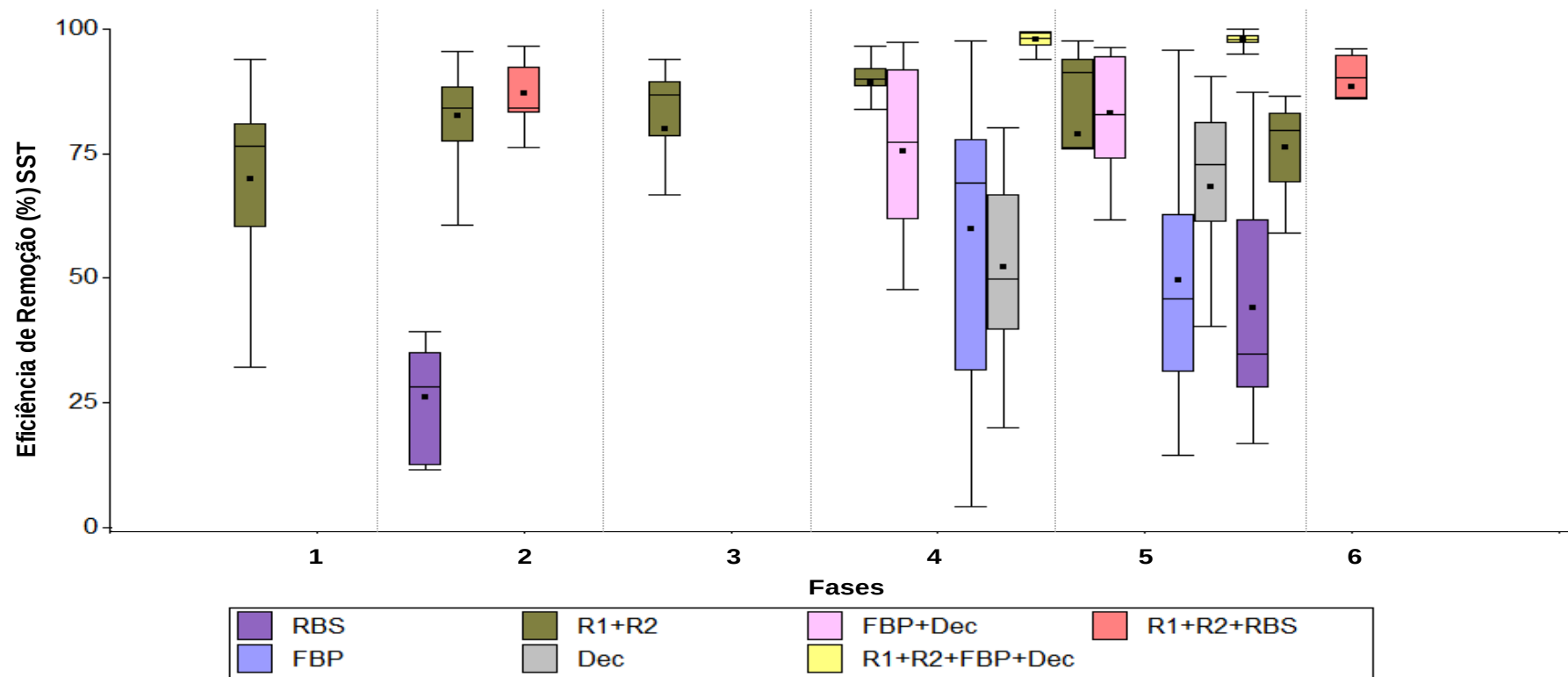


Figura 43. Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SST do conjunto de reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS), filtro biológico percolador seguido de decantador e as eficiências globais durante os ensaios 1 a 6.

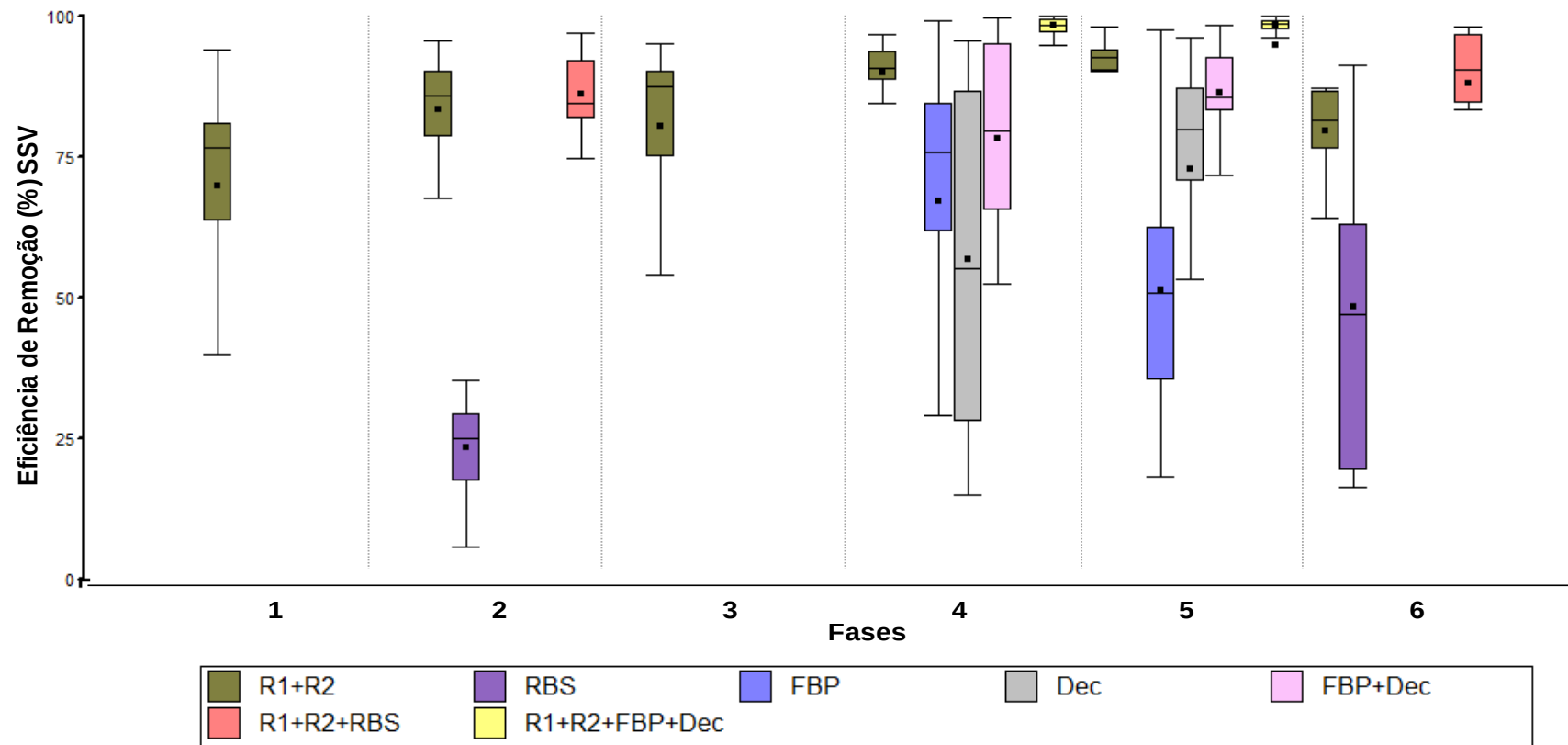


Figura 44. Gráfico Box Plot. Eficiência de remoção de SSV do conjunto de reatores anaeróbios, UASB (R1) e Filtro Anaeróbio (R2) e dos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS), filtro biológico percolador seguido de decantador e as eficiências globais durante os ensaios 1 a 6.

1 Tabela 13. Valores médios de SST, SSV e eficiências de remoção dos afluentes e efluentes dos reatores aeróbios reator
 2 operado em batelada sequencial (RBS), Filtro biológico percolador (FBP) e Decantador secundário durante as fases 1 a 6.

		Fases								Teste F
		II	(cv %)	IV	(cv %)	V	(cv %)	VI	(cv %)	
SST (mg L ⁻¹)	RBS	1191	46	-	-	-	-	1016	20	1,91*
	Ef (%)	29	34	-	-	-	-	44	56	
	FBP	-	-	447 ^{ns}	48	657 ^{ns}	65	-	-	3,44 ^{ns}
	Ef (%)	-	-	49	54	44	50			
	Dec	-	-	211 ^{ns}	64	163 ^{ns}	69	-	-	0,82 ^{ns}
	Ef (%)			53	40	68	30			
	(%) FBP + Dec	-	-	75 ^{ns}	20	83 ^{ns}	13	-	-	2,77 ^{ns}
	Eficiência Sistema	88 ^{ab}	4	98 ^a	2	98 ^a	2	87 ^{ab}	10	9,90**
SSV (mg L ⁻¹)	RBS	1128	47	-	-	-	-	907	57	2,48*
	Ef (%)	30	32	-	-	-	-	44	65	
	FBP	-	-	375 ^{ns}	54	584 ^{ns}	62	-	-	3,27 ^{ns}
	Ef (%)	-	-	55	59	45	52	-	-	
	Dec	-	-	167 ^{ns}	70	121 ^{ns}	59	-	-	0,89 ^{ns}
	Ef (%)	-	-	62	34	73	29	-	-	
	(%) FBP + Dec	-	-	78 ^{ns}	21	86 ^{ns}	10			3,51*
	Eficiência Sistema	88 ^{ab}		98 ^a		97 ^a		88 ^{ab}		10,00**

16 Letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%, (ns) não significativo no nível de 5% de probabilidade. SST: Sólido suspenso
 17 total, SSV: Sólido suspenso volátil.

6.5 Sólidos totais e voláteis do lodo

Nas Tabelas 14 e 15 estão apresentados os valores médios das concentrações de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) do lodo dos reatores anaeróbios ao longo da manta de lodo do reator UASB (R1) e do lodo intersticial ao longo do leito fixo do filtro anaeróbio (R2), obtidos das amostras retiradas nos pontos de coleta, F1, P1, P2, P3 e P4 do R1 e F2, P5, P6, P7, P8 e P9 do R2.

No R1 e no R2 os valores de sólidos (ST e SV) de lodo diminuíram da base para o topo da manta de lodo. Pode se observar que houve diferença significativa entre as fases com os menores valores médios na fase 1 e os maiores valores na fase 6. As concentrações médias dos sólidos totais (ST) do lodo no R1, F1 variaram de 21,9 a 86,1 g L⁻¹; P1 de 19,1 a 47,5 g L⁻¹; P2 de 16,5 a 24,9 g L⁻¹, P3 de 13,7 a 45, g L⁻¹ e P4 de 7,6 a 37,6 g L⁻¹, já as concentrações de SV no R1 variaram de 16,7 a 62,3 g L⁻¹, P1 de 16,0 a 39,4 g L⁻¹, P2 de 13,4 a 34,3 g L⁻¹, P3 de 11,6 a 37,4 g L⁻¹ e P4 de 5,8 a 30,5 g L⁻¹ ($p < 0,01$), da base do reator (F1) até a região superior (P4) nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente.

Os valores médios de (ST) observados no lodo do Filtro anaeróbio (R2) variaram de 18,9 a 53,9 g L⁻¹ no F2, 15,2 a 39,3 g L⁻¹ no P5, 15,4 a 37,7 g L⁻¹ no P6, 12,7 a 50 g L⁻¹ no P7, 14,1 a 36,7 g L⁻¹ no P8 e 6,6 a 37,2 g L⁻¹ no P9 ($p < 0,01$), os valores médios de SV variaram de 15,6 a 41,0 g L⁻¹ no F2, 13,0 a 30,7 g L⁻¹ no P5, 12,9 a 29,1 g L⁻¹ no P6, 10,4 a 40,3 g L⁻¹ no P7, 11,0 a 29,7 g L⁻¹ no P8 e 66 a 37,2 g L⁻¹ no P9 ($p < 0,01$), da base do reator (F2) até a região superior (P9) nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente.

As maiores concentrações de SV foram observados no lodo das camadas inferiores no (R1) e (R2), em virtude da estratificação proporcionada pela mistura proveniente do fluxo ascendente e da produção de biogás (Figura 45).

Os valores de SV aumentaram significativamente ($p < 0,01$) durante a operação dos reatores anaeróbios R1 e R2 nas fases 1 a 6 em decorrência do aumento da COV e pelo crescimento contínuo da biomassa microbiana e pela retenção de SSV do afluente (Figura 45).

1 Tabela 14. Valores médios e coeficientes de variação (c.v.) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em g L⁻¹,
 2 e da relação SV/ST do lodo da manta do reator UASB (R1) durante a operação do sistema de tratamento anaeróbio nas fases
 3 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Parâmetros		Fases												Teste F
		1	c.v	2	c.v	3	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
F1	ST	21,9 ^e	10	32,0 ^{de}	25	39,8 ^d	23	55,2 ^c	26	86,1 ^a	22	70,4 ^b	6	30,6 ^{**}
	SV	16,7 ^e	15	25,9 ^{de}	28	33,3 ^{bd}	29	43,8 ^{bc}	26	62,3 ^a	22	54 ^{ab}	3	22,6 ^{**}
	SV/ST	0,75	-	0,81	-	0,84	-	0,79	-	0,72	-	0,77	-	-
P1	ST	19,1 ^c	25	22,7 ^c	5	24,0 ^c	12	37,0 ^b	28	43,7 ^a	11	47,5 ^a	30	16,8 ^{**}
	SV	16 ^c	31	20,1 ^c	28	20,1 ^c	13	28,8 ^b	34	35,2 ^b	15	39,4 ^a	30	12,8 ^{**}
	SV/ST	0,84	-	0,88	-	0,83	-	0,78	-	0,81	-	0,83	-	-
P2	ST	16,5 ^b	26	21,4 ^b	20	19,7 ^b	30	37,1 ^a	33	42,9 ^a	20	38,2 ^a	28	14,1 ^{**}
	SV	13,4 ^b	33	17,9 ^b	25	15,2 ^b	33	30,1 ^a	31	34,4 ^a	24	32,0 ^a	26	12,1 ^{**}
	SV/ST	0,78	-	0,84	-	0,77	-	0,81	-	0,80	-	0,83	-	-
P3	ST	13,7 ^c	35	15,9 ^c	9	17,3 ^c	33	29,8 ^b	35	45,5 ^c	24	40,5 ^c	33	16,6 ^{**}
	SV	11,6 ^c	39	13,1 ^c	12	15 ^c	35	22,8 ^b	36	37,4 ^a	25	33,1 ^a	28	15,1 ^{**}
	SV/ST	0,84	-	0,82	-	0,87	-	0,76	-	0,82	-	0,82	-	-
P4	ST	7,6 ^b	20	9,4	8	9,3 ^b	32	33,0 ^a	21	37,6 ^a	32	37,1 ^a	32	28,4 ^{**}
	SV	5,8 ^c	26	7,5 ^c	19	7,4 ^c	21	27,0 ^b	23	30,5 ^{ba}	38	29,6 ^a	31	22,9 ^{**}
	SV/ST	0,77	-	0,80	-	0,80	-	0,82	-	0,81	-	0,80	-	-

4 F1- (Base do reator UASB) – P1 – ponto 1; P2 – ponto 2; P3 – ponto 3; P4 – Ponto 4; P5 – ponto 5 (superior). Letras minúsculas
 5 diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de
 6 probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

Tabela 15. Valores médios e coeficientes de variação (c.v.) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em g L⁻¹, e da relação SV/ST do lodo da manta do Filtro anaeróbio (R2) durante a operação do sistema de tratamento anaeróbio nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Parâmetros		Fases												Teste F
		1	c.v	2	c.v	3	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
F2	ST	18,2 ^b	11	26,3 ^b	23	23,1 ^b	26	51,2 ^a	27	53,9 ^a	47	49,5 ^a	39	11,1 ^{**}
	SV	15,6 ^b		19,6 ^b	38	19,0 ^b	27	39 ^a	25	41,0 ^a	42	38,6 ^a	31	9,6 ^{**}
	SV/ST	0,85		0,75		0,82		0,76		0,76		0,78		
P5	ST	15,2 ^b	35	23,0 ^b	2	19,5 ^b	21	38,4 ^a	29	39,3 ^a	23	38,6 ^a	29	15,0 ^{**}
	SV	13,0 ^b	40	18,1 ^b	23	16,0 ^b	24	29,8 ^a	24	29,3 ^a	26	30,7 ^a	30	12,1 ^{**}
	SV/ST	0,85		0,78		0,82		0,78		0,75		0,80		
P6	ST	15,4 ^b	32	21,8 ^b	23	21,4 ^b	13	37,6 ^a	26	37,7 ^a	25	34,8 ^a	33	13,1 ^{**}
	SV	12,9 ^b	36	17,2 ^b	27	17,5 ^b	18	29,1 ^a	24	29,1 ^a	26	27,2 ^a	33	10,6 ^{**}
	SV/ST	0,83		0,79		0,82		0,77		0,77		0,78		
P7	ST	12,7 ^b	23	21,9 ^b	22	20,6 ^b	25	38,0 ^a	31	40,7 ^a	25	50,0 ^a	43	11,6 ^{**}
	SV	10,4 ^b	31	16,7 ^b	29	17,1 ^b	24	29,7 ^a	33	31,8 ^a	28	40,3 ^a	38	9,5 ^{**}
	SV/ST	0,81		0,76		0,83		0,78		0,78		0,80		
P8	ST	14,1 ^c	22	14,7 ^c	44	15,7 ^c	33	28,2 ^b	30	36,4 ^a	23	36,7 ^a	27	15,8 ^{**}
	SV	11,4 ^b	27	11,0 ^b	39	12,2 ^b	27	22,6 ^c	30	29,5 ^a	24	29,7 ^a	28	15,1 ^{**}
	SV/ST	0,80		0,75		0,77		0,80		0,81		0,81		
P9	ST	6,6 ^c	36	11,1 ^c	24	8,5 ^c	38	23,7 ^b	23	23,0 ^b	34	37,2 ^a	43	13,9 ^{**}
	SV	4,9 ^c	38	7,7 ^c	32	7,0 ^c	35	19,2 ^b	36	18,9 ^b		31,7 ^a	45	12,9 ^{**}
	SV/ST	0,75		0,69		0,83		0,81		0,81		0,85		

F2- (Base do filtro anaeróbio) – P5 – ponto 5; P6 – ponto 6; P7 – ponto 7; P8 – Ponto 8; P9 – ponto 9 (superior). Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

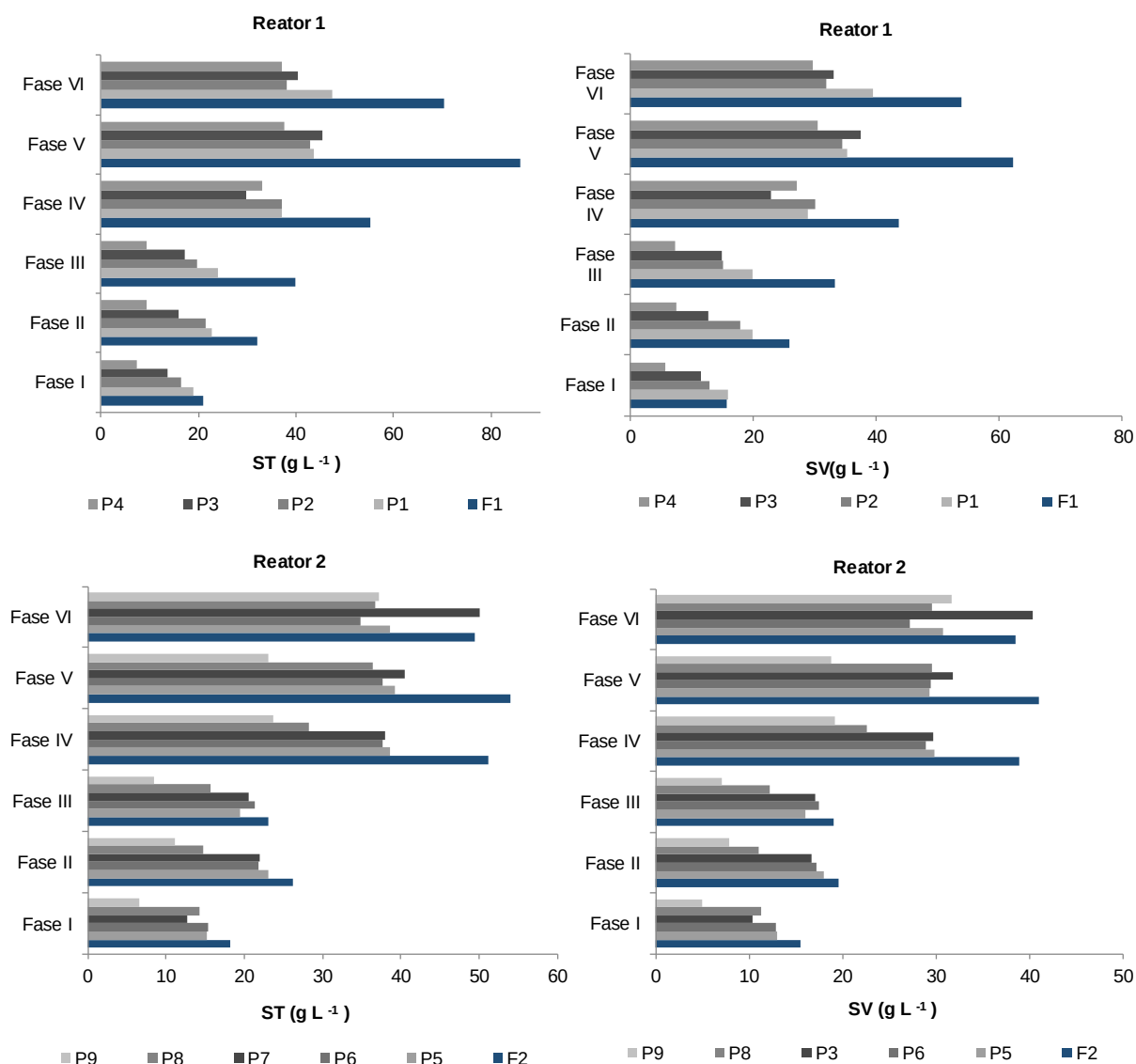


Figura 45. Concentração média de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV) do lodo dos reatores UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.

A relação SV/ST do lodo do R1 variou de 0,72 a 0,84 no F1, de 0,78 a 0,88 no P1, de 0,77 a 0,84 no P2, de 0,76 a 0,87 no P3 e de 0,77 a 0,82 no P4 (Tabela 14). No R2 a relação SV/ST variou de 0,75 a 0,85 no F2, de 0,75 a 0,82 no P5, de 0,77 a 0,83 no P6, de 0,76 a 0,83 no P7, de 0,75 a 0,81 no P8 e de 0,69 a 0,85 no P9 (Tabela 15). As altas relações SV/ST observadas durante o tratamento evidenciam a predominância de matéria orgânica no lodo, e consequentemente a presença de microrganismos (Oliveira, 1997).

A menor relação SV/ST observada no lodo do R1 de 0,72 foi obtida na fase 5 no ponto (F1), já no filtro anaeróbio a menor relação observada de 0,69 foi na fase 2 ponto 9 conforme Figura 46.

De acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 375, 29/08/06, para fins de utilização agrícola, o lodo de esgoto ou produto derivado será considerado estável se a relação entre sólidos voláteis e sólidos totais for inferior a 0,70. Observa-se que o lodo estável foi obtido somente na fase 2 (Figura 46), quando seria adequado o descarte do lodo excedente para a reutilização na agricultura, atendendo ao limite de 0,70 para a relação SV/ST.

A elevada relação SV/ST do lodo observada durante o experimento pode ter ocorrido em virtude do TDH utilizado, podendo este ter sido baixo para permitir a estabilização da fração orgânica presente na biomassa.

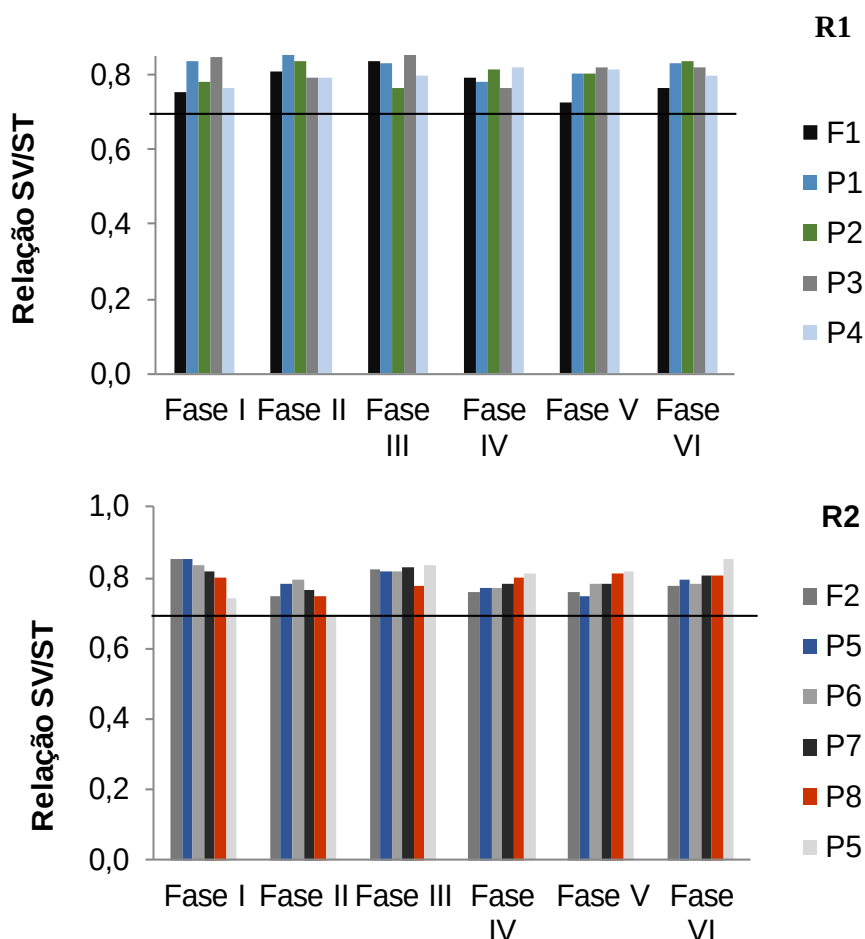


Figura 46. Relação SV/ST do reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.

6.6 Nitrogênio

As concentrações médias de nitrogênio Kjeldahl (NK), nitrogênio orgânico (N-org.) e nitrogênio amoniacal (N-am.) observadas no afluente, R1 e R2 variaram de 219 a 496 mg L⁻¹; 159 a 465 mg L⁻¹ e 128 a 420 mg L⁻¹, nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente (Tabela 16).

As maiores eficiências de remoção de NK observadas no R1 ($p < 0,01$), de 30 e 27% ocorreram nas fases 3 e 4, com a aplicação das COV de 10,6 e 11,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e TDH de 48 e 36 horas, respectivamente. As menores eficiências de remoção de 7 e 8% ocorreram na fase 1, fase de partida do sistema, e fase 6 com a aplicação da COV de 4,8 e 11,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e TDH de 60 e 48 horas, respectivamente.

As eficiências médias de remoção de NK no sistema de tratamento anaeróbico em dois estágios (R1+R2) foram de 41; 37; 41; 30; 26 e 15% ($p < 0,05$), nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente (Tabela 16). As maiores eficiências de remoção de 30 e 41% nas fases 1 e 4 não diferiram significativamente com a diminuição do TDH de 60 para 36 horas e aumento da COV de 4,8 a 11,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹, respectivamente.

As concentrações médias de N-am nos efluentes dos reatores anaeróbios aumentaram do afluente para os efluentes em todos os testes (Tabela 16), principalmente nas fases 4 e 5, o incremento de nitrogênio amoniacal foi de 29 e 26% do afluente para o efluente do R2, respectivamente como resultado da amonificação de N-org.. Nestas fases foram observadas maiores COV e conseqüentemente maior disponibilidade de compostos proteicos ficaram disponíveis para conversão do nitrogênio orgânico. Apesar do acréscimo de N-am em todas as fases os valores foram inferiores a 5000 mg L⁻¹, valor que indicaria instabilidade para digestão anaeróbia (Cook et al., 2017). Os valores de N-am encontrados no presente estudo não proporcionaram toxicidade na comunidade microbiana e permaneceram abaixo dos níveis de inibição de (1500–7000 mg L⁻¹) (Yenigün e Demirel, 2013; Shi et al., 2017).

- 1 Tabela 16. Valores médios e coeficiente de variação das concentrações de Nitrogênio (Total, Orgânico e Amoniacal) dos reatores anaeróbios
 2 (R1 e R2) e dos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) e eficiência de remoção do Nitrogênio total durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

		Fases												Teste F
		1	c.v	2	c.v	3	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) (mg/L)	Afluente	219 a	16	270 b	23	301 b	20	313 b	24	467 c	16	496 c	9	31,88**
	R1	159 a	15	220 b	28	211 b	29	226 b	24	405 c	23	465 c	15	37,52 **
	Ef. (%)	7 bcd	99	18 abc	101	30 d	43	27cd	46	14 ab	92	8 a	109	5,34*
	R2	128 a	22	166 a	33	173 ab	34	216 b	21	349 c	24	420 d	9	42,07**
	Ef. (%)	21 bc	65	24 c	58	15 abc	160	3 a	60	13 abc	62	9 ab	111	2,49*
	Ef. (%) R1 + R2	41 c	31	37 bc	50	41 c	46	30 bc	36	26 ab	45	15 a	53	5,24*
	RBS	-	-	105 ns	29	-	-	-	-	-	-	97ns	15	0,40 ns
	Ef. (%)	-	-	37 a	70	-	-	-	-	-	-	76 b	36	17,56*
	FBP	-	-	-	-	-	-	69 a	-	127 b	33	-	-	14,30*
	Ef. (%)	-	-	-	-	-	-	68 ns	-	62 ns	22	-	-	1,31ns
Nitrogênio Orgânico (mg/L)	Dec	-	-	-	-	-	-	71 a	33	123 b	54	-	-	7,58*
	Ef. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	7	94	-	-	-
	Efic. Global	41 a	31	59 b	25	41 a	46	78c	9	72 c	17	80 c	4	21,5**
	Afluente	139 a	61	207 b	61	245 b	24	230 b	34	382 c	16	373 c	14	20,69**
	R1	100 a	43	148 a	48	145 a	37	131 a	59	309 b	30	336 b	23	24,70**
	R2	75 a	30	91 a	72	97 a	61	117 a	47	243 b	32	271 b	16	22,46**
	RBS	-	-	22 ns	95	-	-	-	-	-	-	38 ns	70	1,71 ns
	FBP	-	-	-	-	-	-	24 a	118	53 b	84	-	-	4,94 *
	Dec.	-	-	-	-	-	-	36 a	103	54 a	105	-	-	1,73*
	Ef. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Afluente	46 a	30	64 b	28	52 ab	33	81 c	27	89 c	27	126 d	17	36,58**
	R1	55 a	21	72 b	29	66 b	22	96 c	24	99 c	24	137 d	10	41,31**
	R2	62 a	17	79 b	24	75 ab	21	104 c	23	110 c	24	146 d	8	38,03**
	RBS	-	-	69 ns	19	-	-	-	-	-	-	54 ns	53	2,77 ns
	FBP	-	-	-	-	-	-	53 a	36	75 b	28	-	-	29,95**
	Dec.	-	-	-	-	-	-	55 a	51	70 b	34	-	-	3,28*

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

A amônia é considerada tóxica quando se encontra em sua forma livre (NH_3), podendo permear facilmente pela membrana celular dos microrganismos. Nos reatores em que a biomassa ou lodo não está adaptado a toxicidade pela amônia livre acontece em baixas concentrações 80-150 mg de $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$ (De Baere et al., 1984). Já em reatores adaptados a concentração pode chegar a 700 – 1100 mg de $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$ (Angelidaki e Ahring, 1994; Hansen et al., 1998). Na partida do reator UASB (R1) (fase 1), a concentração de nitrogênio amoniacal aumentou de uma média de 46 ± 30 mg de $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$ para 62 ± 17 mg de $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$, nas fases 2 a 6 as concentrações médias foram inferiores a 150 mg de $\text{NH}_3\text{-N L}^{-1}$. A toxicidade da amônia é dependente da temperatura e do pH do meio, o aumento de ambos promove o desequilíbrio entre amônio (NH_4^+) e amônia (NH_3) favorecendo a formação de NH_3 . Os valores de amônia livre no R1 e R2 nas fases 1 a 6 não ultrapassaram os valores de 11 mg $\text{NH}_3\text{ L}^{-1}$.

De acordo com a equação de Emerson et al. (1975) os valores de NH_3 obtidos no estudo não apresentaram toxicidade para o processo de digestão anaeróbia. Para o RBS alimentado com concentrações de NK de 166 mg L^{-1} na fase 2 e 420 mg L^{-1} na fase 6 foram observados valores médios no efluente do RBS de 105 e 97 mg L^{-1} , resultando em eficiências médias de remoção de 37 e 76% nas fases 2 e 6 respectivamente. O conjunto (R1+R2+RBS) obtiveram 80% ($p < 0,01$) de eficiência de remoção na fase 6. A redução gradativa do TDH de 48 para 30 horas e o aumento da COV de 8,7 para 11,6 g $\text{DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$ propiciaram maior eficiência de remoção de NK nas condições impostas durante a fase 6, o que sugere maior adaptabilidade da biomassa microbiana no sistema de tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira.

As eficiências médias de remoção de NK foram de 68 e 62% no filtro biológico percolador (FBP) (Figura 47), com aplicação das taxas superficiais de 2,11 e 2,53 $\text{m}^2 (\text{m}^3 \text{d})^{-1}$. O conjunto FBP + Dec. contribuíram para o aumento nas eficiências médias de remoção de NK do sistema (R1+R2+FBP+D) para valores de 78 a 82%, nas fases 4 e 5 respectivamente.

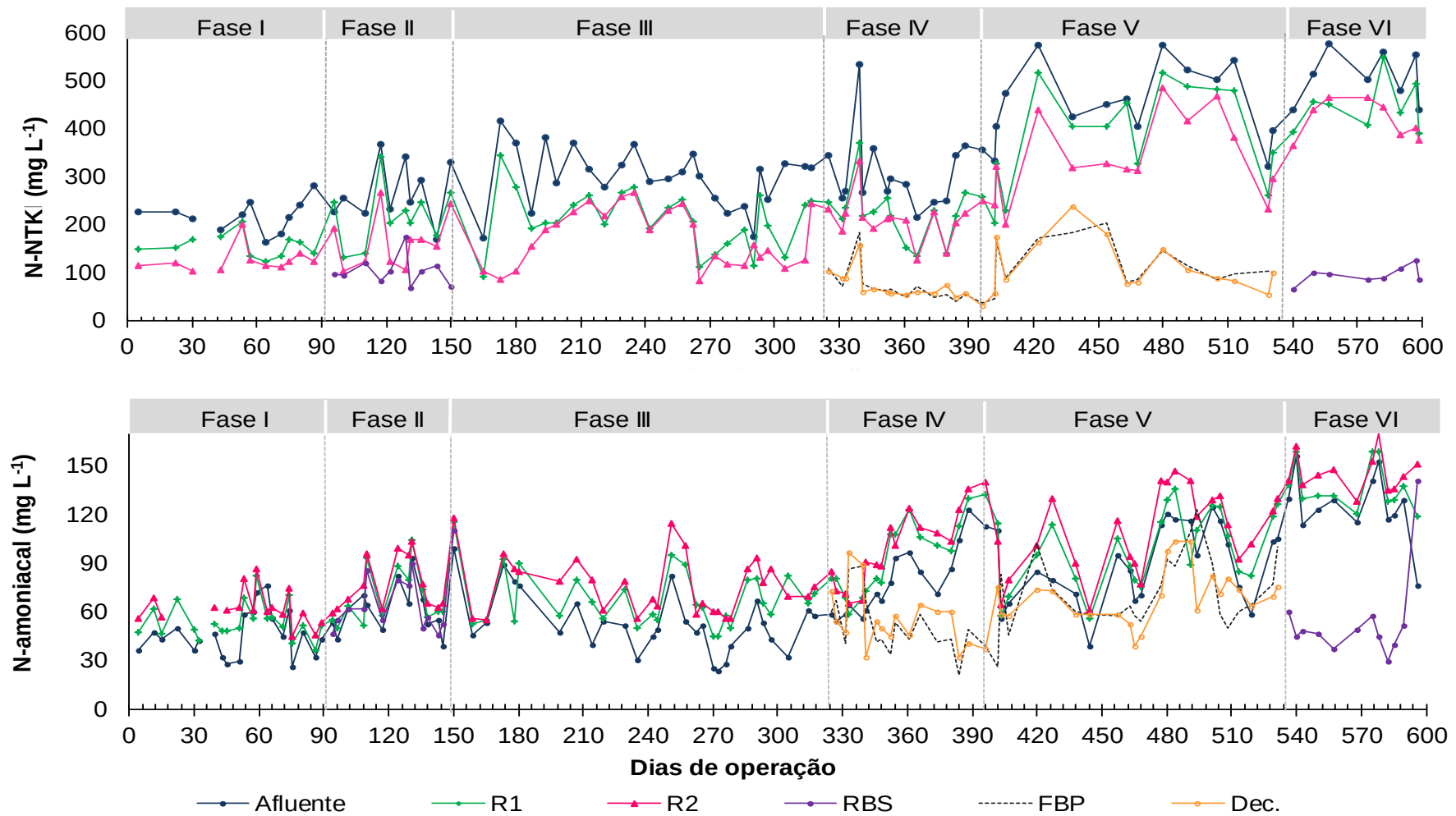


Figura 47. Concentrações médias de nitrogênio Total e Nitrogênio amoniaco nos reatores anaeróbios R1 e R2 e reatores aeróbios RBS e FBP seguido de Decantador durante as fases 1 a 6.

Com a adição do pós-tratamento aeróbio a eficiência de remoção de NK no sistema de tratamento foi significativa, o que pode ser atribuído aos processos de nitrificação e desnitrificação. A concentração de (N-org.) afluente correspondeu a mais de 70% da concentração de NK, sendo que menos de 30% se encontrava na forma amoniacal confirmando a amonificação do N-org nos reatores R1 e R2.

A combinação de tecnologias anaeróbias e aeróbias em reatores de alimentação contínua propiciam condições adequadas para remoção da matéria orgânica, nitrificação e a desnitrificação em condições de aeração intermitente (Rajagopal et al., 2011). Neste estudo foi possível obter eficiências de remoção entre 55 e 80% com a combinação das tecnologias anaeróbia/aeróbia no tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira.

As concentrações médias de N-am diminuíram de 79 e 146 mg L⁻¹ no efluente do R2 para 69 e 54 mg L⁻¹ no efluente do RBS nas fases 2 e 6, respectivamente e de 104 e 110 mg L⁻¹ no efluente do R2 para 53 e 75 mg L⁻¹ no FBP nas fases 4 e 5, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos, pode-se inferir que houve atividade nitrificante durante as fases de operação dos reatores aeróbios confirmada pela redução nas concentrações de N-am, com remoções médias de 13, 56, 38 e 62% nas fases 2, 4, 5 e 6 respectivamente.

A disponibilidade de oxigênio dissolvido associado a fatores como alcalinidade, pH, temperatura fatores hidráulicos e operacionais representam os principais agentes reguladores do desempenho na remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal nos sistemas aeróbios (Metcalf e Eddy, 2003). A temperatura média observada durante as fases 2, 4, 5 e 6 de 23,7; 24,5; 21,4; 24,1°C, respectivamente permaneceram na maior parte do experimento acima de 20°C, a qual não é limitante para a nitrificação de acordo com Metcalf e Eddy (2003).

Para oxidar 1 g de amônia são necessários 7,14 g de alcalinidade em CaCO₃ (Metcalf e Eddy, 2003). Assim, teoricamente a quantidade de alcalinidade necessária para a nitrificação do NK removido no RBS e FBP, desconsiderando a fração utilizada para o crescimento celular foi de 435, 1049, 1585 e 2299 mg CaCO₃ nas fases 2, 4, 5 e 6, respectivamente, valores superiores ao efluente do R2. O que evidencia a ocorrência da nitrificação nos

reatores aeróbios mesmo com valores de alcalinidade inferiores ao requerido para o processo.

Nas fases 4 e 5 foram observados um incremento de alcalinidade no decantador secundário de 35 e 16%, que pode ter sido consequência da geração de alcalinidade proporcionada pela desnitrificação heterotrófica. De acordo com Metcalf & eddy (2003) são produzidas 3,57 mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ para a desnitrificação do N-disponível.

A concentração média de nitrito não diferiu ($p>0,05$) entre as fases 2, 4, 5 e 6 de 86,4; 71,78; 64,75 e 77,83 mg L^{-1} nos reatores aeróbios respectivamente e 71,92 mg L^{-1} na fase 4 e 55,87 mg L^{-1} na fase 5 no Dec., evidenciando que as condições impostas ao sistema de tratamento não influenciaram nas condições para a remoção de nitrogênio (Tabela 17).

Tabela 17. Valores médios e coeficientes de variação de oxigênio dissolvido, nitrito e nitrato nos reatores aeróbios RBS e FBP seguido de decantador durante as fases 2, 4, 5 e 6.

		Fases								Teste F
		2	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
OD (mg L⁻¹)	RBS	2,31 ^b	19	-	-	-	-	3,15 ^a	10	26,9**
	FBP	-	-	4,37	10	4,43	9,9	-	-	0,17 ns
	Dec	-	-	2,79	13	2,8	15	-	-	0,21 ns
Nitrito (mg L⁻¹)	RBS	86,4	22	-	-	-	-	77,8	47	0,71 ns
	FBP	-	-	71,7	28	64,7	45	-	-	2,2 ns
	Dec.	-	-	71,9	36	55,8	36	-	-	2,8 ns
Nitrato (mg L⁻¹)	RBS	82,1	3	-	-	-	-	75,9	26	0,18 ns
	FBP	-	-	86,5	12	77,8	5	-	-	0,01 ns
	Dec.	-	-	82,1	20	75,9	6	-	-	1,5 ns

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

Segundo Akker (2008) o aumento na carga de matéria orgânica no filtro biológico percolador inibe a nitrificação devido ao rápido crescimento de microrganismos heterotróficos, os quais competem com as bactérias nitrificantes que tem como característica o lento crescimento. O aumento da carga orgânica no filtro biológico percolador durante as fases 4 e 5 não inviabilizaram a nitrificação de acordo com as elevadas concentrações obtidas

durante o experimento. O que implica dizer que as condições operacionais no FBP permitiram o crescimento e aclimatação dos microrganismos nitrificantes.

Os valores médios de nitrato de 82,15; 75,94 no RBS nas fases 2 e 6, respectivamente, permaneceram próximos aos valores de nitrito, já nas fases 4 e 5 de 86,49; 77,83 mg L⁻¹ no FBP e 82,15; 75,94 mg L⁻¹ no Dec. respectivamente, permaneceram superiores aos valores médios de nitrito, o que indica condições favoráveis para a oxidação do N-am a nitrato, apesar da restrição da alcalinidade. A concentração de OD observada durante o experimento resultou no acúmulo de nitrato no efluente do RBS e do decantador secundário, já que a desnitrificação foi prejudicada nesta condição, o que pode ter promovido a imobilização da maior parte do nitrogênio Total (NTK + N-NO₃⁻ + N-NO₂⁻) na biomassa e no biofilme do FBP.

A desnitrificação pode ocorrer na presença de baixas concentrações de oxigênio dissolvido. A concentração de oxigênio no interior do biofilme tende a ser menor do que a concentração na superfície do floco e no meio líquido, promovendo assim a desnitrificação na porção inferior do biofilme (Metcalf & Eddy, 2003).

Em relação ao lançamento em corpos hídricos, tanto a concentração média de nitrogênio amoniacal e de nitrato não se enquadram ao limite máximo de 20 mg N.L⁻¹ e 10,0 mg L, respectivamente, estabelecido pela resolução CONAMA nº 430 (BRASIL, 2011) para corpos de água de classe 1, 2 e 3.

O consumo de águas com elevadas concentrações de nitrato pode estar associado com algumas enfermidades, como exemplo a metahemoglobinemia ou cianose infantil (síndrome do bebê azul) e possíveis patologias como algumas formas de câncer no estômago e intestino (Matos e Matos, 2017).

A utilização de águas residuárias em áreas agricultáveis é uma das alternativas para propor o reuso dessas águas (Nobre et al., 2010). O seu aproveitamento na fertirrigação possibilita incremento na produtividade e redução da poluição ambiental e dos custos de produção com fertilizantes químicos, além de promover melhoria nas características químicas, físicas e biológicas do solo (Morrill et al., 2012).

6.7 Fósforo

Na Tabela 18 estão apresentados os valores médios das concentrações de fósforo total (P-total) e ortofosfato no afluente e nos efluentes e os valores médios de eficiência de remoção obtidos nos reatores UASB (R1), filtro anaeróbio (R2) e no sistema de tratamento em série (R1+R2) durante as seis fases experimentais. As concentrações médias de P-total no afluente variaram de 359 a 571 (mg L^{-1}) durante as fases experimentais e diferiram significativamente ($p < 0,01$), apresentando variações acentuadas como pode ser observado na Figura 48. As concentrações de ortofosfato no afluente variaram de 46 a 104 (mg L^{-1}) durante as seis fases experimentais.

Segundo Gerardi (2003) o ortofosfato é a forma prontamente disponível para os microrganismos sendo, portanto, primeiramente utilizada. As eficiências de remoção de ortofosfato no R1 não apresentaram diferença estatística entre as fases 1, 3, 4, 5 e 6.

As concentrações médias de (P-total) observadas no reator UASB (R1) foram de 289, 281, 158, 146, 108 e 166 (mg L^{-1}) nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. As maiores eficiências de remoção de P-total ocorreram no R1 nas fases 3, 4, 5 e 6, fases de maiores COV 10,6; 11,6; 12,6 e 11,5 g DQO total (L d^{-1}), respectivamente (Figura 48). Evento que pode ser atribuído à precipitação do P-total e à retenção de sólidos no lodo do reator, além da formação de cristais de estruvita que podem ser utilizados como fertilizantes sólidos (Tao et al., 2016).

Segundo Güngör e Karthikeyan (2008) durante a digestão anaeróbia a fração de fósforo dissolvido reage com íons metálicos e se liga a partículas sólidas promovendo assim a precipitação do fósforo. Os íons metálicos Fe^{2+} , Al^{3+} , Mg^{3+} , Ca^{2+} , Cr^{3+} e Mn^{3+} influenciam a transformação do fósforo em sistemas anaeróbios tratando dejetos de animais (Li et al., 2020).

No filtro anaeróbio as concentrações de P-total variaram de 96 a 207 mg L^{-1} com eficiências médias de remoção na ordem de 16 a 30% durante as fases 1 a 6 ($p < 0,05$).

- 1 Tabela 18. Valores médios, coeficientes de variação e eficiências de remoção de fósforo total (P-total) e ortofosfato no reator
 2 UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

		Fases												Teste F
		1	c.v	2	c.v	3	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
P-total (mg/L)	Afluente	507 c	9	555 c	19	407 bc	25	387 ab	30	359 a	23	571 c	9	5,22*
	R1	289 b	65	281 b	57	158 a	36	146 a	40	108 a	14	166 a	8	6,95**
	Ef. (%)	44 a	44	51 ab	27	66 c	13	63 c	18	61 bc	2	61 bc	2	7,33**
	R2	207 b	62	197 b	59	125 a	29	125 a	34	96 a	18	150 ab	12	4,39*
	Ef. (%)	28 b	37	30 b	8	24 ab	59	16 a	76	17 ab	7	16 ab	4	3,08*
	Ef. (%) R1 + R2	60 a	32	66 ab	16	73 b	8	67 ab	16	72 b	9	74 b	5	3,56*
Ortofosfato (mg/L)	Afluente	46	46	71	27	69	40	84	44	104	22	57	45	14,67**
	R1	27 a	58	56 d	44	45 bc	37	50 cd	40	57 d	40	28 ab	55	8,70**
	Ef. (%)	47 b	53	26 a	87	36 ab	58	39 ab	42	41 ab	59	49 b	60	2,13*
	R2	18 a	46	31 bc	40	37 cd	46	43 de	35	54 e	33	22 ab	72	14,38**
	Ef. (%)	33 bc	102	45 c	50	25 ab	82	15 a	94	16 a	104	37 bc	31	4,96*
	Ef. (%) R1 + R2	60 ns	36	54 ns	34	49 ns	38	47 ns	36	47 ns	30	62 ns	33	1,78 ns

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

5

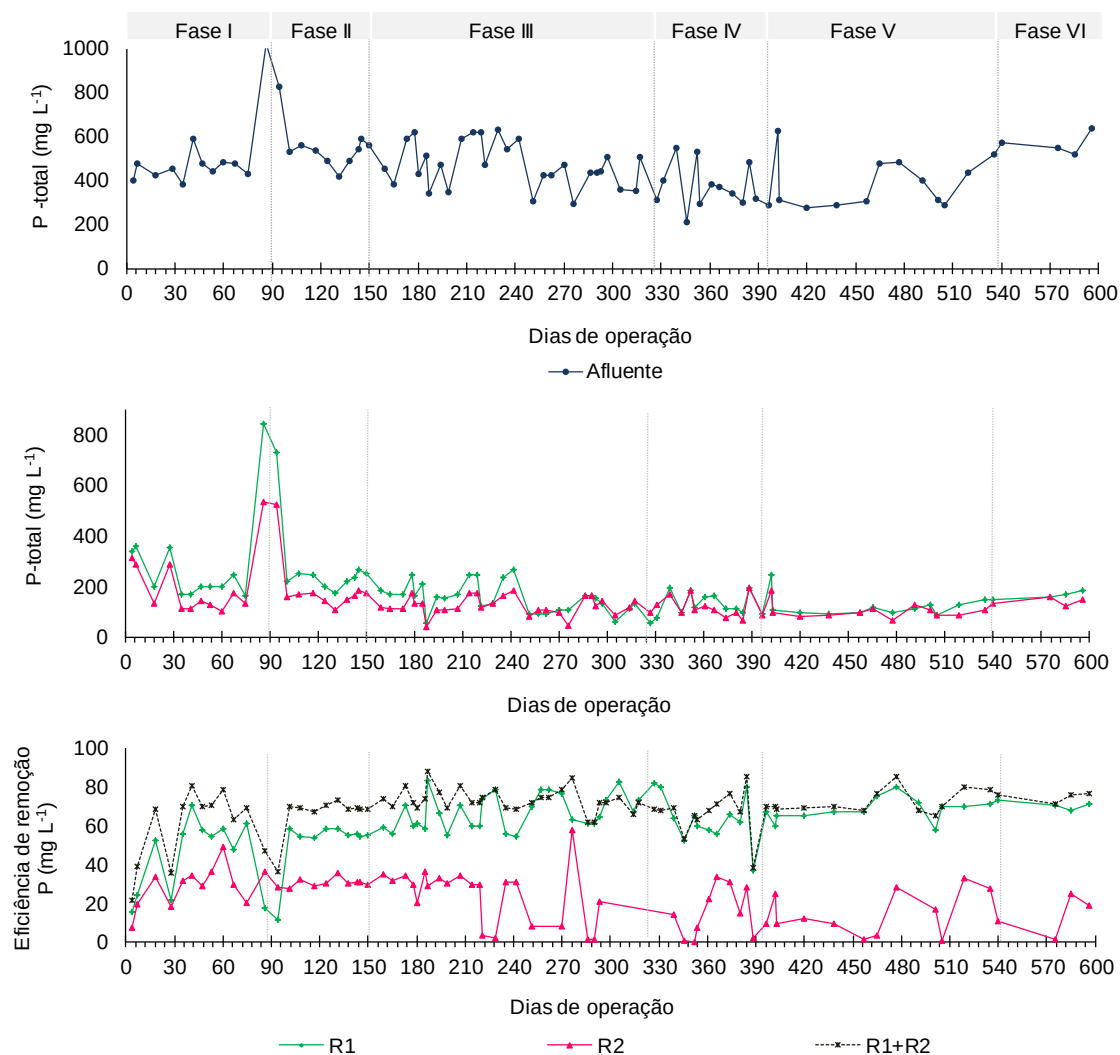


Figura 48. Concentrações médias de fósforo Total afluente e nos reatores anaeróbios R1 e R2 e eficiências de remoção do sistema anaeróbio durante as fases 1 a 6.

No sistema de tratamento anaeróbio em série (R1+R2) as eficiências médias de remoção de P-total foram de 60; 66; 73; 67; 72 e 74% ($p < 0,05$), nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. Dessa forma, observou-se que o R2 contribuiu significativamente para o aumento na eficiência de remoção de P-total no sistema de tratamento. A remoção de ortofosfato no sistema combinado (R1+R2) não apresentaram diferenças significativas, permanecendo acima de 45% de remoção durante as fases experimentais.

A combinação de diferentes tecnologias no sistema de tratamento de águas residuárias podem promover o acúmulo ou a liberação de fósforo pela biomassa microbiana durante a fase anaeróbia (Von Sperling, 2016).

A proporção de DQO: N: P no afluente variou de 350: 6,45: 14,94 a 350: 10,4: 8,0 durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Valores suficientes para satisfazer as condições dos microrganismos para digestão anaeróbia de 350: 5: 1, indicando que não houve deficiência desses nutrientes para a biomassa microbiana (Chernicharo, 2007). Segundo Metcalf e Eddy (2003) o fósforo corresponde de 2,0 a 2,6% do peso seco dos microrganismos.

Reatores anaeróbios não têm como objetivo principal a remoção de nutrientes no tratamento de águas residuárias, entretanto, observou-se no estudo uma importante contribuição na remoção de P-total. Em sistemas anaeróbios os nutrientes podem ser removidos por sedimentação e precipitação no lodo, além de uma parcela que pode ser assimilada pelos microrganismos.

Na Tabela 19 estão apresentados os valores médios, coeficientes de variação (c.v) e as eficiências de remoção das concentrações de fósforo total (P-total) e ortofosfato no afluente e no efluente do sistema de pós-tratamento, composto pelo reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador seguido de decantador.

No efluente do RBS os valores médios da concentração de P-total foram de 170 e 118 mg L⁻¹ nas fases 2 e 6, respectivamente. A maior eficiência de remoção (p<0,05) foi observada na fase 6 de 39% (Figura 49).

Oliveira e Santana (2011) obtiveram 57% de eficiência de remoção de P-total com COV de 14,8 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 28h no tratamento da água residuária de suinocultura operando dois reatores UASB em série seguido de reator em batelada sequencial. No referido estudo com COV de 11,5 g DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 30h foi obtido eficiência de 79% de P-total no sistema combinado (R1+R2+RBS).

Deng et al. (2008) avaliaram sistema combinado, reator UASB seguido de reator operado em batelada sequencial, no tratamento de água residuária da suinocultura com concentrações afluentes de 125 mg L⁻¹ de P-total. Os autores obtiveram eficiências de remoção de 49 a 70%. Eficiências similares foram obtidas no presente estudo com concentrações superiores de P-total.

Tabela 19. Valores médios, coeficientes de variação e eficiências de remoção de fósforo total (P-total) e ortofosfato nos reatores aeróbios, reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador durante as fases 2, 4, 5 e 6.

		Fases								Teste F
		2	c.v	4	c.v	5	c.v	6	c.v	
P total (mg/L)	RBS	170	59	-	-	-	-	118	8	2,42 ns
	Ef. (%)	15 b	44	-	-	-	-	39 a	28	8,79*
	FBP	-	-	94	34	72	20	-	-	3,79 ns
	Ef. (%)	-	-	28	49	26	65	-	-	0,02 ns
	Dec	-	-	88	39	63 b	17	-	-	4,69 *
Ortofosfato (mg/L)	Ef. (%)	-	-	8	41	18	83	-	-	0,13 ns
	Efic. Global	70 b	13	76 ba	13	81 a	5	79 ba	3	6,62**
	RBS	19	37	-	-	-	-	15	98	3,41 ns
	Ef. (%)	37	76	-	-	-	-	50	49	1,75*
	FBP	-	-	30	33	34	30	-	-	1,49 ns
Ortofosfato (mg/L)	Ef. (%)	-	-	33	91	35	90	-	-	0,07 ns
	Dec	-	-	27	41	35	30	-	-	2,98 ns
	Ef. (%)	-	-	16	95	9	48	-	-	2,67 ns
	Efic. Global	70 bc	20	63 b	28	67 bc	16	78 c	24	5,78**

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

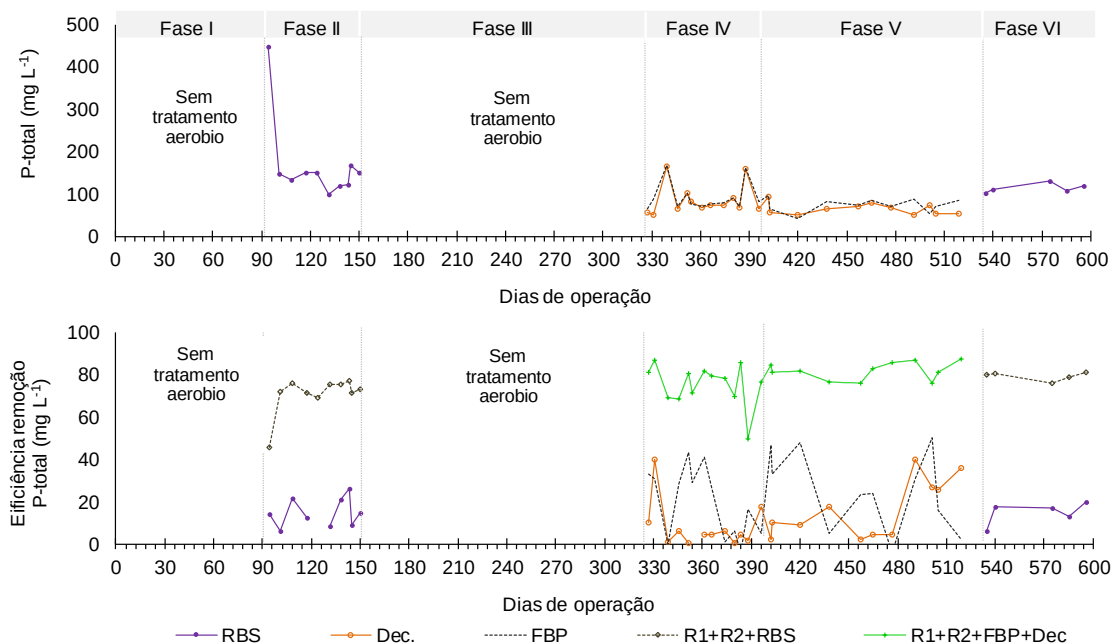


Figura 49. Concentrações médias de fósforo Total nos reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador e eficiências de remoção do sistema aeróbio durante as fases 1 a 6.

As eficiências de remoção do P-total no pós-tratamento (FBP + Dec.) foram de 31 e 32% nas fases 4 e 5, respectivamente. Contribuindo para elevar a remoção do conjunto anaeróbio + aeróbio para 77 e 81% para as fases 4 e 5, respectivamente (Figura 49). A remoção de P-total no FBP pode ter ocorrido pela precipitação sobre o meio suporte da biomassa. Duda e Oliveira (2011) observaram por meio de microscopia eletrônica de varredura a deposição de sais de fosfato sobre anéis de bambu como meio suporte do FBP no tratamento de água residuária da suinocultura.

Oliveira e Santana (2011) também observaram altas remoções de fósforo quando a temperatura média do ar era superior a 24°C. A temperatura média registrada durante a fase 4 foi de 24,4° e a remoção de P-total observada foi de 77%.

6.8 Produção de CH₄

O maior percentual de CH₄ no biogás foi observado no reator UASB (R1) na fase 1 com valores de 74% e reduziu para 50% na fase 5. No filtro anaeróbico (R2) foi observado a mesma ocorrência, o maior percentual de metano foi observado na fase 1 de 68% e menor na fase 5 com valor de 46%. As maiores produções volumétricas de CH₄ 0,11; 0,22; 0,19; 0,27; 0,20; 0,19 (m³ CH₄ (m³ reator d)⁻¹) durante as fases 1 a 6, respectivamente foram observadas no R1 (Tabela 20 e Figura 50). Evidenciando que não ocorreram separação das fases hidrolítica, acidogênica, acetogênica e metanogênica nos diferentes reatores que metabolizaram os substratos orgânicos por meio do consórcio microbiano, resultando nas emissões de metano. Entretanto, quando ocorre à separação das fases da digestão anaeróbia em diferentes reatores em sistemas de dois estágios, a produção de metano tende a ser maior do que em sistemas combinados em que não acontece essa separação (Villa-Montoya et al., 2017).

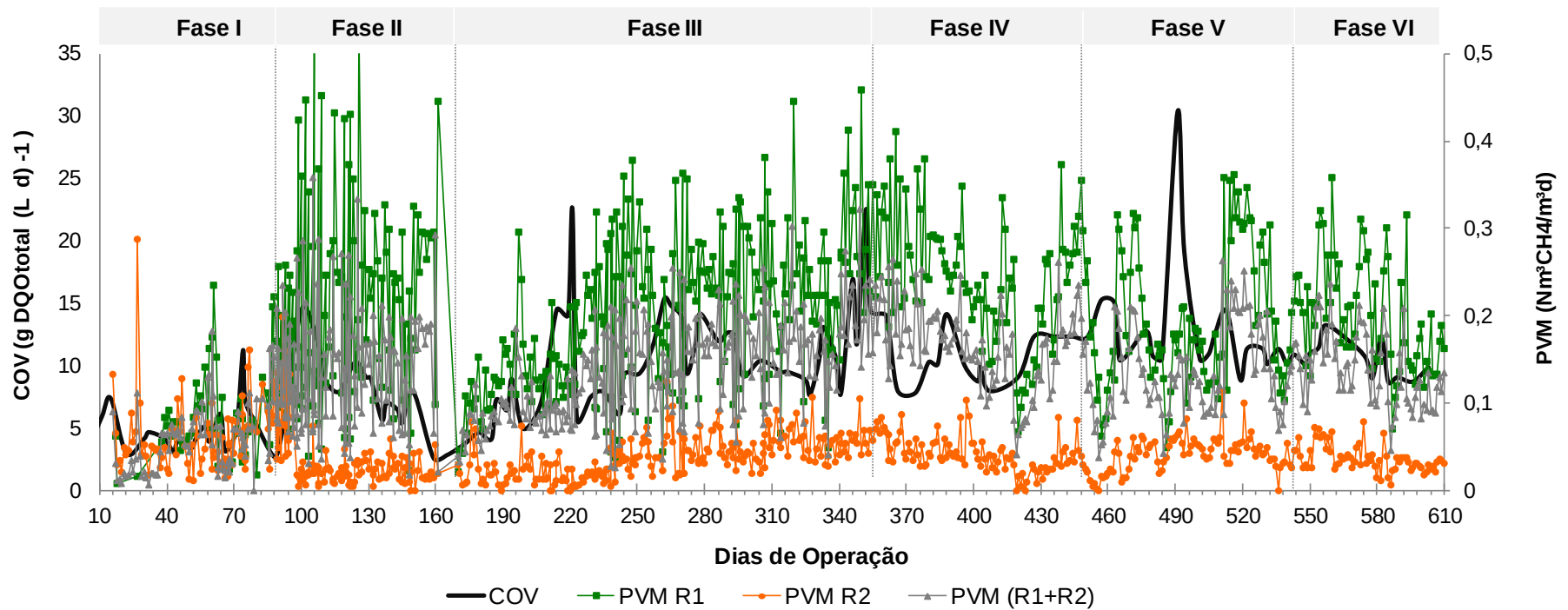
A maior produção volumétrica de metano no R1 e no sistema de reatores (R1 + R2) ocorreram durante a fase 4, de 0,27 e 0,18 (m³ CH₄ (m³ reator d)⁻¹), respectivamente (Tabela 20), e diferiram significativamente (P<0,01) das demais fases, o que evidencia a simbiose dos microrganismos hidrolíticos, acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos no reator UASB. A mesma tendência foi observada para a produção específica de metano, a maior produção média observada ocorreu na fase 4, no reator UASB (R1) de 0,15 m³ kg⁻¹ de DQO removida e diferiu (P<0,05) das demais fases (Tabela 20), satisfazendo 43% do rendimento máximo teórico de metano de (0,35 m³ kg⁻¹ de DQO removida). O valor médio da produção específica observado para o sistema de reatores (R1 + R2) na fase 4 foi inferior ao obtido no reator UASB, representando 13% do rendimento máximo teórico de metano.

- 1 Tabela 20. Valores médios da produção volumétrica e específica de metano e percentual de metano no biogás no reator UASB
 2 (R1) e filtro anaeróbio (R2) durante as fases 1 a 6.

Fases	1	2	3	4	5	6	c.v	Teste F
COV R1	4,8 d	8,7 c	10,6 cd	11,6 ab	12,6 a	11,5 abc	28	13,7**
COV R2	3,0 b	2,8 b	5,7a	3,4 b	6,0 ab	4,1 b	33	4,8*
Produção volumétrica de metano (L CH₄ (Ld⁻¹))								
R1	0,11 d	0,22 b	0,19 c	0,27 a	0,20 bc	0,19 b	24	36,2**
R2	0,06 a	0,02 c	0,04 b	0,05 b	0,04 b	0,04 b	56	25,9**
R1+R2	0,08 c	0,14 b	0,13 b	0,18 a	0,14 b	0,13 b	19	45,2 **
Concentração de metano no biogás (%)								
R1	74	70	60	51	50	51	-	
R2	68	66	50	49	46	51	-	
Produção específica de metano (L CH₄ (g DQOremovida) ⁻¹)								
R1	0,04 b	0,04 b	0,08 b	0,15 a	0,03 b	0,03 a	17	4,4*
R2	0,09 a	0,02 b	0,04 b	0,02 b	0,04 b	0,02 b	32	7,3**
R1+R2	0,02 b	0,03b	0,02 b	0,03 c	0,02 c	0,02 a	28	13,0**

- 3
 4 Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de
 5 probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

6
 7
 8



9

10 Figura 50. Produção volumétrica de metano e carga orgânica volumétrica (COV) do reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2)
 11 instalados em série durante as fases 1 a 6. PVM: produção volumétrica de metano.

12

13

14

Apesar da fase 1 ter apresentado altos percentuais de CH_4 foi observado baixa produção volumétrica (figura 50). Isso ocorreu devido à partida dos reatores, quando a microbiota ainda estava se adaptando. As menores COV com altos TDH propiciam condições adequadas para alcançar melhores rendimentos de metano (Mao et al., 2015).

A produção volumétrica de CH_4 no R2 chegou a ser 80% inferior à produção do R1, entretanto, o R2 foi fundamental para a estabilização da matéria orgânica. Essa evidência confirma que, embora o R2 não apresente um incremento substancial para a produção de metano, ele foi fundamental para gerar um efluente de melhor qualidade independente da COV aplicada. Com o aumento da COV o percentual de metano reduziu de 74, 70, 60, 51 e 50% no R1 e reduziu de 68, 66, 50, 49 e 46% no R2. Duan et al. (2019) também observaram menor percentual de metano com o aumento da carga. O que pode ser atribuído à degradação incompleta do substrato interferindo na atividade das bactérias metanogênicas.

Apesar das concentrações de AVT não diferirem significativamente entre as fases no R2 e nas fases 2, 3, 4 e 5 no R1, as concentrações de dióxido de carbono (CO_2) aumentaram nas fases 3, 4 e 5 o que pode ter inibido parcialmente a metanogênese. O acréscimo nos valores da COV implica em menor percentual de metano no biogás e acúmulo de CO_2 (Rico e Rico, 2015).

A produção de biogás pode ser influenciada conforme a composição da água residuária da bovinocultura leiteira, ração com elevados teores de proteínas, alimentos fibrosos, além de fatores como coleta do resíduo e seu armazenamento interferem na conversão desse resíduo a metano (Coppolecchia et al., 2015; Franco et al., 2017). Möller e Schultheiß, (2014) observaram que ração com maior teor de gordura tende a produzir dejetos com maior potencial de metano no processo de digestão anaeróbia.

Os dejetos coletados neste estudo foram provenientes de animais que recebiam dieta com 60% de volumoso (silagem e pasto) e 40% de concentrado (grão de milho, grão de soja, farelo de soja, farelo de algodão, farelo de trigo e de núcleo mineral para bovino de leite) e sal mineral à vontade, ou seja, maior parte da alimentação foi constituída de material de difícil degradação. Materiais lignocelulósicos são formados por uma complexa matriz de celulose, hemicelulose e lignina (Wyman et al., 2018). Foi observado por (Li et al.,

2013) uma correlação linear negativa entre o rendimento de metano e o teor de lignina em resíduos fibrosos no processo de digestão, já que a lignina não sofre degradação natural em ambientes anaeróbios (Triolo et al. 2011; Mao et al., 2015).

Wang et al. (2020) obtiveram melhores rendimentos de metano após pré-tratamento do dejetos da bovinocultura com permanganato de potássio para degradar a fração lignocelulósica do resíduo. Baêta et al. (2016) aplicaram pré-tratamento hidrotérmico na biomassa lignocelulósica do bagaço da cana e obtiveram melhor produção de metano. O pré-tratamento com CaO (óxido de cálcio) resulta em melhores rendimento de biogás em resíduos fibrosos, porém, a utilização de produtos químicos podem ocasionar impactos ao meio ambiente (Fan et al., 2019). A hidrólise de materiais fibrosos ainda é um obstáculo na digestão anaeróbia (Shrestha et al., 2017).

A produção de metano observada no estudo pode estar relacionada a alimentação do gado leiteiro, rica em material fibroso, já que a presença de materiais lignocelulósicos pode dificultar a hidrólise no processo da degradação da matéria orgânica.

A composição de materiais lignocelulósicos restringe seu uso como único substrato para o processo de digestão anaeróbia devido à dificuldade da sua biodegradabilidade (Sun et al., 2015). Apenas 50 a 70% do esterco é convertido a biogás durante a digestão anaeróbia com tempo de retenção hidráulica de 15 a 30 dias devido á sua natureza recalcitrante (Angelidaki et al., 2005).

O sistema trabalhou na faixa mesofílica (20 a 40°C) em todas as fases experimentais e apresentou altas eficiências de remoção de DQO total, DQO dissolvida, SSV além de estabilidade operacional, com valores de produção volumétrica de metano de 0,08; 0,14; 0,13; 0,18; 0,14 e 0,13 ($\text{m}^3 \text{CH}_4 (\text{m}^3 \text{reator d})^{-1}$) nas fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente nos reatores (R1+R2).

Sistemas mesofílicos trabalhando próxima a temperatura mínima apresentam baixos rendimentos de metano, apesar de apresentarem estabilidade operacional (Bowen et al., 2014). Valores inferiores a 30 °C interferem na produção de biogás tornando o processo mais lento (Gerardi, 2003), além de reduzir a digestão anaeróbia em 11% a cada °C reduzido.

Variações na temperatura do ar afetam o metabolismo microbiano, que é muito sensível à inconstância da temperatura (Mao et al., 2015).

As propriedades do esterco bovino, rico em nutrientes e matéria orgânica (Lympertou et al., 2017) fazem com que este resíduo seja amplamente utilizado na co-digestão com outros resíduos devido à sinergia entre os efluentes em diferentes sistemas e condições de operação (Risberg et al. 2013; Rico et al., 2015a; Regueiro et al. 2015; Joshi e Wang, 2018; Masihdas e Tao, 2018; Kumari et al., 2018). Em contrapartida alguns autores relatam alguns entraves como a concentração de sólidos e a presença de material celulósico na monodigestão que dificultam a produção de metano, já que uma fração lignocelulósica não é totalmente degradada (Nasir et al., 2015; Liu et al., 2017). Sendo necessário um pré-tratamento desse resíduo, a fim de reduzir o assoreamento no reator por acúmulo de sólidos, reduzir o tempo de detenção hidráulica e como consequência o tamanho do reator, obtendo assim melhores resultados na digestão anaeróbia.

Para reduzir a dificuldade de decomposição da biomassa lignocelulósica, diferentes métodos de pré-tratamento podem ser utilizados para alterar a composição química e estrutura física de materiais lignocelulósicos, quebrando a ligação entre polissacarídeos e lignina e conseqüentemente tornando celulose e hemiceluloses mais acessíveis aos microrganismos hidrolíticos (Mustafa et al., 2016).

Shi et al. (2018) comparou a co-digestão de resíduos de palha com resíduos alimentares em sistemas anaeróbios mesofílicos e termofílicos. O autor observou uma maior degradação da lignina e maior produção de biogás no sistema termofílico devido a maior população de microrganismos degradadores de lignina. O pré-tratamento térmico melhora a solubilidade de compostos lignocelulósicos obtendo maior rendimento de biogás em substratos fibrosos (Şenol et al., 2020). A digestão anaeróbia da fração sólida do esterco bovino em sistema termofílico com recirculação intermitente do percolado tem alto potencial para produção de metano (Rico et al., 2015b).

6.9 Remoção de Coliformes

Para identificar a qualidade microbiológica do efluente do sistema de tratamento anaeróbio e aeróbio foi realizada análise de coliformes totais e *Escherichia coli* (*E.coli*) no afluente e efluente dos reatores. O grupo de coliformes totais é encontrado originalmente no trato intestinal de humanos e animais homeotérmicos, sua presença não indica necessariamente poluição de origem fecal, já que é encontrado naturalmente em ambientes como solo, insetos e vegetais. Os coliformes termotolerantes são indicadores de poluição fecal, (*E.coli*) é a principal representante desse grupo e sua ocorrência é restrita as fezes de humanos e animais homeotérmicos (Silva et al., 1997).

Os valores médios dos números de coliformes totais e (*E.coli*) no afluente do R1 e R2 foram de $1,8 \times 10^6$; $1,7 \times 10^6$ e $9,6 \times 10^4$; $2,0 \times 10^4$ NMP/100 mL respectivamente. Foi observado um aumento de NMP de coliformes do R1 para R2 durante a fase 4, o que evidencia perda de sólidos no efluente do R1.

Com a utilização do pós-tratamento aeróbio o NMP/100mL no efluente do decantador foi de $3,1 \times 10^4$ para termotolerantes e $1,0 \times 10^3$ para (*E.coli*). Foi observado no referido estudo altas eficiências de remoção para coliformes totais e (*E.coli*) de 98,28 e 99,94%, respectivamente com DQO de 17260 (mg L^{-1}) e COV de 11,6 g DQO total (L d^{-1}) (Tabela 21).

O sistema combinado obteve redução de 2 logs do afluente para o efluente do decantador confirmando a importância do pós-tratamento.

Mazzareli et al. (2016) atingiram a remoção de 2 logs para coliformes totais na co-digestão de resíduos vegetais com efluente de suinocultura em reatores anaeróbios horizontais de alta taxa com leito fixo. Sistemas de tratamento anaeróbio em série proporcionam melhores remoções de coliformes Oliveira e Santana (2011).

O sistema apresentou boas eficiências de remoção de coliformes termotolerantes e foi obtido concentração máxima recomendado pela OMS para uso na agricultura, de 1×10^3 e na Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) nº 357 (BRASIL, 2005) de 1000 e 4000 NMP/100 mL

para as classes 2 e 3 respectivamente em corpos d'água doce, ficando assim no limite permitido pela legislação.

Tabela 21. Valores médios e eficiências de remoção de coliformes Totais e *Escherichia coli* nos afluentes e efluentes dos reatores anaeróbios e aeróbios ao final da fase 4.

Pontos de Amostragem	Coliformes			
	Total		<i>E. coli.</i>	
	NMP (100 ml) ⁻¹	Remoção (%)	NMP (100 ml) ⁻¹	Remoção (%)
Afluente	$1,8 \times 10^6$	-	$1,7 \times 10^6$	-
R1	$9,6 \times 10^4$	94,67	$2,0 \times 10^4$	98,83
R2	$1,7 \times 10^5$	-	$8,6 \times 10^4$	-
R1 + R2	-	90,56	-	94,97
FBP	$8,6 \times 10^4$	49,41	$4,1 \times 10^4$	52,33
Dec.	$3,1 \times 10^4$	63,95	$1,0 \times 10^3$	97,56
Eficiência do Sistema	-	98,28	-	99,94

Sylestre et al. (2014) obtiveram eficiência de remoção de 99,91; 99,93; 99,89 e 99,90% de coliformes totais e termotolerantes com TDH de 40 e 30 h e COV de 5,6 e 5,2 (kg m⁻³ d⁻¹), respectivamente tratando águas residuárias de suinocultura no conjunto de reatores anaeróbios e aeróbios similares ao desse estudo, evidenciando que maior TDH resulta em maior eficiência de remoção de coliformes.

Ramires e Oliveira (2014) com TDH de 36 horas obtiveram 99,90% de eficiência de remoção de coliformes totais no tratamento da água residuária da suinocultura utilizando dois reatores UASB em série.

Rodrigues et al. (2009) alcançaram redução de 99,99% no número de coliformes termotolerantes no sistema de tratamento, decantador, reator UASB e lagoa de polimento no tratamento de água residuária da suinocultura com DQO afluente de 1820 mg L⁻¹, resultando em um efluente com concentração média de coliformes termotolerantes de $1,1 \times 10^3$ (100 mL)⁻¹. Resultado similar foi obtido no estudo com DQO afluente de 17260 mg L⁻¹.

6.10 Composição da comunidade microbiana

A composição da comunidade microbiana associada ao lodo do reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) foi determinada na fase 4, com COV de 11,6 DQO total (L d)⁻¹ e TDH de 36h. Essa fase foi escolhida por apresentar maior produção volumétrica de metano, maior estabilidade operacional e maior eficiência de remoção de DQO. A leitura da diversidade microbiana realizada pelo Illumina MiSeq do gene 16S rRNA foi atribuída ao último nível taxonômico, porém quando este não é possível passa a ser representado o último nível disponível.

Os domínios Bacteria e Archaea foram quantificados por meio da Análise quantitativa de PCR em tempo real.

6.10.1 Microbiota dos principais grupos metanogênicos quantificados

O processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica é realizado por um grupo de microrganismos que atuam em sintrofia por meio de cooperação interespecíes. O conhecimento, caracterização e composição dessa comunidade são imprescindíveis para entender as condições ideais da digestão anaeróbia em diferentes tecnologias (Fitamo et al., 2017).

A técnica de biologia molecular de PCR em tempo real (qPCR) demonstrou de acordo com a (Figura 51), que o número dos genes quantificados pela análise biomolecular do rRNA 16S, indicou a similaridade dos domínios nos reatores anaeróbios UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2).

A Técnica PCR em tempo real (qPCR) possibilitou a quantificação de alguns destes principais microrganismos que vivem em sintrofia na digestão anaeróbia. Sendo assim, o número de cópias 16s rDNA/g SV destes grupos microbianos foram quantificados. Dentre os principais grupos, os domínios Archaea e Bacteria apresentaram uma relação de equilíbrio com $2,0 \times 10^9$; $3,0 \times 10^{11}$ g SV (R1); 1×10^9 ; 1×10^{11} g SV (R2) (Figura 51).

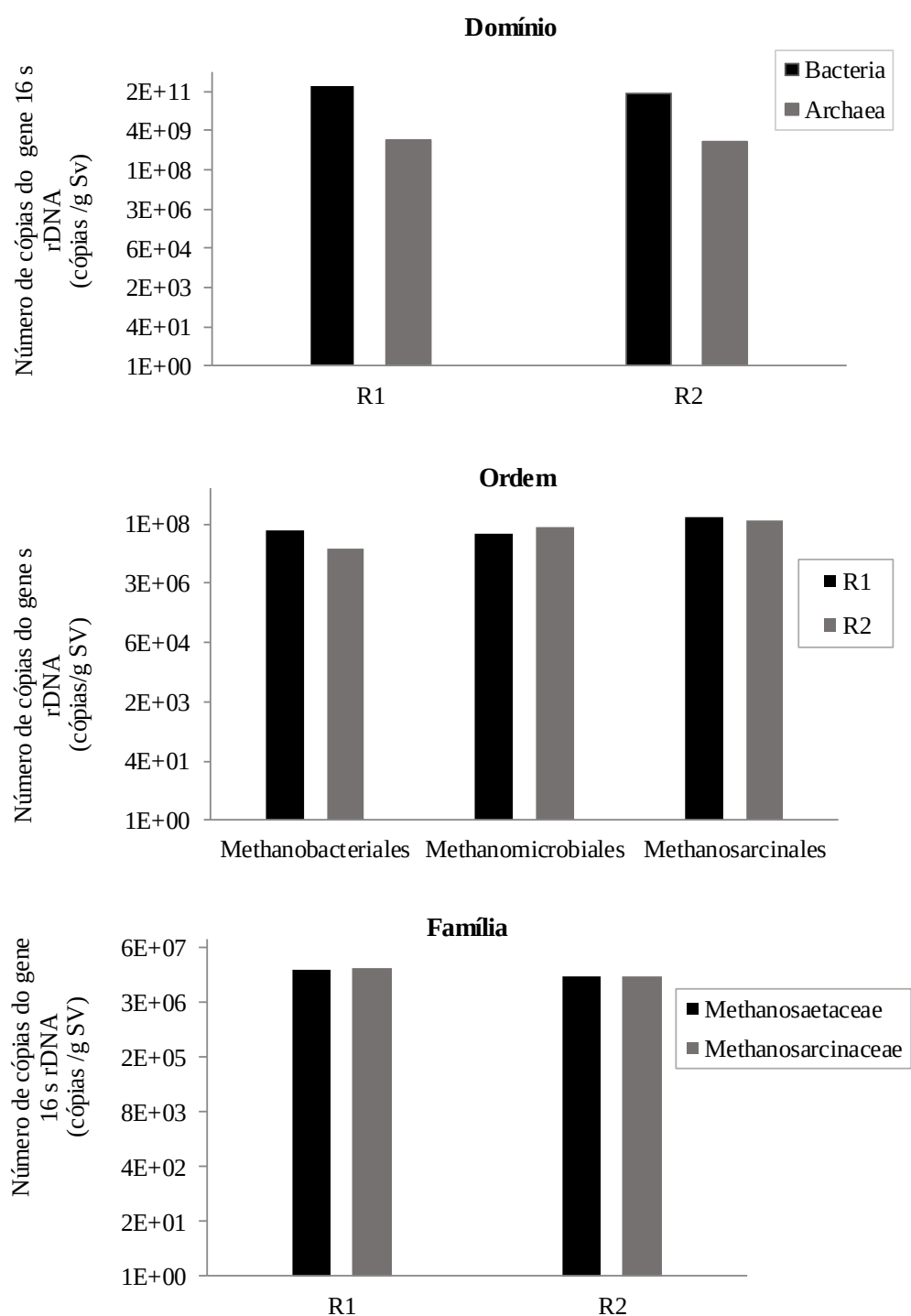


Figura 51. Real time quantitativo do lodo dos reatores anaeróbios (R1) UASB e (R2) filtro anaeróbio tratando água residuária da bovinocultura de leite. Número de cópias do gene 16S rDNA dos principais grupos microbianos da digestão anaeróbia.

Duda et al. (2015) utilizaram análises de PCR em tempo real para explorar as arqueas produtoras de metano e as divergências microbianas em

reatores de alta taxa. Estes autores também identificaram quantificações similares dos mesmos domínios estudados neste trabalho, o qual se torna fundamental para que a digestão anaeróbia aconteça adequadamente.

Freitas (2019); Botello Suárez et al. (2018); Barros et al. (2017) também observaram um equilíbrio entre Bacteria e Archaea em reatores anaeróbios de alta taxa para o tratamento da co-digestão de água residuária da bovinocultura leiteira com água residuária do despulpamento do café, vinhaça e água residuária de café, respectivamente.

Nos sistemas de digestão anaeróbia, a matéria orgânica degradada durante sua bioestabilização é convertida a substratos para ser utilizada por cada grupo de microrganismo com capacidades fisiológicas diferentes (Cho et al., 2017; Li et al., 2011; Chernicharo, 2007).

O equilíbrio entre as fases da digestão é um processo gradativo e fundamental para que o produto da fase anterior possa ser utilizado pela fase subsequente sem causar distúrbios no reator, caso contrário o desequilíbrio de uma das fases pode afetar toda comunidade microbiana, já que os metanogênicos apresentam lento crescimento.

As ordens Methanobacteriales, Methanomicrobiales, Methanosarcinales são considerados os principais representantes do Domínio Archaea envolvidas no processo da metanogênese. Somente o grupo Methanosarcinales compreende as arqueas acetoclásticas, utilizam o acetato oxidado pelas bactérias sintróficas acetogênicas para a produção de metano, enquanto Methanobacteriales e Methanomicrobiales compreendem as arqueas hidrogenotróficas, utilizam o hidrogênio e dióxido de carbono para produzir metano.

A comunidade de metanogênicos hidrogenotróficos no R1 e R2 estava em equilíbrio assim como as metanogênicas acetoclásticas (figura 51). Tais condições proporcionaram estabilidade nos reatores, visto que os valores de pH se encontravam na faixa ideal para a digestão anaeróbia, os ácidos gerados foram consumidos, a alcalinidade produzida foi suficiente para proporcionar o efeito tampão e os valores de N_{-am} não ocasionaram toxicidade na comunidade microbiana presente nos reatores R1 e R2.

De acordo com Maspolim et al. (2015) representantes dos gêneros *Methanosarcina* e *Methanobrevibacter* pertencentes a ordem

Methanosarcinales e Methanobacteriales, respectivamente estão diretamente ligados a manutenção da alcalinidade por meio da produção de dióxido de carbono. Os parâmetros de projeto que conferem a estabilidade da digestão anaeróbia como, pH, temperatura, AVT e amônia, podem afetar as complexas interações e a diversidade microbiana, o que pode inibir ou aperfeiçoar o processo de digestão (Goux et al., 2016).

As concentrações do número de cópias do gene 16S rDNA para as ordens metanogênicas Metanobacteriales ($7,0 \times 10^7$ a $2,0 \times 10^7$ cópias do gene 16S rDNA/g SV), Metanomicrobiales ($6,0 \times 10^7$ a 9×10^7 cópias do gene 16S rDNA/g SV), a ordem Methanosarcinales ($2,0 \times 10^8$ a 1×10^8 cópias do gene 16S rDNA/g SV) se apresentaram de maneira crescente nos pontos dos reatores R1 e R2, respectivamente. O aumento na população das Methanomicrobiales é associado à estabilidade do processo de digestão, uma vez que espécies dessa ordem são responsáveis por manter baixa a concentração de hidrogênio (Moestedt et. al., 2016).

Fitamo et al. (2017) observou a predominância do gênero *Methanothermobacter* pertencente a ordem Methanobacteriales e a família Methanobacteriaceae operando reator com TDH de 30, 20 e 15 dias de operação, ao reduzir o TDH para 10 dias observou a predominância de Methanosarcina.

Nossos resultados sugerem que durante as fases 1, 2 e 3 os percentuais de metano ficaram entre 60 e 74% no R1 e acima de 50% no R2, indícios de condições adequadas para a digestão anaeróbia. Entretanto, os valores de produção volumétrica foram baixos, o que sugere que substratos ricos em compostos fibrosos podem inviabilizar a produção de metano. Para melhorar a produção de metano o TDH deve ser maior, favorecendo uma maior adaptabilidade dos microrganismos propiciando melhores condições para a degradação dos compostos fibrosos.

Os gêneros *Methanosarcina* e *Methanosaeta* são responsáveis por aproximadamente 70% de todo o metano produzido nos reatores anaeróbios, são pertencentes às famílias Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae, metanogênicos acetoclásticos. Representantes dessas famílias oxidam o grupo carboxila a CO_2 e reduzem o grupo metil a metano durante a metabolização do acetato (Whitman et al., 2008).

Solli et al. (2014) observaram a presença de *Methanoculleus* em reator mesofílico na digestão de dejetos de bovinos e silagem de peixe, resíduos ricos em proteínas na fase de partida do reator. *Methanoculleus* são pertencentes à ordem Methanomicrobiales, que se encontrou estável nos dois reatores e em equilíbrio com as methanosarcinales, que são conhecidas pela diversidade metabólica, indicando que ambas as rotas de produção de metano ocorreram durante este período.

Reatores anaeróbios ricos em ácidos graxos voláteis tendem a produzir metano pela via acetoclástica (Nakasaki et al., 2020). Em contrapartida, reatores com altas concentrações de amônia são comumente associados à metanogênicos hidrogenotróficos (Ruiz-Sánchez et al., 2018). Alsouleman et al. (2016) observaram uma mudança da via acetoclástica para a hidrogenotrófica na formação de metano com a adição de 50% de estrume de aves.

6.10.2 Análise de sequenciamento de última geração

A análise de nova geração MiSeq (*Illumina*) possibilitou identificar a diversidade dos microrganismos durante o processo da digestão anaeróbia nos reatores R1 e R2. Nas atribuições taxonômicas sempre é gerado o último nível taxonômico, porém quando não é possível atribuir àquele nível (ex. Gênero), passa a ser representado o último nível disponível.

Na figura 52 está representada a curva de rarefação para as *Amplicon Sequence Variants* (ASVs) das amostras representadas (R1 e R2) coletadas ao final da fase operacional 4. A diversidade microbiana recuperada no R1 foi inferior a diversidade microbiana recuperada no R2. A imagem representada indica que a curva de rarefação para ASVs da comunidade microbiana atingiu o platô, demonstrando que as quantidades das sequências foram suficientes para manifestar a diversidade total do ambiente.

O Domínio Bacteria foi mais abundante em relação ao Domínio Archaea como pode ser observado na figura 53.

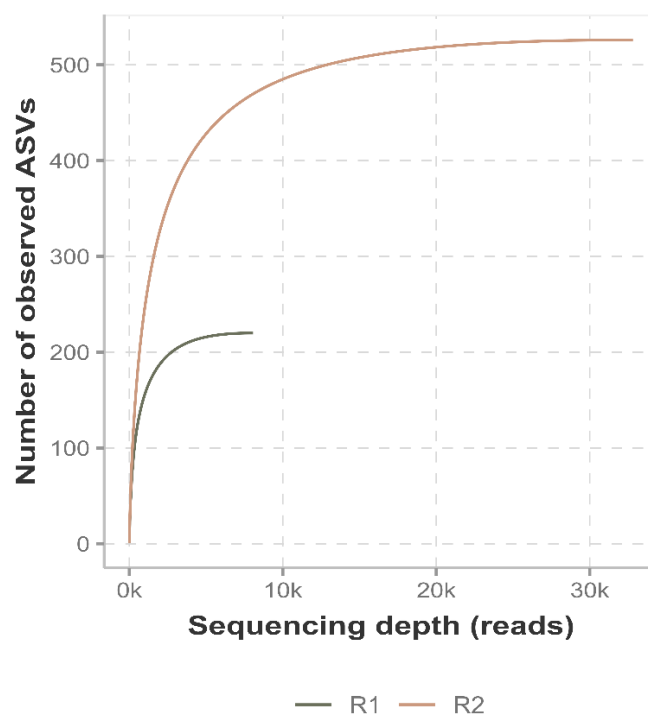


Figura 52. Curva de rarefação para ASVs da comunidade microbiana das amostras de lodo contidos nos reatores R1 e R2 coletados ao final da fase 4.

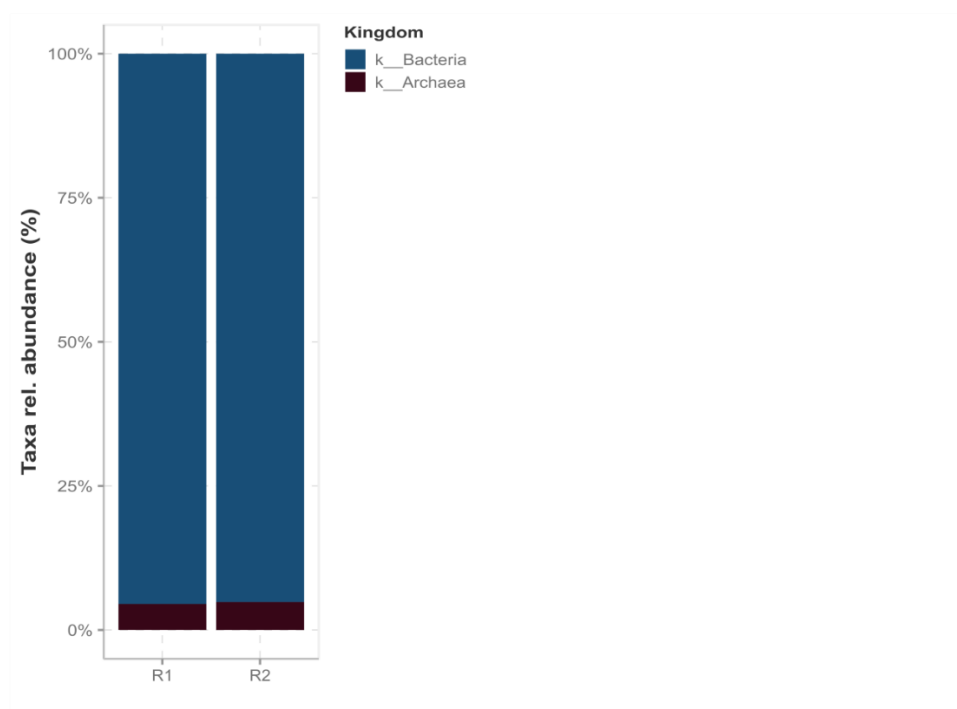


Figura 53. Perfil Taxonômico ao nível de Reino nos reatores anaeróbios, reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2).

O reator UASB (R1) apresentou menor diversidade de microrganismos nos Domínios Bacteria (12,1%) e Archaea (17,1%) quando comparado ao R2 com (64,1%) no Domínio Bacteria e (48,3%) no Domínio Archaea. A partir do diagrama de Venn foi possível observar que 23,8% dos microrganismos pertencentes ao Domínio Bacteria e 34,5% do Domínio Archaea são comuns aos dois reatores (Figura 53).

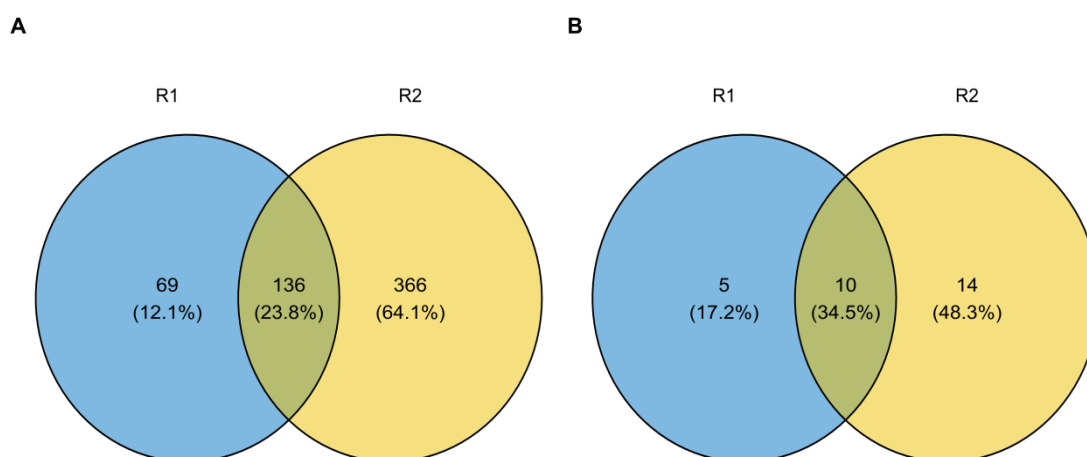


Figura 54. Diagrama de Venn - Diversidade de microrganismos nos reatores anaeróbios reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2) – A) representantes do Domínio Bacteria e B) representantes do Domínio Archaea.

A razão para a diferença de diversidade entre os reatores pode estar relacionada à disponibilidade e ao tipo de substrato estudado. A água residuária da bovinocultura leiteira contém frações lignocelulósicas de difícil degradação, sendo assim, a hidrólise é a fase mais afetada do processo de digestão e consequentemente interfere na comunidade microbiana presente no reator. Ademais, o reator UASB recebeu maior carga orgânica de 11,6g DQO total (L d)⁻¹ em comparação ao filtro anaeróbio, que operou com COV de 3,4 g DQO total (L d)⁻¹. Apesar da menor diversidade, o reator UASB apresentou melhores eficiências de remoção de matéria orgânica e produção de metano, indícios de adequada relação sintrófica entre bactérias acetogênicas sintróficas e arqueas consumidoras de hidrogênio.

Outra hipótese a ser considerada para a maior diversidade no filtro anaeróbio pode ser em virtude ao meio suporte presente no interior do filtro, o que permite a presença de diferentes microrganismos no biofilme e propicia a

retenção dos microrganismos oriundos do reator UASB.

Uma alta diversidade de microrganismos não significa maior estabilidade do sistema, a eficiência da digestão anaeróbia é dependente da comunidade microbiana ativa (Hori et al., 2006). O que implica dizer que dependendo das populações envolvidas no processo de digestão anaeróbia, um menor grupo pode ser mais eficiente e ativo nas rotas metabólicas do que um grupo mais diverso. Uma alta diversidade microbiana pode conter microrganismos que exerçam a mesma função metabólica.

Os microrganismos foram classificados em seus respectivos níveis taxonômicos que podem ser visualizados nas tabelas 22, 23 e na figura 54.

Tabela 22: Classificação dos principais grupos encontrados pela análise metagenômica nos diferentes reatores anaeróbios.

Domínio	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Etapas de degradação
Bacteria	Acidobacteriota	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	Acidogênese
	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidetes	<i>Macellibacteroides</i>	Acetogênese
		Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidetes vadinHA17	<i>Unclassified</i>	Acidogênese
		Bacteroidia	Sphingobacteriales	Lentimicrobiaceae	<i>Unclassified</i>	Acetogênese, Acidogênese
		Bacteroidia	Bacteroidales	Paludibacteraceae	<i>Paludibacter</i>	Hidrólise
		Bacteroidia	Rikenellaceae	Rikenellaceae	<i>Bact-08</i>	Acetogênese
		Bacteroidia	Bacteroidales	Sb-5	<i>Unclassified</i>	Hidrólise
		Bacteroidia	Bacteroidales	Tannerellaceae	<i>Macellibacteroides</i>	Acetogênese
		Bacteroidia	Bacteroidales	Prolixibacteraceae	<i>Unclassified</i>	Acidogênese
		Bacteroidia	Flavobacteriales	<i>Weeksellaceae</i>	<i>Cloacibacterium</i>	Hidrólise
	Chloroflexi	Anaerolinea	Anaerolineales	Anaerolineaceae	<i>Unclassified</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
	Desulfobacterota	Syntrophia	Syntrophales	Smithellaceae	<i>Smithella</i>	Acetogênese
		Syntrophorhabdia	Syntrophorhabdales	Syntrophorhabdaceae	<i>Syntrophorhabdus</i>	Acetogênese, Acidogênese
	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium_senso Stricto_13</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium sensu stricto 9</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium sensu stricto 1</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Proteiniclasticum</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Clostridia	Christensenellales	Christensenellaceae	<i>Christensenellaceae R-7</i>	Hidrólise
		Clostridia	Peptostreptococcales-Tissierellales	Peptostreptococcaceae	<i>Unclassified</i>	Acidogênese
		Clostridia	Oscillospirales	Hungateiclostridiaceae	<i>Unclassified</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	<i>Kurthia</i>	Acidogênese
		Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	<i>Solibacillus</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Bacilli	Exiguobacteriales	Exiguobacteraceae	<i>Exiguobacterium</i>	Hidrólise
		Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	<i>Lysinibacillus</i>	Hidrólise
		Syntrophomonadia	Syntrophomonadales	Syntrophomonadaceae	<i>Unclassified</i>	Acidogênese

	Hydrogenedentes	Hydrogenedentia	Hydrogenedentiales	Hydrogenedensaceae	Unclassified	Acetogênese
	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinitobacter</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
		Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia-Shigella</i>	-
		Betaproteobactérias	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Unclassified</i>	Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese
	Patescibacteria	Berkelbacteria	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>
	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Pedosphaerales	Pedosphaeraceae	<i>Unclassified</i>	Acidogênese
Archaea	Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	<i>Methanobacterium</i>	Metanogênese
		Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	<i>Methanobrevibacter</i>	Metanogênese
		Thermococci	Methanofastidiosales	Methanofastidiosaceae	<i>Candidatus Methanofastidiosum</i>	Metanogênese
	Halobacterota	Methanomicrobia	Methanomicrobiales	Methanoregulaceae	<i>Methanolinea</i>	Metanogênese
		Methanomicrobia	Methanomicrobiales	Methanoregulaceae	<i>Methanoregula</i>	Metanogênese
		Methanosarcinia	Methanosarciniales	Methanosaetaceae	<i>Methanosaeta</i>	Metanogênese
		Methanosarcinia	Methanosarciniales	Methanosarcinaceae	<i>Methanosarcina</i>	Metanogênese
	Crenarchaeota	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	Metanogênese
	Nanoarchaeota	Nanoarchaeia	Woesearchaeales	SCGC AAA011-D5	<i>Unclassified</i>	Metanogênese
		Nanoarchaeia	Woesearchaeales	GW2011_GWC1_47_15	<i>Unclassified</i>	Metanogênese
	Thermoplasmatota	Thermoplasmata	Methanomassiliicoccales	Methanomassiliicoccaceae	<i>Methanomassiliicoccus</i>	Metanogênese
		Thermoplasmata	Methanomassiliicoccales	Methanomassiliicoccaceae	<i>Unclassified</i>	Metanogênese

Tabela 23. Abundância relativa (%) bacteriana dos principais filios verificados no lodo contido no sistema identificados no lodo dos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Reino	Filo	R1	R2	Reino	Filo	R1	R2
k__Bacteria	p__Proteobacteria	41,07%	33,06%	k__Bacteria	p__Caldatribacteriota	0,04%	0,08%
k__Bacteria	p__Bacteroidota	23,55%	23,40%	k__Bacteria	p__Calditrichota	0,00%	0,08%
k__Bacteria	p__Firmicutes	23,86%	23,37%	k__Bacteria	p__Sva0485	0,00%	0,07%
k__Bacteria	p__Chloroflexi	3,16%	4,69%	k__Bacteria	p__Bdellovibrionota	0,00%	0,05%
k__Bacteria	p__Desulfobacterota	2,06%	4,22%	k__Bacteria	p__Bdellovibrionota	0,00%	0,05%
k__Bacteria	p__Acidobacteriota	1,18%	2,42%	k__Bacteria	p__Bdellovibrionota	0,00%	0,05%
k__Bacteria	p__Patescibacteria	1,05%	1,47%	k__Bacteria	p__NKB15	0,00%	0,04%
k__Bacteria	p__Verrucomicrobiota	0,93%	1,47%	k__Bacteria	p__NKB15	0,00%	0,04%
k__Bacteria	p__Hydrogenedentes	0,56%	1,12%	k__Bacteria	p__NKB15	0,00%	0,04%
k__Bacteria	p__Cloacimonadota	0,55%	0,64%	k__Bacteria	p__Zixibacteria	0,00%	0,03%
k__Bacteria	p__Fermentibacterota	0,53%	0,55%	k__Bacteria	p__Zixibacteria	0,00%	0,03%
k__Bacteria	p__Spirochaetota	0,35%	0,48%	k__Bacteria	p__Zixibacteria	0,00%	0,03%
k__Bacteria	p__Actinobacteriota	0,08%	0,44%	k__Bacteria	p__MBNT15	0,00%	0,02%
k__Bacteria	p__Armatimonadota	0,14%	0,40%	k__Bacteria	p__Myxococcota	0,00%	0,02%
k__Bacteria	p__Planctomycetota	0,09%	0,34%	k__Bacteria	p__WS1	0,00%	0,02%
k__Bacteria	p__SAR324 clade (Marine group B)	0,03%	0,33%	k__Bacteria	p__Fibrobacterota	0,06%	0,02%
k__Bacteria	p__Synergistota	0,23%	0,30%	k__Bacteria	p__WS4	0,00%	0,01%
k__Bacteria	p__Caldisericota	0,00%	0,18%	k__Bacteria	p__Sumerlaeota	0,00%	0,01%
k__Bacteria	p__Cyanobacteria	0,17%	0,17%	k__Bacteria	p__WS4	0,00%	0,01%
k__Bacteria	p__Dependentiae	0,12%	0,16%	k__Bacteria	p__Sumerlaeota	0,00%	0,01%
k__Bacteria	p__Unclassified	0,08%	0,16%				
k__Bacteria	p__Fibrobacterota	0,06%	0,02%				
k__Bacteria	p__Latescibacterota	0,05%	0,06%				
k__Bacteria	p__Thermotogota	0,05%	0,11%				

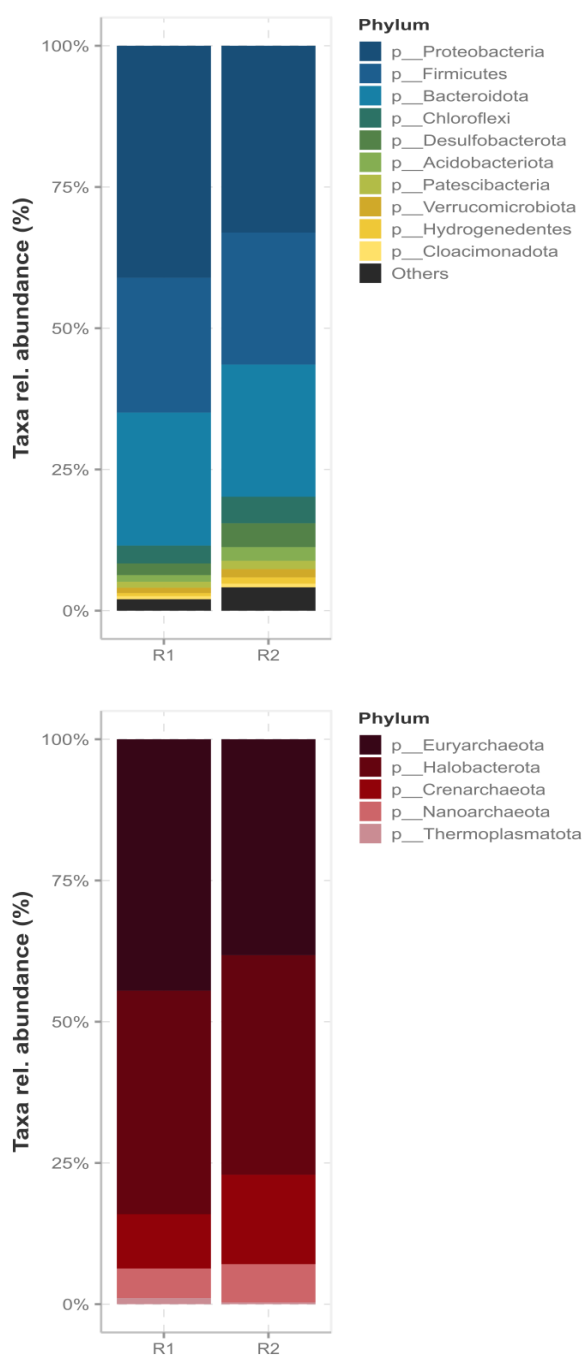


Figura 55. Filos microbianos dos Domínios (Bacteria e Archaea) nas amostras de lodo dos reatores UASB (R1) e filtro anaeróbio (R2).

Os principais filos do Domínio Bacteria observados no estudo foram Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidota, que representaram 88,48% e 79,83% dos microrganismos no R1 e R2, respectivamente (Tabela 23). Em menor proporção, estão os filos Acidobacteriota, Cloacimonetes, Chloroflexi, Desulfobacteriota, hydrogenedentes, Patescibacteria e Verrucomicrobiota, já

para o Domínio Archaea os filos mais abundantes foram Euryarchaeota, Halobacterota que representaram 84,07% e 77,09 % das arqueas no R1 e R2, respectivamente. Os menos abundantes foram Crenarchaeota, Nanoarchaeota e Thermoplasmota (Tabelas 22 e 23; Figuras 54 e 55).

Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores no tratamento de água residuária (Wang et al., 2012; Okada, 2012; Sundberg et al., 2013; Palakawong et al., 2019; Beraud-Martínez et al., 2020). A predominância desses filos está de acordo com outros trabalhos que investigam a população microbiana em reatores anaeróbios que produzem metano.

Na categoria outros, o percentual de gêneros do Domínio Bacteria inferior a 1% e não identificados representou 31,43% no reator UASB (R1) e 39,12% no filtro anaeróbio (R2), do total sequenciado.

Jami et al. (2013) e Thoetkiattikul et al. (2013) relataram Firmicutes, Bacteroidota e Proteobacteria como os filos dominantes da comunidade bacteriana ruminal. Proteobacteria tornou-se o filo mais abundante em amostras de animais adultos. A dominância de Firmicutes e Proteobacteria pode ser atribuída à sua dominância em intestinos de mamíferos (Mu et al., 2018).

A abundância dos filos Proteobacteria, Firmicutes, Euryarchaeota e Bacteroidota em reatores anaeróbios tratando diferentes substratos (resíduos de cervejaria; resíduos de farinha de milho; esterco animal e sedimento estuarino) foram observados como os filos mais abundantes em todas as análises metagenômicas estudadas por Martínez et al. (2020). Wo et al. (2013) relataram a predominância dos filos Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes em lodo de biorreator tratando esgoto sanitário.

Vendruscolo et al. (2020) observou a predominância dos filos Firmicutes e Proteobacteria em uma usina de biogás mesofílica tratando esterco bovino com um tempo de detenção hidráulica de 33 dias. Os mesmos filos foram os mais abundantes no referido estudo (Figura 54). Os reatores operaram em temperatura mesofílica com TDH de 36 horas. A abundância desses filos parece ser preferencial na digestão anaeróbia de resíduos ricos em matéria orgânica.

Luo e Angelidaki (2014) observaram que a composição da comunidade bacteriana no afluente foi alterada após a digestão anaeróbia. Os autores relataram maior abundância de Proteobacteria na amostra afluente do reator anaeróbio tratando dejetos de animais em comparação ao efluente tratado. A mesma tendência foi observada neste estudo, a abundância do filo Proteobacteria diminuiu do reator UASB (R1) para o filtro anaeróbio (R2). Essa observação implica dizer que no (R1) bactérias hidrolíticas estavam presentes em maior abundância. Proteobacterias desempenham um papel ativo na hidrólise (Chen et al., 2016) e são comumente encontradas em sistemas de digestão anaeróbia e responsáveis por fornecer substratos para a posterior produção de metano (Xiang et al., 2019).

O filo bacteroidota assim como Firmicutes são conhecidos por sua versatilidade em degradar compostos orgânicos complexos (Garcia-Peña et al., 2011; Kadnikov et al., 2013; Kougias et al., 2018), além de proteínas e lipídios (Yao et al., 2019).

A associação dos Bacteroidota com Firmicutes envolvem a degradação da biomassa vegetal presente no esterco bovino (De Francisci et al., 2015; Luo et al., 2015), e participam da fermentação de aminoácidos que resultam na produção de acetato para posteriormente serem utilizados pelas metanogênicas acetoclásticas (Okabe et al., 2007). A abundância de ambos os filos nos reatores anaeróbios, durante a fase 4, se manteve em equilíbrio com taxas na ordem de 23,55 e 23,40% para Bacteroidotas e 23,86 e 23,37% para Firmicutes nos reatores R1 e R2, respectivamente. A presença desses filos durante a digestão anaeróbia indica que microrganismos capazes de degradar compostos complexos estavam presentes na digestão anaeróbia do esterco bovino, contribuindo para a estabilidade do sistema e produção de metano.

O filo Firmicutes observado no estudo foi diversificado representado por membros da classe Clostridia. A mesma diversidade foi identificada em reator anaeróbio tratando esterco bovino (Treu et al., 2016). Membros desse filo degradam proteínas, lipídeos e carboidratos complexos. Sua abundância é constantemente relatada em reatores anaeróbios (Kröber et al., 2009; Sundberg et al., 2013; Luo; Angelidaki, 2014), já que estão envolvidos na degradação da matéria orgânica. São predominantes em esgoto bruto (Ma et al., 2013), considerados dominantes na comunidade microbiana celulolítica em

aterros sanitários (Jones et al., 2017) e em reatores mesofílicos tratando dejetos de animais e resíduos orgânicos (Sundberg et al., 2013). Palakawong et al. (2019) Identificaram maior abundância de firmicutes na digestão anaeróbia de amostras fecais de um roedor (*Cavia porcellus*) alimentado com uma dieta a base de grama.

A Classe Clostridia, assim como a ordem Clostridiales (R1 6,60%; R2 7,84%), foram mais abundantes no filtro anaeróbio (R2) representando 16,7% do total de microrganismos, enquanto no (R1) foi de 13,8%. A abundância da classe clostridia também foi observada durante a digestão anaeróbia de esterco (Luo et al., 2016). Burrell et al. (2004) identificaram a presença de Clostridia na superfície de material celulolítico como degradador de celulose. A maior presença da classe Clostridia no R2 pode ser em virtude do material lignocelulósico não totalmente digerido no R1 em decorrência do TDH aplicado, sendo assim, grande parte do material fibroso remanescente no efluente foi direcionado ao reator R2. Schnürer e Nordberg (2008) relataram a presença de representantes da ordem Clostridiales na oxidação sintrófica do acetato em hidrogênio e dióxido de carbono. Organismos pertencentes à ordem Clostridiales estão envolvidos com a atividade fermentativa. Em geral, esses organismos são encontrados em reatores anaeróbios que tratam substratos ricos em carboidratos complexos por meio do seu complexo de enzimas que degradam substâncias celulolíticas (Solli et al., 2014; Dubey et al., 2014; Campanaro et al., 2018). Microrganismos Clostridiales estão envolvidos na hidrólise, acidogênese e acetogênese, e são frequentemente identificados em digestores estáveis (Wu et al., 2016).

A degradação da biomassa lignocelulósica pode ser considerada uma etapa limitante durante a digestão anaeróbia, o conhecimento a respeito da comunidade microbiana envolvida nesse processo é fundamental para aprimorar o desempenho do sistema de tratamento nas condições impostas.

A identificação de espécies de Firmicutes corrobora com o estudo de Edwards et al. (2004) sendo um dos filos dominantes na degradação de biomassa vegetal como o esterco bovino. Representantes do filo Firmicutes estão envolvidos na degradação do material celulósico (Ze et al., 2015) por meio da liberação de enzimas ligninolíticas (lacase) (Lage e Bondoso, 2014),

além de desempenharem papel sintrófico na remoção de hidrogênio e na composição da comunidade metanogênica (Garcia-peña et al., 2011).

Fonseca et al. (2021) observaram a presença de representantes do filo Firmicutes como fermentador de resíduo lignocelulósico. Lee et al. (2020) identificaram genes no fluido ruminal de vacas que codificam a celulase e a hemicelulase principalmente em *Ruminococcus* e *Clostridium*, pertencentes a classe clostridia.

O filo Chloroflexi, classe Anaerolineae, ordem Anaerolineales foi identificado em ambos os reatores anaeróbios (R1 – 3,16%; R2 – 4,69%). Entretanto, mais abundante no filtro anaeróbio (R2). São organismos que utilizam carboidratos, aminoácidos ou peptídeos e estão envolvidos na degradação de carboidratos e proteínas (Ariesyady et al., 2007). De acordo com Zamanzadeh et al. (2016) é comum encontrar representantes desse filo em reatores com baixas concentrações de amônia (284 mg L^{-1}). A concentração de amônia observada nos reatores não ultrapassou 110 mg L^{-1} . Esse grupo de microrganismos é comum na microbiota de plantas de biogás, além de desempenharem papéis importantes na hidrólise e na acidogênese, e algumas espécies pertencentes a essa classe foram relatadas como tendo associações sintróficas com metanogênicas hidrogenotróficas (St-Pierre e Wright, 2014). Em menor abundância foram identificados os filos desulfobacteria, Acidobacteria, patescibacteria, verrucomicrobiota, Hydrogenedentes e Cloacimonadota. Desulfobacterota foi mais abundante no filtro anaeróbio (R2). Esses organismos são considerados fermentativos e sintróficas redutoras de sulfato (Liu et al., 1999). A interação sintrófica entre arqueias metanogênicas e BRS (grupo de bactérias fisiologicamente versáteis, não restritas à redução de sulfato) favorece o equilíbrio entre a formação de hidrogênio durante a oxidação dos ácidos graxos voláteis e seu consumo pelas metanogênicas (Westerholm et al., 2019). Não foi observado durante o estudo o acúmulo de ácidos durante a digestão anaeróbia, o que evidencia o equilíbrio entre os microrganismos presentes nos reatores R1 e R2.

Acidobacteria e Verrucomicrobia são filos de microrganismos que dominam as comunidades bacterianas do solo (Chaudhary et al., 2019). Os filos foram mais abundantes no R2. Indícios que a fração da água residuária de difícil degradação estava presente em maior concentração neste reator. Já que

esses microrganismos estão envolvidos na produção de enzimas que degradam carboidratos, celulose, hemiceluloses, pectina, amido, aminoácidos, álcoois e intermediários metabólicos (Belova et al., 2018). Liu et al. (2014) relataram a dominância desses filos em campos de arroz cobertos por palhas em comparação com outras áreas que não receberam (Liu et al., 2014).

A abundância dos filos Hydrogenedentes, Patescibacteria e Cloacimonadota foi inferior a 3,5% em ambos os reatores anaeróbios. Hydrogenedentes está associado à degradação sintrofica de glicerol e lipídios derivados da biomassa detritica (Nobu et al., 2015). Representantes do filo Patescibacteria ainda não são bem conhecidos, mas é um grupo considerado diverso, incluindo numerosos metabolismos e filogenias (Lemos et al., 2019).

A família Moraxellaceae representou 36,11% no R1 e 28,11% no R2. A maior abundância da Classe Gammaproteobacteria (família Moraxellaceae) no R1 (Fig. 56) corrobora com a ideia de que o R1 foi mais hidrolítico que o R2, já que esses organismos estão relacionados com a produção de enzimas hidrolíticas (Dubey et al., 2014; Bassani et al., 2015) (Tabela 24 e figura 55).

A família Clostridiaceae apresentou maior abundância no R2 (8,24%) em comparação ao R1 (6,95%). São microrganismos frequentemente encontrados em reatores anaeróbios, são bastante diversificados com diferentes funções metabólicas como degradar proteínas, lipídeos, carboidratos complexos e na degradação da lignocelulose por meio da liberação da enzima endoglucanase que atua no complexo celulolítico (Deng et al., 2017; Zhang e Angelidaki et al., 2014). Clostridiaceae são comumente encontrados no lodo de reatores anaeróbios tratando esterco bovino (Liu et al., 2018).

A maior abundância da família Planococcaceae foi observada no reator UASB (R1) com 6,20% em comparação ao filtro anaeróbio R2 (3,24%). Bactérias da família Planococcaceae representam até 18% da população bacteriana fecal em bovinos (Mao et al., 2012), o que sugere a presença dessa família no intestino de bovinos, além de participarem da degradação da matéria orgânica (Sun et al., 2017). O reator UASB recebeu maior carga orgânica, o que explica a maior presença dessas bactérias nesse reator, já o R2 recebeu o efluente do R1 contendo a matéria orgânica de difícil degradação.

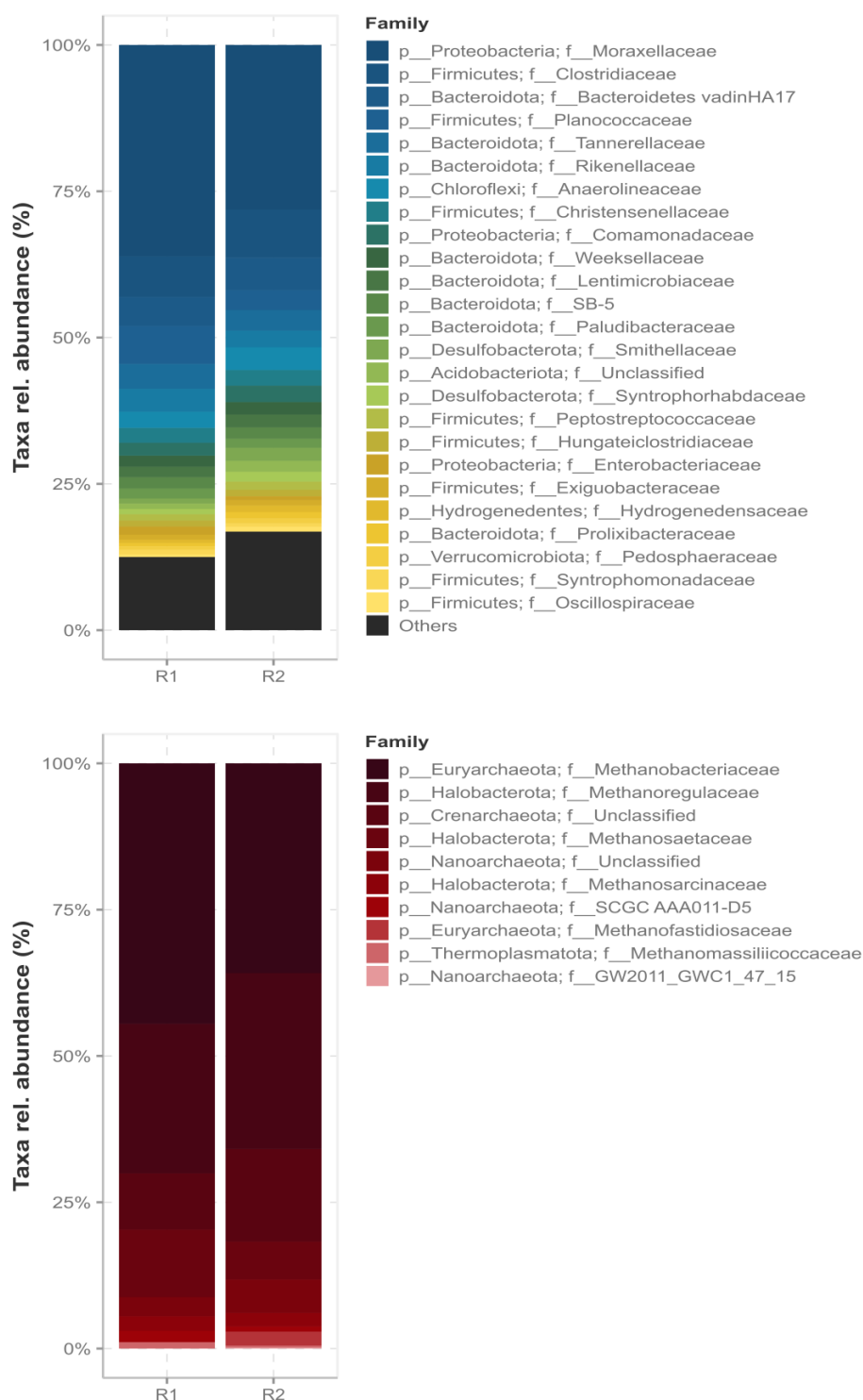


Figura 56. Perfil taxonômico ao nível de Família nos reatores anaeróbios R1 e R2. Representando as famílias mais abundantes do Domínio Bacteria (primeira figura) e todas as famílias identificadas do Domínio Archaea (segunda figura). Táxons de menor abundância estão na categoria 'Others'.

Tabela 24. Abundância relativa (%) bacteriana das principais famílias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Família	R1	R2	Família	R1	R2	Família	R1	R2
f__Moraxellaceae	36,11%	28,11%	f__Hydrogenedensaceae	0,56%	1,12%	f__Unclassified	0,17%	0,17%
f__Clostridiaceae	6,95%	8,24%	f__Prolixibacteraceae	0,56%	1,09%	f__Unclassified	0,17%	0,16%
f__Planococcaceae	6,49%	3,40%	f__Fermentibacteraceae	0,53%	0,55%	f__Unclassified	0,16%	0,27%
f__Bacteroidetes vadinHA17	4,95%	5,55%	f__Sedimentibacteraceae	0,52%	0,40%	f__Unclassified	0,16%	0,20%
f__Tannerellaceae	4,27%	3,52%	f__Unclassified	0,51%	0,61%	f__Unclassified	0,14%	0,40%
f__Rikenellaceae	3,92%	2,84%	f__Erysipelotrichaceae	0,49%	0,63%	f__Unclassified	0,14%	0,23%
f__Anaerolineaceae	2,75%	3,89%	f__Ruminococcaceae	0,48%	0,67%	f__Unclassified	0,14%	0,11%
f__Christensenellaceae	2,54%	2,66%	f__Oscillospiraceae	0,44%	0,82%	f__Sporomusaceae	0,13%	0,08%
f__Comamonadaceae	2,21%	2,82%	f__M2PB4-65 termite group	0,40%	0,27%	f__Pseudomonadaceae	0,12%	0,13%
f__SB-5	1,92%	1,92%	f__Spirochaetaceae	0,35%	0,45%	f__Unclassified	0,12%	0,12%
f__Weeksellaceae	1,88%	2,14%	f__Caulobacteraceae	0,34%	0,29%	f__Unclassified	0,12%	0,07%
f__Lentimicrobiaceae	1,79%	2,19%	f__Prevotellaceae	0,31%	0,13%	f__Peptococcaceae	0,10%	0,12%
f__Paludibacteraceae	1,71%	1,57%	f__Lachnospiraceae	0,30%	0,32%	f__Unclassified	0,10%	0,09%
f__Enterobacteriaceae	1,39%	0,65%	f__Unclassified	0,29%	0,21%	f__BSV40	0,10%	0,04%
f__Peptostreptococcaceae	1,06%	1,42%	f__Unclassified	0,27%	0,27%	f__Unclassified	0,09%	0,03%
f__Hungateiclostridiaceae	1,04%	1,10%	f__Sphingomonadaceae	0,26%	0,22%	f__Flavobacteriaceae	0,09%	0,13%
f__Unclassified	0,91%	1,87%	f__Unclassified	0,25%	0,52%	f__Unclassified	0,08%	0,10%
f__Syntrophorhabdaceae	0,91%	1,68%	f__Synergistaceae	0,23%	0,30%	f__Unclassified	0,08%	0,09%
f__Smithellaceae	0,87%	2,22%	f__Syntrophaceae	0,23%	0,25%	f__Dietziaceae	0,08%	0,00%
f__Exiguobacteraceae	0,86%	0,92%	f__[Eubacterium] coprostanoligenes group	0,23%	0,21%	f__Unclassified	0,08%	0,16%
f__Syntrophomonadaceae	0,79%	0,60%	f__Unclassified	0,22%	0,15%	f__Anaerovoracaceae	0,06%	0,39%
f__Xanthomonadaceae	0,65%	0,44%	f__Sphingobacteriaceae	0,22%	0,15%	f__Unclassified	0,06%	0,14%
f__Pedosphaeraceae	0,61%	0,84%	f__Unclassified	0,21%	0,09%	f__Unclassified	0,06%	0,07%
f__Acidaminococcaceae	0,61%	0,45%	f__Unclassified	0,19%	0,38%	f__Unclassified	0,06%	0,04%
f__Dysgonomonadaceae	0,60%	0,59%	f__Unclassified	0,19%	0,16%	f__AKAU3564 sediment group	0,06%	0,04%

f__Unclassified	0,06%	0,10%	f__Unclassified	0,00%	0,09%	f__Desulfatiglandaceae	0,00%	0,04%
f__CAP-aah99b04	0,06%	0,00%	f__Vermiphilaceae	0,00%	0,09%	f__SR-FBR-L83	0,00%	0,04%
f__BBMC-4	0,06%	0,00%	f__Unclassified	0,00%	0,09%	f__Unclassified	0,00%	0,04%
f__Butyricicoccaceae	0,05%	0,11%	f__Unclassified	0,00%	0,08%	f__Unclassified	0,00%	0,04%
f__Kosmotogaceae	0,05%	0,11%	f__Calditrichaceae	0,00%	0,08%	f__Devosiaceae	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,05%	0,06%	f__Unclassified	0,00%	0,08%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,05%	0,05%	f__Unclassified	0,00%	0,08%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Muribaculaceae	0,05%	0,03%	f__Rhodobacteraceae	0,00%	0,07%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,05%	0,00%	f__Unclassified	0,00%	0,07%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,05%	0,00%	f__Unclassified	0,00%	0,07%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,04%	0,16%	f__GZKB124	0,00%	0,07%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Caldatrichaceae	0,04%	0,07%	f__Fusibacteraceae	0,00%	0,07%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,04%	0,07%	f__Bacteroidaceae	0,00%	0,06%	f__SHA-41	0,00%	0,03%
f__MSBL8	0,04%	0,01%	f__BSV26	0,00%	0,06%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,03%	0,33%	f__SM23-30	0,00%	0,06%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,03%	0,04%	f__Unclassified	0,00%	0,06%	f__CPla-3 termite group	0,00%	0,03%
f__Unclassified	0,03%	0,03%	f__Unclassified	0,00%	0,06%	f__Unclassified	0,00%	0,03%
f__WD2101 soil group	0,03%	0,02%	f__Coxiellaceae	0,00%	0,05%	f__Unclassified	0,00%	0,02%
f__Omnitrophaceae	0,03%	0,01%	f__MSB-3C8	0,00%	0,05%	f__Family XI	0,00%	0,02%
f__Spirosomaceae	0,03%	0,00%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Unclassified	0,00%	0,02%
f__Alicyclobacillaceae	0,03%	0,00%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Leptospiraceae	0,00%	0,02%
f__UCG-010	0,03%	0,00%	f__Holophagaceae	0,00%	0,04%	f__Unclassified	0,00%	0,02%
f__Caldiseriaceae	0,00%	0,18%	f__Saccharimonadaceae	0,00%	0,04%	f__Chitinophagaceae	0,00%	0,02%
f__Unclassified	0,00%	0,16%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Unclassified	0,00%	0,02%
f__Corynebacteriaceae	0,00%	0,15%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Simkaniaceae	0,00%	0,02%
f__Unclassified	0,00%	0,02%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__p-251-o5	0,00%	0,02%
f__Unclassified	0,00%	0,02%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Bdellovibrionaceae	0,00%	0,02%
f__Unclassified	0,00%	0,14%	f__Unclassified	0,00%	0,04%	f__Coriobacteriales Incertae Sedis	0,00%	0,02%
f__Pirellulaceae	0,00%	0,12%	f__Rhizobiaceae	0,00%	0,04%	f__B122	0,00%	0,02%

f__Unclassified	0,00%	0,02%	f__Bacteriovoraceae	0,00%	0,01%
f__Xanthobacteraceae	0,00%	0,02%	f__Unclassified	0,00%	0,01%
f__Chlamydiaceae	0,00%	0,02%	f__Methylomonadaceae	0,00%	0,01%
f__Parachlamydiaceae	0,00%	0,01%	f__Unclassified	0,00%	0,01%
f__Geobacteraceae	0,00%	0,01%	f__Unclassified	0,00%	0,01%
f__Unclassified	0,00%	0,01%	f__Unclassified	0,00%	0,01%
f__Bifidobacteriaceae	0,00%	0,01%			
f__Blrii41	0,00%	0,01%			
f__Phaselicystidaceae	0,00%	0,01%			
f__Sumerlaeaceae	0,00%	0,01%			
f__Unclassified	0,00%	0,01%			
f__Unclassified	0,00%	0,01%			
f__Erysipelatoclostridiaceae	0,00%	0,01%			
f__Williamwhitmaniaceae	0,00%	0,01%			
f__Unclassified	0,00%	0,01%			
f__Beijerinckiaceae	0,00%	0,01%			
f__Mycobacteriaceae	0,00%	0,01%			
f__Bacteroidales UCG-001	0,00%	0,01%			
f__Cyclobacteriaceae	0,00%	0,01%			
f__Anaerofustaceae	0,00%	0,01%			
f__Hydrogenoanaerobacterium	0,00%	0,01%			
f__Unclassified	0,00%	0,01%			
f__Unclassified	0,00%	0,01%			

Representantes da família Bacteroidetes vadinHA17 foram identificadas em ambos os reatores anaeróbios com 4,95% e 5,55% no R1 e R2, respectivamente. Representantes dessa família contêm espécies que fermentam carboidratos produzindo H₂, CO₂, vários ácidos graxos e álcoois (Ji et al., 2018). Baldwin et al. (2015) encontraram a ordem Bacteroidetes do grupo vadinHA17 em ambientes que sofrem degradação complexa de carbono, especialmente em amostras com quantidades relativamente altas de matéria orgânica recalcitrante. Wang et al. (2021) identificaram Bacteroidetes vadinHA17 correlacionada com mais de 15 espécies de metanogênicos. Liu et al. (2021) observou a abundância da família Bacteroidetes em sistemas de digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos contendo celulose, hemicelulose e lignina.

O gênero *Acinetobacter* (família Moraxellaceae, filo Proteobacteria) foi o mais expressivo dentro do filo Proteobacteria, esse gênero tem sido isolado na natureza em diferentes ambientes como no solo, água e ambientes secos (Dordet et al., 2006). Sua maior abundância foi observada no reator UASB R1 (36,11%) e pode estar associado à eficiência de remoção de matéria orgânica nesse reator, indícios que esses microrganismos participam efetivamente nas primeiras fases da digestão anaeróbia (Figura 56 e Tabela 25). *Acinetobacter* foi identificada como um microrganismo predominante na população microbiana presente no leite cru, no colostro de vacas leiteiras e na microbiota da glândula mamária (Wei et al., 2021; Xie et al., 2021; Vacheyrou et al., 2011). A abundância desse gênero no referido estudo pode indicar que *Acinetobacter* faz parte da microbiota comum de bovinos leiteiros.

Em um estudo realizado por Shchegolkova et al. (2016) *Acinetobacter* foi o gênero bacteriano mais abundante nas águas residuárias de esgoto sanitário, água residuária de refinaria rica em produtos petrolíferos e águas residuárias de matadouros contendo elevada concentração de matéria orgânica. São organismos resistentes a metais pesados como cobre, zinco, cádmio, mercúrio e chumbo (Irawati et al., 2017).

Os primeiros relatos da remoção de fósforo no tratamento de esgoto indicam o gênero *Acinetobacter* como um dos principais organismos envolvidos nesse processo (Fuhs e Chen 1975), são conhecidos como organismos acumuladores de fósforo

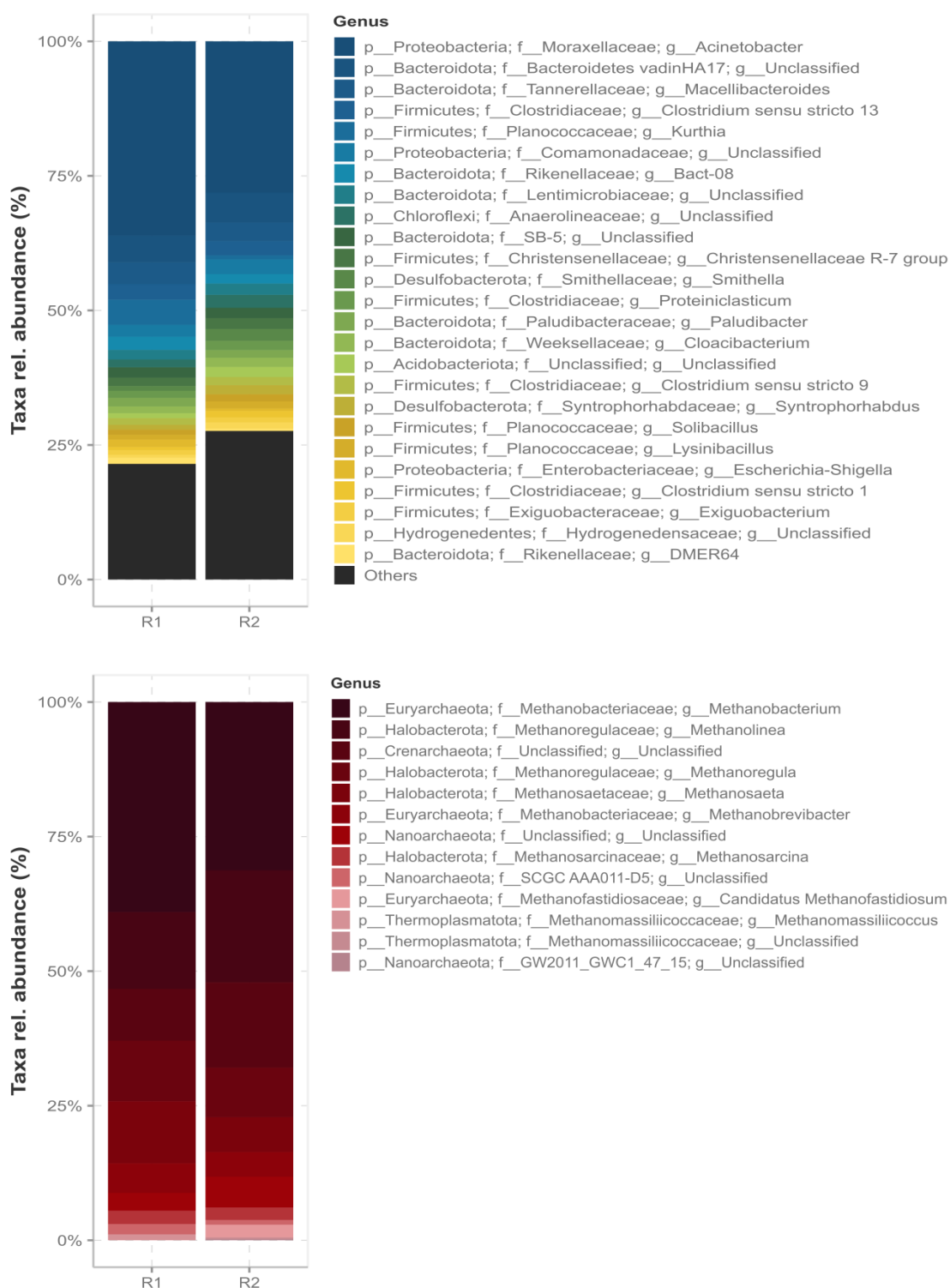


Figura 57. Perfil taxonômico colapsado ao nível de 'Gênero'. Representando os gêneros mais abundantes de bactérias (primeira figura) e todos os gêneros identificados de arqueias (segunda figura). Táxons de menor abundância estão colapsados na categoria 'Others'.

Tabela 25. Abundância relativa (%) bacteriana dos principais gêneros verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Gêneros	R1	R2	Gêneros	R1	R2	Gêneros	R1	R2
g__Acinetobacter	36,11%	28,11%	g__ADurb.Bin063-1	0,57%	0,81%	g__Pygmaibacter	0,23%	0,44%
g__Unclassified	4,95%	5,55%	g__Unclassified	0,56%	1,12%	g__Thermomonas	0,22%	0,17%
g__Kurthia	4,66%	0,77%	g__Unclassified	0,56%	0,87%	g__Sphingobacterium	0,22%	0,15%
g__Macellibacteroides	4,08%	3,46%	g__Unclassified	0,53%	0,55%	g__Unclassified	0,22%	0,15%
g__Clostridium sensu stricto 13	2,90%	2,65%	g__Sedimentibacter	0,52%	0,40%	g__XBB1006	0,21%	0,13%
g__Bact-08	2,44%	1,77%	g__Unclassified	0,51%	0,61%	g__Unclassified	0,21%	0,09%
g__Unclassified	2,21%	2,71%	g__Clostridium sensu stricto 7	0,47%	0,50%	g__Succinilasticum	0,19%	0,17%
g__Unclassified	1,92%	1,92%	g__Flexilinea	0,45%	0,33%	g__Unclassified	0,19%	0,16%
g__Unclassified	1,79%	2,09%	g__Leptolinea	0,44%	0,64%	g__Unclassified	0,19%	0,11%
g__Paludibacter	1,58%	1,44%	g__Chryseobacterium	0,44%	0,27%	g__Unclassified	0,19%	0,38%
g__Christensenellaceae R-7 group	1,56%	2,01%	g__Stenotrophomonas	0,43%	0,24%	g__NK4A214 group	0,19%	0,29%
g__Unclassified	1,44%	2,40%	g__Unclassified	0,42%	0,18%	g__Unclassified	0,17%	0,17%
g__Escherichia-Shigella	1,39%	0,49%	g__Unclassified	0,40%	0,27%	g__Unclassified	0,17%	0,16%
g__Proteiniclasticum	1,34%	1,70%	g__Clostridium sensu stricto 10	0,35%	0,44%	g__Acetoanaerobium	0,16%	0,37%
g__Cloacibacterium	1,26%	1,70%	g__Brevundimonas	0,34%	0,29%	g__Unclassified	0,16%	0,20%
g__Clostridium sensu stricto 9	1,25%	1,52%	g__Erysipelothrix	0,32%	0,40%	g__Unclassified	0,16%	0,27%
g__DMER64	1,13%	0,46%	g__Proteiniphilum	0,31%	0,28%	g__Bellilinea	0,14%	0,19%
g__Solibacillus	0,92%	1,33%	g__Petrimonas	0,29%	0,26%	g__Unclassified	0,14%	0,11%
g__Unclassified	0,92%	0,65%	g__Unclassified	0,29%	0,21%	g__Unclassified	0,14%	0,23%
g__Unclassified	0,91%	1,87%	g__Romboutsia	0,27%	0,23%	g__Anaerofilum	0,14%	0,01%
g__Lysinibacillus	0,91%	1,30%	g__Unclassified	0,27%	0,27%	g__Unclassified	0,14%	0,40%
g__Syntrophorhabdus	0,91%	1,68%	g__Anaerolinea	0,27%	0,25%	g__Unclassified	0,13%	0,11%
g__Smithella	0,87%	2,22%	g__Unclassified	0,25%	0,52%	g__Unclassified	0,13%	0,08%
g__Exiguobacterium	0,86%	0,92%	g__U29-B03	0,25%	0,23%	g__Spirochaeta	0,12%	0,21%
g__Saccharofermentans	0,84%	0,24%	g__Treponema	0,23%	0,16%	g__Chishuiella	0,12%	0,12%
g__Syntrophomonas	0,79%	0,60%	g__Syntrophus	0,23%	0,25%	g__Pseudomonas	0,12%	0,13%
g__Terrisporobacter	0,64%	0,51%	g__Sphingobium	0,23%	0,12%	g__Unclassified	0,12%	0,46%
g__Clostridium sensu stricto 1	0,58%	1,21%	g__Unclassified	0,23%	0,21%	g__Prevotella_7	0,12%	0,08%
g__Unclassified	0,12%	0,07%	g__Sporobacter	0,05%	0,15%	g__Sporacetigenium	0,00%	0,15%
g__Unclassified	0,12%	0,18%	g__Mesotoga	0,05%	0,11%	g__Acetivibrio	0,00%	0,15%

g__Unclassified	0,12%	0,12%	g__UCG-009	0,05%	0,11%	g__Corynebacterium	0,00%	0,15%
g__JGI-0000079-D21	0,12%	0,09%	g__Unclassified	0,05%	0,05%	g__BSV13	0,00%	0,13%
g__Unclassified	0,10%	0,12%	g__Unclassified	0,05%	0,06%	g__Clostridium sensu stricto 12	0,00%	0,11%
g__Parabacteroides	0,10%	0,06%	g__Unclassified	0,05%	0,03%	g__Aquabacterium	0,00%	0,11%
g__Unclassified	0,10%	0,04%	g__Unclassified	0,05%	0,00%	g__Aquabacterium	0,00%	0,11%
g__Unclassified	0,10%	0,09%	g__Unclassified	0,05%	0,00%	g__Ercella	0,00%	0,11%
g__Unclassified	0,09%	0,03%	g__Unclassified	0,05%	0,00%	g__Clostridium sensu stricto 16	0,00%	0,11%
g__Solobacterium	0,09%	0,08%	g__Acetitomaculum	0,05%	0,00%	g__Phascolarctobacterium	0,00%	0,10%
g__Prevotellaceae UCG-004	0,09%	0,00%	g__Unclassified	0,04%	0,16%	g__Proteocatella	0,00%	0,10%
g__Flavobacterium	0,09%	0,13%	g__Candidatus Caldatriebacterium	0,04%	0,07%	g__Lentimicrobium	0,00%	0,10%
			g__[Ruminococcus] gauvreauii group	0,04%	0,01%	g__Unclassified	0,00%	0,09%
g__Unclassified	0,09%	0,00%	g__Unclassified	0,04%	0,01%	g__Unclassified	0,00%	0,09%
g__Unclassified	0,08%	0,10%	g__Unclassified	0,04%	0,01%	g__Intestinimonas	0,00%	0,09%
g__Unclassified	0,08%	0,09%	g__Unclassified	0,04%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,09%
g__Unclassified	0,08%	0,13%	g__Unclassified	0,04%	0,07%	g__Unclassified	0,00%	0,09%
g__Ruminiclostridium	0,08%	0,09%	g__Unclassified	0,04%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,08%
g__Dietzia	0,08%	0,00%	g__Unclassified	0,03%	0,33%	g__Unclassified	0,00%	0,08%
g__Prevotella	0,08%	0,04%	g__Altererythrobacter	0,03%	0,05%	g__Longilinea	0,00%	0,08%
g__Unclassified	0,08%	0,16%	g__Unclassified	0,03%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,08%
g__Anaerovorax	0,06%	0,30%	g__Unclassified	0,03%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,08%
g__Unclassified	0,06%	0,14%	g__Unclassified	0,03%	0,02%	g__Gemmobacter	0,00%	0,07%
g__Unclassified	0,06%	0,07%	g__Unclassified	0,03%	0,01%	g__WCHB1-32	0,00%	0,07%
g__Unclassified	0,06%	0,10%	g__Runella	0,03%	0,00%	g__Candidatus Soleaferrea	0,00%	0,07%
g__Unclassified	0,06%	0,04%	g__Candidatus Omnitrophus	0,03%	0,01%	g__Unclassified	0,00%	0,07%
g__Unclassified	0,06%	0,04%	g__Angelakisella	0,03%	0,00%	g__Unclassified	0,00%	0,07%
g__Unclassified	0,06%	0,00%	g__Tumebacillus	0,03%	0,00%	g__Fusibacter	0,00%	0,07%
g__Moheibacter	0,06%	0,04%	g__[Anaerorhabdus] furcosa group	0,03%	0,00%	g__Bacteroides	0,00%	0,06%
g__Christensenella	0,06%	0,00%	g__Unclassified	0,03%	0,00%	g__UCG-005	0,00%	0,06%
g__Unclassified	0,06%	0,00%	g__Caldisericum	0,00%	0,18%	g__Unclassified	0,00%	0,06%
g__Clostridium sensu stricto 3	0,06%	0,00%	g__Klebsiella	0,00%	0,17%	g__Unclassified	0,00%	0,06%
g__Rikenellaceae RC9 gut group	0,06%	0,34%	g__Unclassified	0,00%	0,16%	g__Unclassified	0,00%	0,06%
g__Paeniclostridium	0,00%	0,06%	g__Sphingopyxis	0,00%	0,03%	g__Bifidobacterium	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,06%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__M2PT2-76 termite group	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,07%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,06%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Phaselicystis	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__p-1088-a5 gut group	0,00%	0,01%
g__UCG-002	0,00%	0,05%	g__Pseudoxanthomonas	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%

g__Unclassified	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Neochlamydia	0,00%	0,01%
g__Anaerobacterium	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Microbacter	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Coxiella	0,00%	0,05%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Anaerofustis	0,00%	0,01%
g__V9D2013 group	0,00%	0,05%	g__Aminivibrio	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Tissierella	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Pelolinea	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__RBG-16-49-21	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__DEV114	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Candidatus					
g__Unclassified	0,00%	0,04%	Anammoximicrobium	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Peredibacter	0,00%	0,01%
g__Desulfatiglans	0,00%	0,04%	g__Bdellovibrio	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Sandaracinobacter	0,00%	0,02%	g__Sphingomonas	0,00%	0,01%
g__Family XIII AD3011 group	0,00%	0,04%	g__Lactivibrio	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Ruminococcus	0,00%	0,02%	g__Edaphobaculum	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Mogibacterium	0,00%	0,01%
g__Pir4 lineage	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Candidatus Saccharimonas	0,00%	0,04%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Unclassified	0,00%	0,01%
g__Erysipelotrichaceae UCG-006	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Microvirga	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Aurantisolimonas	0,00%	0,01%
g__Unclassified	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Mycobacterium	0,00%	0,01%
g__Devosia	0,00%	0,03%	g__Unclassified	0,00%	0,02%	g__Sumerlaea	0,00%	0,01%

Muitos trabalhos evidenciam a presença desse gênero na remoção de fósforo em águas residuárias em condições anaeróbias (Kim, Pagilla 2003; Marchetto et al. 2003; Wang et al. 2008; Wu et al. 2009; Neto e Costa 2011; Yang et al., 2017). A relativa abundância de *Acinetobacter* durante o tratamento pode ser o motivo da elevada eficiência de remoção de fósforo no conjunto de reatores anaeróbios (R1+R2) de 67%, já que esta zona anaeróbia permite o desenvolvimento de ampla população desses organismos no sistema, os quais absorvem quantidades significativas de fósforo do meio.

O gênero *Kurthia* da família Planococcaceae (filo Firmicutes) foi identificado nos reatores anaeróbios (R1- 4,66%) e (R2 – 0,77%) (Tab. 25), sua presença foi mais abundante no R1, o que sugere sua participação na fase inicial da digestão. Bactérias do filo Firmicutes usam principalmente celulose, como sua principal fonte de carbono (Mao et al. 2018) e apresentam maior predominância em meio mais ácido (Mockaitis et al., 2020).

O gênero *Macellibacteroides* (filo Bacteroidota) foi identificado em ambos os reatores anaeróbios (R1 – 4,08%; R2 – 3,46%). Sua presença está associada à formação de ácidos na degradação da matéria orgânica (Zhang et al., 2022). O equilíbrio na abundância desse gênero em ambos os reatores indica a remoção de DQO inicial. Este grupo microbiano tem sido relatado como proeminente na degradação da matéria orgânica em reatores anaeróbios (Zhou et al., 2021).

O gênero *Clostridium sensu stricto* (filo Firmicutes), estritamente anaeróbio conhecido como produtor de hidrogênio (Kapdan e Kargi, 2006; Etchebehere et al., 2016; Aly et al., 2018; Hamilton et al., 2018; Fukuyama et al., 2020) foi identificado em ambos os reatores anaeróbios. A sintrofia desses microrganismos com as arqueias metanogênicas, que utilizam o H₂ para manter baixas concentrações no meio, propiciam a degradação de ácidos graxos gerados durante a digestão anaeróbia.

O filo Cloacimonodota participa da conversão de aminoácidos álcoois e açúcares em ácidos voláteis durante a digestão anaeróbia (Solli et al., 2014; Narihiro et al., 2015 ; Theuerl et al., 2018). Representantes desse filo podem oxidar sintroficamente propionato em H₂, CO₂ e acetato (Pelletier et al., 2008; Goux et al., 2015). Assim, a presença desse filo em ambos os reatores pode estar envolvida na acidogênese/acetogênese, já que os produtos metabólicos

gerados durante a digestão anaeróbia são substratos importantes para as metanogênicas.

O Domínio Archaea apresentou uma diversidade menos abundante que o Domínio Bacteria, compreendeu 4,35% no reator UASB (R1) e 4,86% no filtro anaeróbio (R2) dos microrganismos sequenciados. O filo Euryarchaeota foi o mais abundante no reator (R1) representou 44,51% do total do reino Archaea, já no R2 o filo mais abundante foi o Halobacterota (38,86%) (Tabela 26). Os demais filos encontrados foram Crenarchaeota com 9,62% e 15,82%, Nanoarchaeota com 5,22% e 6,78% e Thermoplasmota com 1,10% e 0,31% nos reatores anaeróbios R1 e R2 respectivamente.

Tabela 26. Abundância relativa (%) dos principais filos de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Reino	Filo	R1	R2
k__Archaea	p__Halobacterota	39,56%	38,86%
k__Archaea	p__Euryarchaeota	44,51%	38,23%
k__Archaea	p__Crenarchaeota	9,62%	15,82%
k__Archaea	p__Nanoarchaeota	5,22%	6,78%
k__Archaea	p__Thermoplasmatota	1,10%	0,31%

Em nosso estudo foram encontrados os gêneros metanogênicos *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanoregula*, *Methanolinea*, *Methanosaeta* e *Methanosarcina*. Hailu et al. (2021), Liu et al. (2017) e Wu et al. (2016) encontraram resultados semelhantes na digestão anaeróbia de efluentes de abatedouros de animais e resíduos sólidos de frutas/hortaliças, palha de milho e resíduos de frutas e vegetais, respectivamente.

Baseado no grupo de metanogênicos encontrados no referido estudo, a metanogênese ocorreu via acetoclástica, hidrogenotrófica e metilotrófica nos reatores anaeróbios.

A família Methanobacteriaceae foi a mais abundante nos reatores anaeróbios correspondendo a 44,51% no R1 e 35,84% no R2 (Tabela 27 e Figura 55). Seus representantes são metanogênicos hidrogenotróficos e sua abundância está relacionada à concentração de hidrogênio nos reatores (Su et al., 2019).

Tabela 27. Abundância relativa (%) das principais famílias de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Família	R1	R2
f__Methanobacteriaceae	44,51%	35,84%
f__Methanoregulaceae	25,55%	30,07%
f__Methanosaetaceae	11,54%	6,47%
f__Unclassified	9,62%	15,82%
f__Unclassified	3,30%	5,71%
f__Methanosarcinaceae	2,47%	2,32%
f__SCGC AAA011-D5	1,92%	0,88%
f__Methanomassiliicoccaceae	1,10%	0,31%
f__Methanofastidiosaceae	0,00%	2,39%
f__GW2011_GWC1_47_15	0,00%	0,19%

Methanobacterium (Família Methanobacteriaceae, filo Euryarchaeota) foi o gênero mais abundante observado nos reatores anaeróbios, 39,01% no R1 e 31,26% no R2. Esse gênero é amplamente encontrado no trato digestivo de ruminantes e está associado à emissão de metano durante os processos de fermentação entérica (Chellapandi et al., 2018) (Tabela 28 e Figura 54).

Tabela 28. Abundância relativa (%) dos principais gêneros de arqueias verificadas no lodo de inóculo contido nos reatores anaeróbios (R1) e (R2).

Gênero	R1	R2
g__Methanobacterium	39,01%	31,26%
g__Methanolinea	14,29%	20,84%
g__Methanosaeta	11,54%	6,47%
g__Methanoregula	11,26%	9,23%
g__Unclassified	9,62%	15,82%
g__Methanobrevibacter	5,49%	4,58%
g__Unclassified	3,30%	5,71%
g__Methanosarcina	2,47%	2,32%
g__Unclassified	1,92%	0,88%
g__Methanomassiliicoccus	1,10%	0,00%
g__Candidatus Methanofastidiosum	0,00%	2,39%
g__Unclassified	0,00%	0,31%
g__Unclassified	0,00%	0,19%

A elevada abundância desse filo pode ser consequência da utilização do esterco fresco durante o período experimental. *Methanobacterium* parece estar envolvido no processo de granulação do lodo anaeróbio, ocasionando decantabilidade e alta concentração de biomassa, devido à quantidade excessiva de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) excretadas por esses microrganismos (Torres et al., 2018). Martins et al. (2016) relataram que reatores operando com alta COV resultam na aceleração da hidrólise e acidogênese, induzindo o desenvolvimento seletivo de bactérias sintróficas produtoras de hidrogênio e metanogênicas hidrogenotróficas. As condições operacionais durante a fase 4 podem ter alterado a rota para produção de metano prevalecendo a metanogênese hidrogenotrófica. Liu et al (2018) relataram a abundância de *Methanobrevibacter* em esterco de vaca fresco. Os autores observaram alteração do gênero *Methanobrevibacter* para *Methanobacterium* no esterco armazenado após 20 dias.

No referido estudo foi observado maior abundância de *Methanobacterium* no esterco armazenado por 5 dias. *Methanobrevibacter* esteve presente em ambos os reatores anaeróbios com 5,49% no R1 e 4,58% no R2, compartilham a mesma função ecológica que *Methanobacterium*, ou seja, são metanogênicos hidrogenotróficos (Martin Vincente et al., 2018).

O gênero *Candidatus-metanofastidios* (Família Methanobacteriaceae, filo Euryarchaeota) foi detectado somente no R2 (2,39%), no entanto, sua função biológica ainda permanece não identificada (kudisi et al., 2022).

Methanolinea (R1 – 14,29%; R2 – 20,84%) e *Metanoregula* (11,26%; 9,23%) (Família Methanoregulaceae, filo Halobacterota), metanogênicos hidrogenotróficos, foram o segundo e o terceiro gênero mais abundante nos reatores R1 e R2.

Os gêneros *Metanoregula* (Halobacterota) e *Methanobacterium* (Euryarchaeota) são metanogênicos estritamente hidrogenotróficos usando hidrogênio e dióxido de carbono para formar metano (Wang et al., 2017). Foi observada uma redução na abundância desses gêneros do reator UASB (R1) para o filtro anaeróbio (R2). A produção volumétrica de metano foi significativamente maior no R1 (0,27 L CH₄ (Ld⁻¹) em comparação com R2 (0,05 L CH₄ (Ld⁻¹). Já os percentuais de metano nos reatores foram próximos, 51% no R1 e 49% no R2. Os metanogênicos *Methanosaeta* e *Methanosarcina*

representantes da classe *Methanosarcinia* foram mais abundantes no R1 com 11,54% e 2,47% respectivamente (Tabela 28). *Methanosaeta* são os principais representantes na degradação do acetato, são estritamente anaeróbios e utilizam apenas acetato como fonte de energia para seu crescimento e produzem metano e dióxido de carbono como subprodutos (Kong et al., 2018). Já o grupo das *Methanosarcinas* são mais versáteis e podem metabolizar tanto hidrogênio quanto acetato como fonte de energia (Kong et al., 2018).

Methanomassiliicoccus foi o gênero menos abundante, encontrado somente no reator UASB (1,10%), esse gênero está relacionado com a produção de metano via metanol, metilamina e hidrogênio como doadores de elétrons (Becker et al., 2016)

Acetato, H_2 , CO_2 , CO, metanol e metilaminas estão entre as principais fontes de carbono utilizados pelos microrganismos metanogênicos (Angelidaki et al., 2011).

Os metanogênicos encontrados no estudo indicaram que os hidrogenotróficos foram mais diversos na digestão anaeróbia da água residuária da bovinocultura leiteira, o que pode ser consequência do tipo de substrato estudado que resultaram na produção de hidrogênio. De acordo com os resultados obtidos, a via hidrogenotrófica foi a mais importante para a biometanação da água residuária da bovinocultura leiteira.

Alsouleman et al. (2016) Observaram uma mudança das vias acetoclásticas para hidrogenotróficas com o aumento da concentração de amônia (NH_4^+) durante a digestão anaeróbia de esterco de gado e aves. Ainda de acordo com o mesmo autor, os parâmetros de processo (NTK e AGV) não apresentaram mudanças significativas. No presente estudo foi observado um incremento na concentração de nitrogênio amoniacal da fase 1 para a fase 4 e estabilidade operacional com o aumento da carga orgânica e redução do TDH. Entretanto, não foram realizados estudos do microbioma presente nos reatores anaeróbios antes da fase 4 que permitissem identificar se pequenas alterações nos parâmetros de projeto poderiam desencadear alterações na rota dos microrganismos produtores de metano. Portanto, novos estudos devem ser realizados a fim de investigar tal hipótese.

A estabilidade operacional dos reatores durante o tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira permite afirmar que os ácidos voláteis foram

consumidos assim que produzidos sem provocar decréscimo do pH. A diversidade da comunidade microbiana presente no sistema de tratamento se apresentou diversa e com membros de vários filos, responsáveis em converter com eficiência o substrato trabalhado. Os grupos microbianos interagiram para facilitar a degradação anaeróbia de compostos orgânicos em CH₄ e CO₂. Portanto, é possível dizer que as comunidades microbianas identificadas pelo Illumina/MiSeq se encontravam adaptadas às condições impostas e participaram ativamente da digestão anaeróbia, o que foi demonstrado pelo equilíbrio e desempenho dos reatores durante o tratamento.

6.11 Macro e micronutrientes

Os micro e macro nutrientes são conhecidos por exercerem a função de nutrientes nos microrganismos, em geral são essenciais para muitas funções metabólicas. A suplementação de elementos traços na digestão anaeróbia tem por objetivo manter a estabilidade do processo por meio do metabolismo microbiano, além de promover melhor produção de metano. Esses elementos são necessários para produção de enzimas indispensáveis no processo de fermentação e na degradação dos ácidos graxos voláteis (Cai et al., 2017).

A eficácia e a combinação certa de nutrientes no metabolismo dos microrganismos já são comprovados, entretanto, a concentração ótima deve ser investigada pontualmente devido a grande variedade de operações nos processos de digestão anaeróbia de diferentes substratos (Choong et al., 2016).

As concentrações dos macronutrientes Potássio (K), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) diminuíram do afluente para o efluente. (Tabela 29). Seus valores afluentes variaram de 3,94 a 9,42; 5,31 a 7,45 e 1,98 a 2,35 mg L⁻¹ durante as fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6 respectivamente, com diferenças significativas (P<0,05) para K.

Tabela 29. Concentrações médias (mg L⁻¹), coeficientes de variação e eficiência de remoção (%) dos macronutrientes (potássio (K), magnésio (Mg) e cálcio (Ca) no afluente e efluente dos reatores anaeróbios e aeróbios no tratamento da água residuária da bovinocultura de leite

Macronutrientes (mg L ⁻¹)	Pontos de Amostragem	Fases							Teste F
		I	II	III	IV	V	VI	c.v	
K	Afluente	3,94 a	5,01 a	6,24 ab	9,42 b	6,28 ab	6,29 ab	16,21	2,19*
	R1	2,33 ab	1,93 a	3,30 abc	11,15 d	4,49 c	3,80 bc	19,75	22,74**
	R2	1,44 a	1,68 a	3,07 ab	7,20 c	4,11 b	4,00 b	12,22	14,16**
	RBS	-	1,52 a	-	-	-	3,71 b	19,06	21,76*
	FBP	-	-	-	3,62 ns	3,72 ns	-	-	0,02 ns
	Dec	-	-	-	2,92 ns	3,39 ns	-	-	0,85 ns
	Sistema (% rem.)	43,42 ns	48,11 ns	51,67 ns	67,29	43,17 ns	45,52 ns	45,08	1,01 ns
Mg	Afluente	2,35 ns	2,08 ns	1,98 ns	2,20 ns	1,84 ns	1,88 ns	16,46	0,38 ns
	R1	0,67 ab	0,60 a	1,07 ab	1,06 ab	1,21 b	1,16 b	18,01	2,53*
	R2	0,68 a	0,64 a	0,90 ab	1,39 c	1,14 bc	1,12 bc	7,64	5,51*
	RBS	-	0,67 a	-	-	-	1,05 b	9,94	6,85*
	FBP	-	-	-	1,30 ns	1,05 ns	-	-	3,89 ns
	Dec	-	-	-	1,20 ns	1,01 ns	-	-	3,88 ns
	Sistema (% rem.)	70,81 b	62,45 ab	52,06 a	43,95 a	43,99 a	43,38 a	23,54	3,60*
Ca	Afluente	5,31 ns	5,49 ns	6,76 ns	7,45 ns	6,78 ns	7,34 ns	22,89	1,58 ns
	R1	3,18 a	3,14 a	3,23 a	7,79 b	3,78 a	4,46 a	8,47	7,53**
	R2	3,20 a	2,50 a	3,61 a	7,58 b	3,57 a	3,94 b	8,25	2,13*
	RBS	-	2,32 a	-	-	-	3,52 b	12,44	50,38**
	FBP	-	-	-	4,07 ns	3,39 ns	-	-	2,11 ns
	Dec	-	-	-	3,45 ns	2,71 ns	-	-	2,18
	Sistema (% rem.)	42,09 ns	49,20 ns	46,38 ns	55,17 ns	53,97 ns	45,04 ns	37,80	1,07 ns

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

O maior TDH na fase 1, de 60 horas, não implicou em maiores eficiências de remoção para K e Ca. Já as eficiências de remoção de (Mg) apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) na fase 1, maior eficiência de remoção de 70,81%. A alta eficiência de remoção observada pode ser atribuída a processos biológicos, síntese celular dos microrganismos e processos físicos como a precipitação e adsorção no lodo do reator, além do maior TDH nessa fase.

O esterco de gado é rico em nutrientes e contém altas concentrações de oligoelementos (Cai et al. 2017) o que possibilita a utilização do efluente da digestão anaeróbia como fertilizante. Além dos benefícios nutricionais do esterco, ele pode aliviar a demanda por adubos químicos (Xia et al. 2017; Font-palma, 2019).

Foram observadas altas eficiências de remoção para o ferro (Fe) em todas as fases, eficiências superiores a 65% (Tabela 30). O Fe é um micromineral essencial para manter o processo de digestão anaeróbia estável (Wu et al., 2016) atuando como co-fator de enzimas metanogênicas (Facchin et al., 2013). O uso de aditivos contendo sais de Fe acelera o processo de digestão anaeróbia e favorece a produção de biogás (Ugwu et al., 2020) em diferentes substratos como palha de milho e co-digestão de resíduos sólidos urbanos com resíduos de matadouros resultando em um processo de digestão anaeróbia mais estável (Khatri et al., 2015).

De acordo com Patidar e Tare (2006) a suplementação de metais como zinco (Zn) e Fe são essenciais para microrganismos anaeróbios, pois atuam como cofatores de hidrogenases, enzimas ligadas à fase acidogênica da digestão anaeróbia.

Segundo Hawari e Mulligan (2007) a biomassa microbiana presente no lodo anaeróbio tem efeitos significativos nas remoções de metais em virtude dos processos de bioadsorção e bioacumulação.

As maiores eficiências de remoção para Fe, manganês (Mn) e cobre (Cu) foram observadas no R1. Já para Zn foi observado um acréscimo no efluente do R1 nas fases 1 e 2, o que indica perda de sólidos junto ao efluente e menores concentrações afluentes nas fases 5 e 6 ($P < 0,001$), que pode estar relacionado com o manejo alimentar do bovino leiteiro. As eficiências de remoção de Cu foram superiores a 60% nas fases experimentais.

A metanogênese é a fase mais crítica durante a digestão e é dependente de muitos fatores, como a concentração obrigatória de nutrientes a fim de manter o processo de digestão eficaz. Kim et al. (2003) observaram uma promoção no desempenho da hidrólise e acidogênese em reatores suplementados com cálcio, ferro, cobalto e níquel em condições mesofílicas e termofílicas.

Nordell et al. (2016) sugeriram maior atividade microbiana com a adição de Fe e oligoelementos na co-digestão de esterco suíno e bovino com resíduos industriais e maiores concentrações de AVT quando o reator não foi suplementado.

Silva et al. (2016) utilizaram a água residuária da bovinocultura leiteira na fertirrigação de culturas agrícolas e obtiveram remoções na concentração dos elementos Zn, Cu, Fe e Mn que se apresentavam em concentrações elevadas no solo. Os autores ressaltaram que a matéria orgânica incorporada ao solo pode ter atuado na quelação e complexação, formando precipitados de baixa mobilidade dos micronutrientes Zn, Cu, Fe e Mn.

O Cu é utilizado em muitas fazendas como um aditivo para melhorar a qualidade do casco das vacas leiteiras em confinamento, grande parte do metal permanece no dejetos (Leclerc e Laurent, 2017). As maiores eficiências de remoções foram observadas nas fases 2 e 3 de 93,04 e 90,69 % ($P < 0,05$), respectivamente. Zhou et al. (2005) abordou a crescente preocupação com a saúde humana e ambiental em relação a presença de Cu e Zn no esterco sem prévio tratamento, já que em elevadas concentrações podem ser tóxicos.

As concentrações de sódio (Na) no afluente variaram de 135 a 227 mg L⁻¹. O Na está presente na alimentação do bovino no concentrado de minerais fornecido ao animal. Nas fases 1 e 3 as eficiências de remoção não ultrapassaram 30%, já nas fases 2, 4, 5 e 6 com a utilização de pós-tratamento aeróbio foi observado eficiências de remoção superiores a 33%. Entretanto, não foi observado diferença significativa nas eficiências de remoção alcançada nas diferentes fases. A baixa eficiência de remoção para Na em reatores anaeróbios também foi observado por Villa-Montoya et al. (2016) em efluentes de bovino.

Tabela 30. Concentrações médias (mg L⁻¹), desvio padrão e eficiência de remoção (%) dos micronutrientes (Ferro (Fe), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Manganês, (Mn) e Sódio (Na)) no afluente e efluente dos reatores anaeróbios e aeróbios no tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira.

Micronutrientes (mg L ⁻¹)	Pontos de Amostragem	Fases							Teste F
		I	II	III	IV	V	VI	c.v	
Fe	Afluente	25,74 a	27,24 bc	30,00 b	31,09 b	47,57 c	33,63 b	13,00	5,38*
	R1	8,45 a	6,80 a	12,25 ab	10,95 ab	17,25 b	11,70 ab	21,01	2,51*
	R2	6,08 a	7,44 ab	7,88 ab	10,50 b	10,71 b	9,63 b	25,78	3,86*
	RBS	-	6,07 a	-	-	-	7,55 b	14,70	6,34*
	FBP	-	-	-	6,69 ns	7,42 ns	-	-	0,81 ns
	Dec	-	-	-	6,25 ns	6,41 ns	-	-	0,74 ns
	Sistema (% rem.)	68,9 a	71,96 ab	73,35 ab	68,68 a	82,15 b	77,49 ab	3,14	2,36*
Zn	Afluente	36,50 b	34,64 b	28,23 b	40,00 b	7,48 a	3,81 a	13,75	9,80**
	R1	38,88 b	42,50 b	13,60 a	18,50 a	2,31 a	3,09 a	15,23	7,53**
	R2	30,50 c	26,79 c	10,26 ab	21,55 bc	1,46 a	1,89 a	33,76	6,06*
	RBS	-	19,11 a	-	-	-	1,56 b	36,96	48,46**
	FBP	-	-	-	7,65 a	1,45 b	-	-	9,37*
	Dec	-	-	-	1,07 ns	1,08 ns	-	-	1,3 ns
	Sistema (% rem.)	6,12 a	37,45 ab	16,98 ab	97,51 b	79,24 b	59,31 ab	26,14	2,34*
Cu	Afluente	1,11 a	1,09 ab	1,13 ab	1,62 b	0,86 a	0,87 a	11,92	2,04**
	R1	0,37 a	0,21 a	0,41 a	1,79 b	0,31 a	0,36 a	35,00	26,08**
	R2	0,24 a	0,11 a	0,10 a	1,17 b	0,19 a	0,29 a	45,86	4,92*
	RBS	-	0,07 a	-	-	-	0,31 b	17,67	32,55*
	FBP	-	-	-	0,46 ns	0,35 ns	-	-	3,13 ns
	Dec	-	-	-	0,43 a	0,23 b	-	-	12,81*
	Sistema (% rem.)	76,25 a	93,04 b	90,69 b	66,54 a	71,63 a	63,97 a	16,50	6,90**

Mn	Afluyente	2,06 a	2,30 ab	3,06 bc	4,33 c	3,54 c	3,55 c	11,74	6,20*
	R1	0,83 a	0,73 a	1,63 b	4,16 c	2,13 b	2,14 b	5,03	20,85**
	R2	0,55 a	0,53 a	1,13 b	2,34 d	1,81 c	1,78 c	9,55	28,45**
	RBS	-	0,31 a	-	-	-	0,82 b	22,55	19,93*
	FBP	-	-	-	1,18 ns	1,03 ns	-	-	0,04 ns
	Dec	-	-	-	1,25 ns	0,64 ns	-	-	2,32 ns
	Sistema (% rem.)	71,42 abc	86,09 c	58,23 a	70,58 ab	82,50 bc	76,88 abc	10,32	3,20*
Na	Afluyente	180 ab	168 ab	197 ab	227 a	135 b	152 b	10,62	2,04*
	R1	142 cd	157 cd	172 b	195 a	113 d	128 cd	17,16	6,57**
	R2	127 bc	133 bc	147 b	180 a	105 c	117 bc	14,27	9,78**
	RBS	-	112 ns	-	-	-	99 ns	7,71	4,54
	FBP	-	-	-	155 a	86 b	-	-	33,05**
	Dec	-	-	-	138 a	85 b	-	-	6,26*
	Sistema (% rem.)	29,25 ns	33,3 ns	22,7 ns	39,2 ns	37,39 ns	34,8 ns	8,74	1,36

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

Os valores médios de boro (B) observados durante as fases experimentais 5 e 6 não restringem o uso da água residuária tratada no sistema combinado anaeróbio/aeróbio para irrigação/fertirrigação ($< 0,7 \text{ mg L}^{-1}$) (Ayers e Westcot, 1999) (Tabela 31), e para seu lançamento em corpos receptores ($> 5 \text{ mg L}^{-1}$) para águas salinas classe 1 e para água doce classes 1 e 2 e águas salobras (BRASIL, 2005).

Tabela 31. Valores médios da concentração de boro durante as fases 5 e 6 nos reatores anaeróbios UASB (R1), filtro anaeróbio (R2) e reatores aeróbios, reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (FBP) seguido de decantador (Dec.).

Valores de Boro mg/L			
Fase V		Fase VI	
B	0,18	B	0,22
R1	0,13	R1	0,13
R2	0,12	R2	0,13
FBP	0,08	RBS	0,12
Dec	0,08	-	-

O boro é um micronutriente essencial nos vegetais e atua em diversos processos como na constituição das membranas vegetais, divisão celular, absorção de água, transporte de açúcares entre outros (Lima et al., 2003). É encontrado em detergentes, nas rochas, no solo, na água e em descargas industriais (Silva, 2018). O limite entre sua toxicidade e deficiência é muito baixo, o que implica em maior atenção na utilização desse micronutriente (Gupta e Solanki, 2013).

A disponibilidade do boro é influenciada pelo pH e pela presença de matéria orgânica. Ele pode ser encontrado sob duas formas, ácido bórico em condições de solo com pH neutro ou pouco ácido ou borato em condições de solo mais ácido. O destino da água residuária no solo ou em corpos hídricos deve levar em consideração os riscos potenciais de contaminação ambiental.

Canovas Cuenca (1980) relata que valores superiores a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ já é o

suficiente para causar danos a cultura, não sendo aconselhável utilizar na fertirrigação águas com valores superiores a $2,5 \text{ mg L}^{-1}$. Os valores efluentes observados no presente estudo nas fases 5 e 6 foram 6,2 e 4,1 vezes inferior ao limite de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

A utilização de água residuária como biofertilizante é uma alternativa para aliviar seu lançamento em corpos d'água, além de aproveitar a carga de nutrientes melhorando o rendimento de diferentes culturas e possibilitando a redução na utilização de fertilizantes químicos (Libutti et al., 2018).

Maciel et al. (2019) aplicaram a água residuária da bovinocultura leiteira em um cultivo agrícola de milho e identificaram que sua aplicação como biofertilizante proporciona o mesmo efeito da adubação convencional no solo, no que se refere aos teores de macronutrientes, micronutrientes e índices de fertilidade.

O entendimento dos efeitos e a melhor concentração de nutrientes para cada substrato deve ser investigada para otimizar a digestão anaeróbia e obter melhor produção de metano além de minimizar o risco de toxicidade ao ambiente.

Assim, os nutrientes disponíveis no efluente do sistema de tratamento da água residuária da bovinocultura leiteira podem ser investigados para futura utilização como suplementação mineral para culturas de maneira ambientalmente segura e como alternativa na disposição final de efluentes da agroindústria, além de reduzir os gastos com fertilizantes químicos.

6.12 Condutividade

A condutividade elétrica (CE) presente na água residuária indica a capacidade em transportar elétrons relacionando-se com a presença de íons dissolvidos. Segundo Metcalf e Eddy (2016) a condutividade elétrica é um dos parâmetros mais importantes utilizados na verificação da adequabilidade para o uso na irrigação. Em alguns casos, a utilização de água residuária na fertirrigação pode ter efeitos negativos nas características do solo devido ao acúmulo de poluentes, como sólidos suspensos totais (SST) e condutividade

elétrica (Alves et al., 2019).

As águas são divididas em classes segundo sua condutividade elétrica (CE). As águas se dividem em quatro classes: salinidade baixa, salinidade média, salinidade alta e salinidade muito alta, sendo os pontos divisórios entre classes 250, 750 e 2.250 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

C1 - Água de baixa salinidade (com menos de 250 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de condutividade elétrica): pode ser usada para irrigação na maior parte dos cultivos em quase todos os tipos de solo, com pouca probabilidade de desenvolver problemas de salinidade;

C2 - Água de salinidade média, com conteúdo de sais entre 250 e 750 $\mu\text{S}/\text{cm}$: pode ser usada sempre que houver um grau moderado de lixiviação. Plantas com moderada tolerância aos sais podem ser cultivadas, em muitos casos, sem necessidade de práticas especiais de controle da salinidade;

C3 - Água com alta salinidade, com conteúdo de sais de 700 a 2.250 $\mu\text{S}/\text{cm}$: não pode ser usada em solos com drenagem deficiente e mesmo com drenagem adequada, podem ser necessárias práticas especiais para controle de salinidade e só deve ser aplicada para irrigação de plantas tolerantes aos sais;

C4 - Água com salinidade muito alta, com mais de 2.250 $\mu\text{S}/\text{cm}$: não pode ser usada em condições normais, apenas ocasionalmente, em circunstâncias muito especiais, tais como em solos muito permeáveis e plantas altamente tolerantes aos sais (Cordeiro, 2001).

Na tabela 32 estão apresentados os valores de condutividade elétrica nos reatores anaeróbios R1 e R2 e nos reatores aeróbios RBS e FBP seguido de decantador durante as fases 5 e 6.

Observou-se que não houve diferença estatística dos valores da condutividade elétrica (CE) entre as fases monitoradas nos diferentes reatores.

Os valores afluentes de 1688 e 1892 $\mu\text{S cm}^{-1}$ foram inferiores aos valores observados nos efluentes do reator UASB de 1859 e 1995 $\mu\text{S cm}^{-1}$ nas fases cinco e seis respectivamente, o que pode ter ocorrido em virtude de perda de lodo no efluente deste reator e pela degradação da matéria orgânica dentro do sistema liberando íons para o meio.

A redução observada na fase cinco do afluente para o FBP seguido de Dec. de 22% e na fase seis do afluente para o efluente do RBS de 19% (Tabela

32) pode ser explicada pela absorção dos íons pela biomassa microbiana e a liberação de íons durante os processos biológicos, acarretando assim a baixa remoção de condutividade elétrica durante o tratamento (Oliveira et al., 2015; Fia, 2009).

Tabela 32. Valores médios da condutividade elétrica durante as fases 5 e 6 nos reatores anaeróbios UASB (R1), filtro anaeróbio (R2) e reatores aeróbios reator operado em batelada sequencial (RBS) e filtro biológico percolador (RBS) seguido de decantador (Dec.)

Condutividade Elétrica (μS cm ⁻¹)				Teste F
Fase V		Fase VI		
Afluente	1688	Afluente	1892	1,01 ns
R1	1859	R1	1995	0,48 ns
R2	1816	R2	1909	0,43 ns
FBP	1342	RBS	1498	1,30 ns
Dec.	1267	-	-	-
Eficiencia		Eficiencia		
Remoção (%)	22	Remoção (%)	19	-

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Duncan a 5%; ** $p < 0,01$ (Significativo a 1% de probabilidade); * $p < 0,05$ (Significativo a 5% de probabilidade); ns: $p > 0,05$ (não significativo no nível de 5% de probabilidade).

A aplicação constante de esterco in natura no solo, conforme a necessidade da cultura, aumenta a concentração de nutrientes no solo, além de criar reservatórios de macro e micronutrientes sem afetar significativamente o pH, porém aumenta a CE (Schlegel et al. 2017).

Os valores de CE observados durante o estudo foram inferiores a 2.000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ nas fases cinco e seis, valores que não ocasionam salinização no solo quando a água residuária é utilizada na fertirrigação (Medeiros et al., 2011(a)).

De acordo com a FAO (1994) a água residuária na fertirrigação pode ser usada sem grau de restrição severo em solos bem drenados, com cultivo de espécies que tenham tolerância salina com valores de CE abaixo de 3000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (3 dS m^{-1}).

Com base nas recomendações de Ayers e Westcot (1999) o efluente do sistema de tratamento combinado anaeróbio/aeróbio obtido durante o experimento apresentou valores de CE de 1267 e 1498 $\mu\text{S cm}^{-1}$ nas fases 5 e 6 e RAS de 14,25 e 12,28 nas fases 5 e 6 respectivamente, se enquadrando nos

limites adequados para irrigação com restrição de aplicação no solo de ligeira a moderada (0,7 – 3,0 dS m⁻¹) (Tabela 33).

São Paulo (2017) indica o reuso direto não potável de água para fins urbanos, proveniente de estações de tratamento de esgoto sanitário, e somente podem ser utilizados para reuso com restrição moderada valores de CE de 700 a 3.000 $\mu\text{S.cm}^{-1}$.

A combinação CE e RAS serve para avaliar os perigos que a água oferece, em termos de indicação de salinidade e aumento dos teores de sódio na solução do solo e, conseqüentemente, problemas de infiltração.

Tabela 33. Diretrizes para interpretação da qualidade da água de irrigação, segundo Ayers e Westcot (1999)

Problema e constituintes relacionados com		Grau de problema			
		unidades	Nenhuma	Moderada	Severo
Salinidade					
CE da água irrigação	dS m ⁻¹	< 0,7	0,7 a 3,0	> 3,0	
Capacidade de infiltração no solo					
RAS= 12 a 20 e CE		≥ 2,9	2,9 a 1,3	< 2,9	
Toxicidade					
Sódio (NA ⁺)					
Irrigação por superfície	RAS	< 3,0	3,0 a 9,0	9,0	
Irrigação por aspersão	mg/L	< 3,0	>3,0	-	
Boro	mg/L	< 0,7	0,7 a 3,0	> 3,0	
pH	Amplitude normal de 6,5 a 8,4				

Adaptado Ayers e Westcot (1999)

O uso ou manejo inadequado do efluente tratado na irrigação/fertirrigação pode contribuir para a expansão de áreas degradadas por salinidade e sodicidade (Pedrotti et al., 2015).

O aproveitamento de águas residuárias tratadas na fertirrigação de culturas agrícolas tem-se mostrado uma alternativa interessante para promover melhorias na concentração de nutrientes do solo, entretanto, seu uso inadequado pode proporcionar impactos negativos na característica do solo e

na cultura (Silva et al., 2012). Alguns autores relataram efeitos positivos na cultura e nas características físicas e químicas do solo quando utilizaram a água residuária da bovinocultura na fertirrigação (Jorge et al., 2022; Jorge et al., 2017; Erthal et al., 2010).

Assim, uma avaliação criteriosa deve ser realizada para investigar as características da água residuária, respeitando a necessidade de nutrientes da cultura agrícola e a qualidade do solo que irá receber essa água na irrigação e fertirrigação.

7. CONCLUSÕES

O sistema composto por reatores anaeróbios de alta taxa em série, seguido de pós-tratamento aeróbio com aumento gradativo da COV e redução do TDH tratando efluente da bovinocultura leiteira com pré-tratamento simplificado, se manteve estável durante todo o período experimental com a redução do tempo de detenção hidráulica de 60 para 30 horas e aumento gradual da carga orgânica de 4,8 a 12,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹. Essa condição permitiu maior adaptabilidade dos microrganismos no sistema com altas eficiências de remoção de DQO_{total} na ordem de 76 a 89%, DQO_{dissolvida} de 69 a 85%, DQO_{particulada} de 74 a 93%, SST de 70 a 98% e SSV de 69 a 98%.

O reator UASB (R1) foi responsável pelas maiores eficiências na remoção de DQO e Sólidos. De acordo com os resultados obtidos pode-se dizer que a remoção da matéria orgânica mais facilmente degradável aconteceu no R1. O Filtro anaeróbio (R2) foi fundamental para a manutenção da estabilidade do conjunto de reatores anaeróbios, o R2 apresentou boas eficiências quando foram observadas baixas eficiências no reator UASB, elevando assim a eficiência do sistema (R1+R2) o que evidencia a importância em trabalhar com reatores anaeróbios em série.

A produção volumétrica e específica de metano foi maior na fase 4, no reator UASB (R1) de 0,27 (m³ CH₄ (m³ reator d)⁻¹) e 0,15 (m³ kg⁻¹ de DQO removida), respectivamente indicando que não ocorreram separação das fases hidrolítica, acidogênica, acetogênica e metanogênica nos diferentes reatores

anaeróbios. O que pode ter sido consequência da composição do substrato estudado

Com a inclusão do pós-tratamento aeróbio RBS nas fases 2 e 6 e Filtro Biológico percolador seguido de decantador nas fases 4 e 5 foi possível obter maiores eficiências de remoção de nutrientes. A maior remoção de NK foi observada na fase 6 de 80% e de nitrogênio amoniacal foi na fase 5 de 70%. O que sugere maior adequabilidade da biomassa microbiana no sistema de tratamento. A concentração média de nitrogênio amoniacal e de nitrato presente no efluente do sistema aeróbio não se enquadrou ao limite máximo estabelecido pela legislação ambiental. Em relação à remoção de fósforo foram observadas remoções significativas no conjunto anaeróbio, com eficiências superiores a 60% em todas as fases. O que indica a adsorção de fósforo no lodo do reator. A maior remoção foi observada na fase 5 de 81% com a adição do filtro biológico percolador seguido de decantador. A reciclagem de nutrientes promovida pelo sistema como N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu e B mantendo-os na água residuária biodigerida demonstram potencial para a fertirrigação agrícola, entretanto, é preciso investigar as corretas taxas de aplicação.

A remoção de coliformes na fase 4 foi de 99,94% no efluente do decantador, ($1,0 \times 10^3$ para (*E.coli*), o resultado obtido está de acordo com a concentração máxima recomendado pela OMS para uso na agricultura e na Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) nº 357 de 1000 e 4000 NMP/100 ml para as classe 2 e 3, respectivamente em corpos d'água doce.

A diversidade microbiana quantificada por qPCR identificou o equilíbrio entre os Domínios Archaea e Bacteria e as metanogênicas hidrogenotróficas e acetoclásticas no lodo dos reatores R1 e R2, indicando que ambas as rotas de produção de metano ocorreram durante este período.

A análise de sequenciamento de nova geração Illumina MiSeq possibilitou maior entendimento e detalhamento da comunidade microbiana. Os filos bacterianos mais abundantes foram Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes. O gênero *Acinetobacter* foi o mais abundante nos reatores anaeróbios com 36,11% no R1 e 28,11% no R2. A abundância desses filos parece estar relacionada com o substrato estudado. O Domínio Archaea foi dominado pelos filos Euryarchaeota e Halobacterota. O Gênero

Methanobacterium foi mais abundante no sistema anaeróbio, cuja principal via de produção de metano foi a hidrogenotrófica. A análise da metagenômica pode ser usada para elucidar os papéis funcionais dos grupos taxonômicos e melhorar o desempenho dos processos anaeróbios, ela permitiu obter maior conhecimento a respeito da comunidade microbiana envolvida na digestão anaeróbia da água residuária da bovinocultura leiteira.

8- AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

9. REFERÊNCIAS

ABIA – Associação Brasileira da Indústria de Alimentos (2017) Relatório ABIA: 2017. Disponível em <<https://www.abia.org.br/vsn/temp/z201843relatorioABIA2017.pdf>> Acesso 10 out. 2021.

Abdelgadir A, Che X, Liu J, Xie X, Zhang J, Zhang K, Wang H, Liu N (2014) Characteristics, Process Parameters, and Inner Components of Anaerobic Bioreactors. **BioMed Research International** 10:1-11.

Abou-Elela SI, Fawzy ME, El-Gendy, AS (2015) Potential of using biological aerated filter as a post treatment for municipal wastewater. **Ecological Engineering** 84:53-57.

Abreu EF (2007) **Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB tratando esgoto sanitário**. 93 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - UFMG, Belo Horizonte.

Adekunle KF, Okolie JA (2015) A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology** 6:205-212.

Agyeman FO, TAO W (2014) Anaerobic co-digestion of food waste and dairy manure: Effects of food waste particle size and organic loading rate. **Journal of Environmental Management** 133:268-274.

Ahn YO (2006) Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. **Process Biochemistry** 41:1709-1721.

Akker BVD, Holmes M, Cromar NJ, Fallowfield HJ (2008) Application of high-rate nitrifying trickling filters for potable water treatment. **Water Research** 42: 4514-4524.

Ali Shah F, Mahmood Q, Shah MM, Pervez A, Asad SA (2014) Review article. Microbial ecology of anaerobic digesters: The key players of anaerobiosis. **The Scientific World Journal** 183752:1-21.

Almeida PGS (2012) **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB**. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – UFMG, Belo Horizonte.

Almeida PGS, Marcus AK, Rittmann BE, Chernicharo CAL (2013) Performance of plastic- and sponge-based trickling filters treating effluents from an UASB reactor. **Water Science Technology** 67:1034 - 1042.

Alsouleman K, Linke B, Klang J, Klocke M, Krakat, N, Theuerl S (2016) Reorganization of a mesophilic biogas microbiome in response to a gradual increase in ammonium nitrogen induced by the supply of poultry manure. **Bioresource Technology** 208:200 - 204.

Alves PFS, Santos SR, Kondo MK, Pegoraro RF, Portugal AF (2019) Soil chemical properties in banana crops fertigated with treated wastewater. **Revista Caatinga** 32:234-242.

Aly SS, Imai T, Hassouna MS, Nguyem DMK, Higuchi T, Kano A, Yamamoto K, Akada R, Sekine N (2018) Identification of factors that accelerate hydrogen production by *Clostridium butyricum* RAK25832 using casamino acids as a nitrogen source. **International Journal of Hydrogen Energy** 43: 5300 – 5313

Amman R, Glöckner FO, Neef A (1997) Modern methods in subsurface microbiology: in situ identification of microorganisms with nucleic acid probes. **FEMS Microbiology Reviews** 20:191-200.

Angelonidi E, Smith RS (2015) A comparison of wet and dry anaerobic digestion processes for the treatment of municipal solid waste and food waste. **Water and Environment Journal** 29.

Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

Andriamanohiarisoamanana FJ, Shirai T, Yamashiro T, Yasui S (2018) Valorizing waste iron powder in biogas production : Hydrogen sul fi de control and process performances. **Journal Environmental. Management** 20:134 - 141.

Angelidaki I, Ahring BK (1994) Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature. **Water Resource** 28:727–731.
 Angelidaki I, Sanders W (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Reviews Environmental Science Biotechnology** 3:117.

Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, Borzacconi L, Campos JL, Guwy AJ, Kalyuzhnyi S, Jenicek P, Van Lier JB (2009) Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science & Technology** 59:927-934.

ANA- Agência Nacional de Águas ANA (2017) **Atlas Esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Brasília.

APHA (2017) **Standard methods for the examination of water and wastewater American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation (21st ed.)**, American Public Health Association, Washington DC, USA (2005).

Ayers RS, Westcot DW (1999) **Water Quality for Agriculture** Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Aquino S, Chernicharo C (2005) Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVS) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia sanitária e Ambiental** 10:152-161.

Aoyagi T, Inaba T et al. (2020). Unexpected diversity of acetate degraders in anaerobic membrane bioreactor treating organic solid waste revealed by high-sensitivity stable isotope probing. **Water Research** 176.

Ariesyady HD, Ito T, Okabe S (2007) Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full-scale anaerobic sludge digester. **Water Research** 41:554-1568.

Artan N, Orhon D (2005) Mechanism and design of sequencing batch reactors for nutrient removal. **Journal of the American Water Resources Association** 41.

Atienza-Martínez M, Ábrego J, Gea G, Marías F (2019) Journal of Analytical and Applied Pyrolysis Pyrolysis of dairy cattle manure: evolution of char characteristics. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis** 104724.

Alsouleman K, Linke B, Klang J, Klocke M, Krakat N, Theuerl S (2016) Reorganisation of a mesophilic biogas microbiome as response to a stepwise increase of ammonium nitrogen induced by poultry manure supply. **Bioresource Technology** 208:200-204

Azman S, Khadem AF, Lier JBV, Zeeman G, Plugge CM (2015) Presence and role of anaerobic hydrolytic microbes in conversion of lignocellulosic biomass for biogas production. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology** 45:2523-2564.

Baêta BEL, Lima DRS, Adarme OFH, Gurgel LVA, Aquino SF (2016) Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**. 200:37-146.

Bai ZH, Ma L, Jin SQ, Ma WQ, Velthof GL, Oenema O, Liu L, Chadwick D, Zhang FS (2016) Nitrogen, Phosphorus and Potassium flows through the manure management chain in China. **Environmental Science e Technology** 50:13409-13418.

Baldwin SA, Khoshnoodi M, Rezadehbashi M, Taupp M, Hallam, S, Mattes A, H. Sanei (2015) The microbial community of a passive biochemical reactor treating arsenic, zinc, and sulfate-rich seepage. **Frontiers Bioengineering Biotechnology** 3:27

Barret M, Gagnon N, Topp E, Masse L, Masse DI, Talbot G (2012) Physico-chemical characteristics and methanogen communities in swine and dairy manure storage tanks : Spatio-temporal variations and impact on methanogenic activity. **Water Resource** 47:737-746

Barros JGC (2010) Origem, distribuição e preservação da água no planeta terra. **Revista das Águas** 4:1-3.

Barros VG, Duda RMR, Vantini JS, Pine IW, M, Ferro T, Oliveira RA (2017) Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors , with predominance of Methanothermobacter and Methanosarcina archaea and Thermotogae bacteria. **Bioresource Technology** 244:371–381.

Barros Jr (2008) **Estudo da Influência de Compostos Recalcitrantes na Remoção de Matéria Orgânica Biodegradável no Tratamento de Efluente de Refinarias de Petróleo**. 225 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - UFRN,Natal.

Bassani I, Panagiotis GK, Treu L, Angelidaki I (2015) Biogas Upgrading via Hydrogenotrophic Methanogenesis in Two-Stage Continuous Stirred Tank Reactors at Mesophilic and Thermophilic Conditions. **Environmental Science Technology** 49:12585-12593.

Batstone D, Viridis B (2014) The role of anaerobic digestion in the emerging energy economy. **Current Opinion in Biotechnology** 27:142-149.

Beaver A, Proudfoot KL, Keyserlingk MAGV (2020) Review of the symposium: Considerations for the future of dairy farming: an animal welfare perspective. **Journal of Dairy Science** 103:5746-5758.

Belova SE, Ravin NV, Pankratov TA, Rakitin AL, Ivanova AA, Beletsky AV et al. (2018) Hydrolytic capabilities as a key to environmental success: chitinolytic and cellulolytic *Acidobacteria* from Acidic sub-arctic soils and boreal peatlands. **Front. Microbiol.** 9:2775.

Becker KW, Elling FJ, Yoshinaga MY, Sollinger A, Urich T, Hinrichs KU (2016) Unusual butane- and pentanetriol-based tetraether lipids in methanomassiliicoccus luminyensis, a representative of the seventh order of methanogens. **Applied Environmental Microbiology** 82:4505-4516

Bento AP, Sezerino PH, Philippi LS, Reginatto V, Lapolli FR (2005) Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental** 10:329-338.

Beraud-Martínez LK, Gomez-Gil B, Franco M, Almazán-Rueda P (2020) A metagenomic assessment of microbial communities in anaerobic bioreactors and sediments: Taxonomic and functional relationships. **Anaerobe** 68:102296

Beun JJ, Heijnen JJ, Van Loosdrecht MCM (2001) N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. **Biotechnology and Bioengineering**. 75:82-92.

Bialek K, Kumar A, Mahony T, PN lente PN, Flaherty V (2013) Low-Temperature (10° C) Anaerobic Digestion of Dilute Dairy Wastewater in an EGSB Bioreactor: Microbial Community Structure, Population Dynamics, and Kinetics of Methanogenic Populations. **Hindawi Publishing Corporation Archaea** 5, 6:738-752.

Bitton G (2005) Wastewater microbiology. New York: Wiley Liss Publishing, 449 p.

Bortoli J, Maciel MJ, Santana ERR, Rempel C (2015) Avaliação microbiológica da água em propriedades rurais produtoras de leite localizadas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** 12:39-53.

Botello Suárez WA, Vantini JS, Duda RM, Giachetto PF, Cintra LC, Ferro MIT, Oliveira RA (2018) Predominance of syntrophic bacteria, Methanosaeta and Methanoculleus in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor treating coffee processing wastewater at high organic loading rate. **Bioresour. Technology** 268:158–168.

Bowen EJ, Dol J, Davenport RJ, Read FL, Curtis TP, Curtis TP (2014) Low temperature limitation of bioreactor sludge in anaerobic treatment of domestic. **water Science Technology** 69:1004-1013.

Brasil, Conselho Nacional de Meio Ambiente - **Resolução Conama Nº 357**, de 18 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Conselho Nacional do Meio Ambiente.

Brasil, M Conselho Nacional de Meio Ambiente - **Resolução Conama Nº 430**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes complementam e alteram a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.

Brasil. **Guia técnico de aproveitamento energético de biogás em estações de tratamento de esgoto** (2015). Brasília: Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental.

Bruno M, Oliveira RA (2013) Performance of UASB reactors in two stages followed by post-treatment with activated sludge in wastewater batch of wet-processed coffee. **Engenharia Agricola** 33:808-819.

Burrell PC, O'Sullivan C, Song H, Clarke WP, Blackall LL (2004) Identification, detection, and spatial resolution of *Clostridium* populations responsible for cellulose degradation in a methanogenic landfill leachate bioreactor. **Applied Environmental Microbiology** 70:2414-2419.

Bewley JM, Robertson LM, Eckelkamp EA (2017) A 10-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. **Journal of Dairy Science** 100:10418-10431.

Borzooei S, Amerlinck Y, Abolfathi S, Panepinto D, Nopens I, Lorenzi E, Meucci L, Zanetti MC (2019) Data scarcity in modelling and simulation of a large-scale WWTP: Stop sign or a challenge. **Journal of Water Process Engineering** 28:10-20.

Bustin SA (2002) Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR(qPCR): trends and problems. **Journal of Molecular Endocrinology** 9:29-39.

Cadet C, Guilet A, Aurousseau M (2016) Dynamic Modeling of an Activated Sludge Process: Case Study on Paper Mill Effluents. **Journal of Environmental Engineering** 142.

Cai Y, Hua B, Gao L, Hu Y, Yuan X, Cui Z, Zhu W, Wang X (2017) Effects of adding trace elements on rice straw anaerobic mono-digestion: Focus on changes in microbial communities using high-throughput sequencing. **Bioresource Technology** 239:454-463.

Cai M, Wilkins D, Chen J, Lu H, Jia Y, Lee PKH (2016) Metagenomic reconstruction of key anaerobic digestion pathways in municipal sludge and industrial wastewater biogas-producing systems. **Frontiers in Microbiology** 7:1-12.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, 13(7):581-583.

Callahan BJ, Wong J, Heiner C, Oh S, Theriot CM, Gulati AS, McGill SK, Dougherty MK (2019) High-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene with single-nucleotide resolution. **Nucleic Acids Research** 47:103.

Campos AT, Ferreira WA, Paccola AA, Lucas Júnior J, Ulbanere RC, Cardoso RM, Campos AT (2002) Tratamento biológico aeróbio e reciclagem de dejetos de bovinos em sistema intensivo de produção de leite. **Ciência agrotecnologia** 26:426-438.

Campos MM, Borges ALCC, Lopes FCF, Pancoti CG, Silva RR (2011) Degradabilidade *in situ* da cana-de-açúcar tratada ou não com óxido de cálcio em novilhas leiteiras Holandês x Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 63:1487-1492.

Campanaro S, Treu L, Kougias PG, Luo G (2018) Metagenomic binning reveals the functional roles of core abundant microorganisms in twelve full-scale biogas plants. **Water Research** 140.

Campanaro S, Treu L, et al. (2020) Biotechnology for Biofuels New insights from the biogas microbiome by comprehensive genome - resolved metagenomics of nearly 1600 species originating from multiple anaerobic digesters. **Biotechnology Biofuels** 25:1–18.

Canovas Cuenca J (1980) Calidad agronómica de las aguas de riego. Madrid: **Ediciones Publicaciones Extensión Agraria**. p. 55.

Cao YS, Ang CM (2009) Coupled UASB - activated sludge process for COD and nitrogen removals in municipal sewage treatment in warm climate. **Water Science e Technology** 60:2829-2839.

Capper JL, Cady RA, Bauman DE (2009) The environmental impact of milk production: 1944 compared to 2007. **Journal of Animal Science** 87:2160-2167.

Carballa M, Smits M, Etchebehere C, Boon N, Verstraete W (2011) Correlations between molecular and operational parameters in continuous lab-scale anaerobic reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology** 89:303-314.

Carvalho HP, Silva IJO (2006) Metais pesados presentes na água residuária de sistema de exploração leiteira do tipo “freestall”. **Revista Eletrônica Thesis** 6:1-8.

Carmo JB, S Filoso et al. (2013) Infield greenhouse gas emissions from sugarcane soils in Brazil: Effects from synthetic and organic fertilizer application and crop trash accumulation. **GCB Bioenergy** 5:267-280.

Castelle CJ, Wrighton, et al. (2015) Genomic expansion of domain archaea highlights roles for organisms from new phyla in anaerobic carbon cycling, **Current Biology** 25:690-701.

Catapan A, Catapan DC, Catapan EA (2011) Formas alternativas de geração de energia elétrica a partir do biogás: uma abordagem do custo de geração da energia. **Revista Online Custos e Agronegócio** 7.

Cervi RG, Esperancini MST, Bueno OC (2010) Viabilidade econômica da utilização do biogás produzido em granja suínica para geração de energia elétrica. **Engenharia agrícola** 30:831-844

Cileite centro de inteligência do leite Embrapa. **Produção de leite no Brasil 2020**. Disponível em <https://www.cileite.com.br/content/leite-mapas>, acesso em 20/04/21.

Chadwick D, Sommer S, Thoman R, Fangueiro D, Cardenas L, Amon B, Misselbrook T (2011) Manure management: implications for greenhouse gas emissions. **Animal Feed Science and Technology** 166/167:514-531

Chandra R, Takeuchi H, Hasegawa T (2012) Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 16:1462-1476.

Chang YI, Cheng HP, Lai SH, Ning H (2014) Biodegradation of naphthalene in the oil refinery wastewater by enriched activated sludge. **International Biodeterioration e Biodegradation** 86:272-277.

Chaudhary DK, Khulan A, Kim J (2019) Development of a novel cultivation technique for uncultured soil bacteria. **Sci. Rep.** 9:6666.

Chen XP, Cui ZL, et al. (2014) Producing more grain with lower environmental costs. **Nature** 514, 486–489.

Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics** 34(17), i884-i890.

Chen JL, Ortiz R, Steele TWJ, Stuckey DC (2014) Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances** 32:1523-1534.

Chen Y, Yu B, Yin CK, Zhang C, Dai XH, Yuan HP, Zhu NW (2016) Biostimulation by direct voltage to enhance anaerobic digestion of waste activated sludge. **RSC Advances** 6:1581-1588.

Chen G, Liu H, Zhang W, Li B, Liu L, Wang G (2018) Roxarsone exposure jeopardizes nitrogen removal and regulates bacterial community in biological sequential batch reactors. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 159:232-239.

Chellapandi P, Bharathi M, Sangavai C, Prathiviraj R (2018) Methanobacterium formicum as a target rumen methanogen for the development of new methane mitigation interventions: A review. **Veterinary and Animal Science** 6:86-94

Chernicharo CAL (2016). **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA/UFMG), 2016. p. 379.

Chernicharo CAL, Van Lier JB, Noyola A, Bressani RT (2015) Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Rev Environmental Science Biotechnol* 14:649-679.

Cherobim VF, Huang Chi-hua, Favaretto N (2017) Tillage system and time post-liquid dairy manure: Effects on runoff, sediment and nutrients losses. **Agricultural Water Management** 184:96-103.

Cho SK, Jung KW, Kim DH, Kwon JC, Ijaz UZ, Shin SG (2017) Bacterial community analysis in upflow multilayer anaerobic reactor treating high-solids organic wastes. **Biotechnology Progress** 33:1226-1234.

Chong S, Sen TK, Kayaalp A, Ang HM (2012) The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. **Water Research** 46:3434-3470.

Chon DH, Rome MN, Park KY, Park C (2012) **Investigation of a new anaerobic side-stream reactor (ASSR) process for minimized sludge production at wastewater treatment systems**. In: (ed) IWA World Water Congress & Exhibition, Busan, South Korea, p.16-21.

Choong YY, Norli I, Abdullah AZ, Yhaya MF (2016) Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review. **Bioresource Technology** 209:369–379.

Colombo LT, Oliveira, MNV, et al. (2016) Applying functional metagenomics to search for novel lignocellulosic enzymes in a microbial consortium derived from a thermophilic composting phase of sugarcane bagasse and cow manure. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology** 109:1217-1233.

Cook SM, Skerlos SJ, Raskin L, Love NG (2017) A stability assessment tool for anaerobic codigestion. **Water Resource** 112:19-28.

Coppolecchia D, Gardoni D, Baldini C, Borgonovo F, Guarino M (2015) The influence on biogas production of three slurry-handling systems in dairy farms. **Journal of Agricultural Engineering** 46:30-35.

Cordeiro GC (2001) **Qualidade da água para irrigação (conceitos básicos e práticos)**. Petrolina, PE: Embrapa SemiÁrido, 32 p.; il.; 21 cm - (Embrapa Semi-Árido. Documentos; 167).

Costa TB (2005) **Desempenho de reato em batelada seqüencial (RBS) com enchimento escalonado no tratamento de esgoto sanitário doméstico**. f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - UFSC Florianopolis.

Daims H, Nielsen JL, Nielsen PH, Schleifer KH, Wagner M (2001) Characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. **Applied and Environmental Microbiology** 67:5273-5284.

Dahlin J, Nelles M, Herbes C (2017) Biogas digestate management : Evaluating the attitudes and perceptions of German gardeners towards digestate-based soil amendments. **Resources Conservation and Recycling** 118:27-38.

Davison BH, Parks J, Davis MF, Donohoe BS (2013) Plant cell walls: basics of structure, chemistry, accessibility and the influence on conversion. Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to. **Fuels and Chemicals**. p.23-38.

De Baere LA, Devocht M, Van Assche P, Verstraete W (1984) Influence of high NaCl and HN4C1 salt levels on methanogenic associations. **Water Resource**. 18:543-548.

De Francisci D, Kougias PG, Treu L, Campanaro S, Angelidaki I (2015) Microbial diversity and dynamism of biogas reactors due to radical changes in the composition of the raw material. **Bioresource Technology** 176:56-64.

De Kreuk MK, Pronk M, Van Loosdrecht MCM (2005) Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. **Water Research** 39:4476-4484.

Deng L, Zheng P, Chen Z, Mahmood Q (2008) Improvement in post-treatment of digested swine wastewater. **Bioresource Technology** 99:3136-3145.

Delforno TP, Jr Lacerda GV, Sierra-Garcia EM, Okada DY, Macedo TZ, Vareshe MBA, Oliveira VM (2017) Metagenomic analysis of the microbiome in three different bioreactor configurations applied to commercial laundry wastewater treatment. **Science of the Total Environment** 587-588:389-398.

Deublein D, Steinhauser A (Eds) (2008) **Biogas from Waste and Renewable Resources**. An Introduction. Wiley-VCH.p. 443.

Dias T, Fragoso R, Duarte E (2014) Bioresource Technology Anaerobic co-digestion of dairy cattle manure and pear waste. **Bioresource Technology** 164:420–423.

Dias JC (2012) As raízes leiteiras do Brasil. 11^a. ed. São Paulo: Barleus, 2012. 167 p.

DiLallo R, Albertson OE (1961) Volatile acids by direct titration. **Journal Water Pollution and Control** 33:356-365

Dollhofer V, Podmirseg SM, Callaghan TM, Griffith GW, Fliegerová K (2015) Anaerobic Fungi and Their Potential for Biogas Production. **Biogas Science and Technology** 151:41-61.

Dortet L, Legrand P, Soussy CJ, Cattoir V (2006) Bacterial Identification, Clinical Significance, and Antimicrobial Susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, Two Frequently Misidentified Opportunistic Pathogens. **Journal of Clinical Microbiology** 44:4471-4478.

Duan N, Zhang D, Lin C, Zhang Y, Zhao L, Liu H (2019) Effect of organic loading rate on anaerobic digestion of pig manure : Methane production , mass flow, reactor scale and heating scenarios. **Journal of Environmental Management** 231:646-652.

Dubey K, Meena RK, Sao S, Patel J, Thakur S, Shukla P (2014) Isolation and Characterization of Cellulose Degrading Bacteria from Biogas Slurry and their RAPD profiling Sumit. **Current Research in Microbiology and Biotechnology** 2:416-421.

Duda RM (2006) **Desempenho de reatores seqüenciais em batelada anaeróbios em dois estágios seguidos de lagoas de polimento em série para o tratamento de águas residuárias de suinocultura.** 2006. 146 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - UNESP, Jaboticabal, 2006.

Duda RM (2010) **Desempenho de sistema composto por reatores anaeróbios em série seguido de filtro biológico percolador no tratamento de águas residuárias de suinocultura.** 241p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias) - UNESP, Jaboticabal.

Duda RM, Oliveira RA (2011) Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator UASB e filtro anaeróbio em série seguidos de filtro biológico percolador. **Engenharia Sanitária e Ambiental** 16:91–100.

Duda RM, Vantini JS, Martins LS, Mello Varani A, Lemos MVF, Ferro MIT, Oliveira, RA (2015) A balanced microbiota efficiently produces methane in a novel high-rate horizontal anaerobic reactor for the treatment of swine wastewater. **Bioresource Technology** 197:152-160.

Dutta A, Sarkar S (2015) Sequencing batch reactor for wastewater treatment: recent advances. **Current Pollution Reports** 1:177–190.

Durr JW (2004) Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite: PNQL. In: Durr, J.W., Carvalho, M. P., Santos, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite.** Passo Fundo: Editora UPF, p. 38-55.

Eastman JA, Ferguson JF (1981). Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. **Journal Water Pollution Control Federation** 53:352–366.

Edgar, R. (2010). Usearch. **Lawrence Berkeley National Lab.(LBNL)**, Berkeley, CA (United States).

Edwards EJ, Mcewan RN, Travis JA, Wallace RJ (2004) 16S rDNA library based analysis of ruminal bacterial diversity. **Antonie Van Leeuwenhoek** 86: 263-281.

El-Mashad HM, Zhang M (2010) Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. **Bioresource Technology** 101:4021-4028.

Ekama, G (2015) Recent developments in biological nutrient removal. **Water SA**. 41:515-524.

Elmolla ES, Ramdass N, Chaudhuri M (2012) Optimization of Sequencing Batch Reactor Operating Conditions for Treatment of High Strength Pharmaceutical Wastewater. **Journal of Environmental Science and Technology** 5:452-459.

Emater, empresa de assistência técnica e extensão rural (2015) **Bem-estar animal: bovinocultura de leite**. EMATER. Rio Grande do Sul/ ASCAR. Embrapa, **Anuário leite 2019**: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. Disponível em <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>, Acesso, 10 agosto/2020.

Embrapa, **Anuário leite 2020**: Leite de vacas felizes. Disponível em Embrapa, empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Setor leiteiro deve sofrer menos com a pandemia. disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/52006031/setor-leiteiro-deve-sofrer-menos-com-pandemia-de-covid-19>. Acesso 20/10/2020.

Embrapa, **Anuário leite 2021**: Saúde única e total. Disponível em Embrapa, empresa brasileira de pesquisa agropecuária. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total> Acesso 08/01/22.

Embrapa gado de leite (2003) **Sistema de produção de leite** (Zona da Mata Atlântica). Disponível em <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteZonadaMataAtlantica/index.htm>. Acesso 25/09/2020.

Emerson K, Lund RE, Thurston RV, Russo RC (1975) Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada** 12:2379-2383.

Epa - United States Environmental Protection Agency AgSTAR (2018) **Biogas recovery in the agricultural sector, Do you have manure? Want energy? We can help.** <https://www.epa.gov/agstar/got-manure-want-energy-we-can-help> (acessado em 18 de Julho de 2020).

Erthal VJT, Ferreira PA, Matos AT, Pereira OG (2010) Physical and chemical changes in an Luvisol by the application of cattle farm wastewater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 14:467-477.

Etchebehere C, Catelló E, et al. 2016. Microbial communities from 20 different hydrogenproducing reactors studied by 454 pyrosequencing. **Applied Microbiology and Biotechnology** 7:3371-3384.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (1994) Organização das Nações Unidas Para Agricultura e Alimentação . Water quality for agriculture - Irrigation and drainage paper.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013) Milk and dairy products in human nutrition. Rome, 2013. Disponível em: <www.fao.org/docrep/018/i3396e/i3396e.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2020.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016) Faostat: statistics division, trade, download data, crops and livestock products. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP/metadata>> Acesso em: 08 out. 2020.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO STAT - Livestock Primary. Roma, Italy, 2019. Disponível em: <<https://www.fao.org/publications/card/en/c/CA2929EN/>>. Acesso em: 16 set.. 2022.

Fan Y, Van Jaromír J, Perry S, Tin C (2019) Anaerobic digestion of lignocellulosic waste: Environmental impact and economic assessment. **Journal Environmental. Management** 231:352–363.

Facchin V, Cavinato C, Fatone F, Pavan P, Cecchi F, Bolzonella D (2013). Effect of trace element supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of foodwaste in batch trials: The influence of inoculum origin. **Biochemical Engineering Journal** 70:1054 71-77.

Fernández AS, Hashsham SA, Dollhopf SL, Raskin L, Glagoleva O, Dazzo FB, Hickey RF, Criddle CS, Tiedje JM (2000) Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. **Applied and Environmental Microbiology** 66, 9:4058-4067.

FIESP - Federação Das Indústrias Do Estado De São Paulo. Outlook 2015-2026: **Projeções para o agronegócio brasileiro**. São Paulo: Fiesp, 2016. 90 p. <<https://outlookdeagro.azurewebsites.net/OutLookDeagro/pt-BR>> Acesso em 10 out. 2021.

Ferreira BO (2015) **Avaliação de um sistema de metanização de resíduos orgânicos alimentares com vistas ao aproveitamento energético do biogás**. 125 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - UFMG Belo Horizonte.

Fia R (2009) **Desempenho de sisitemas alagados construídos no tratamento de águas residuárias da lavagem e descascamento/despolpa dos frutos do cafeeiro** 195 p. (Tese de Doutorado em Doutorado em Construções rurais e ambiência; Energia na agricultura; Mecanização agrícola; Processamento de produtos) - UFV Viçosa.

Fitamo T, Treu L, Boldrin A, Sartori C, Angelidaki I, Scheutz C (2017) Microbial population dynamics in urban organic waste anaerobic co-digestion with mixed sludge during a change in feedstock composition and different hydraulic retention times. **Water Resource** 118:261–271.

Font-palma C (2019) Methods for the Treatment of Cattle Manure — A Review. **Journal of Carbon Research** 5:27

Francisco Junior WE (2008) Carboidratos: Estrutura, Propriedades e Funções. **Química Nova na Escola** 29:2008.

Freitas, KA 92019) **Co-digestão Anaeróbia de Águas Residuárias da Bovinocultura de Leite e do Despolpamento de Frutos do Cafeeiro em Reatores Uasb em Dois Estágios**. 82f. Dissertação (Mestrado em microbiologia agropecuária) - UNESP, Jaboticabal.

Fonseca YA, Silva NCS, Camargos AB, Silva SQ, Wandurraga HJL, Gurgel LVA, Baêta BEL (2021) Influence of hydrothermal pretreatment conditions, typology of anaerobic digestion system, and microbial profile in the production of volatile fatty acids from olive mill solid waste. **Journal of Environmental Chemical Engineering** 9:105055

Foresti E, Florêncio L, Haandel A, van Zaiat M, Cavalcanti PFF (1999) **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbico e disposição controlada no solo** Rio de Janeiro: ABES, 1999. cap. 2, p. 29-52

Franco TR, Buffière P, Bayard R (2017) Cattle manure for biogas production. Does ensiling and wheat straw addition enhance preservation of biomass and methane potential? **Biofuels** 0:1-12.

Fukuyama Y, Inoue M, Omae K, Yoshida T, Sako S (2020) Chapter Three - Anaerobic and hydrogenogenic carbon monoxide-oxidizing prokaryotes: Versatile microbial conversion of a toxic gas into an available energy. **Advances in Applied Microbiology** 110:99-148.

Fuhs GW, Chen M (1975) Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. **Microbial Ecology** 2:119-138.

García H, Rico C, García PA, Rico JL (2008) Flocculants effect in biomass retention in a UASB reactor treating dairy manure. **Bioresource Technology** 99:6028-6036.

Garcia-Peña E, Parameswaran P, Kang DW, Canulhan R, Krajmalnik B (2011) Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: process and microbial ecology. **Bioresource Technology** 102:9447-9455.

Gao D, Liu L, Liang H, Wu WM (2011) Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. **Critical Reviews in Biotechnology** 31:137-152.

GDP – Global Dairy Platform (2017) **Annual Review 2016** Disponível em: <<https://www.globaldairyplatform.com/wp-content/uploads/2018/04/2016-annual-review-final.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2019.

Gerardi MH (2003). **The Microbiology of Anaerobic Digesters**. New Jersey: John Wiley & Sons. p. 192.

Gerardi MH (2006) **Wastewater bacteria**. Estados Unidos, p.255.

Gies EA, Konwar KM, Beatty JT, Hallam SJ (2014) Illuminating microbial dark matter in meromictic Sakinaw Lake. **Applied and Environmental Microbiology** 80:6807-6818.

Gomes JNC (2014) **Potencial de produção de energia a partir da biometanização de resíduos orgânicos do Câmpus Pampulha da UFMG**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - UFMG, Belo Horizonte.

Godoy-Olmos S, Martínez LS, Vidal TA, Monge-Ortiz R, Estruch G, Jover-Cerdá (2020) Influence of temperature, ammonia load and hydraulic loading on the performance of nitrifying trickling filters for recirculating aquaculture systems. **Journal of Environmental Chemical Engineering** 7:103257.

Gonçalves RF, Veronez FA, Bernardes CF, Kissling DMS, Cassini STA (2001) Desempenho de um reator UASB na digestão de esgoto sanitário e lodo aeróbio descartado de biofiltros aerados submersos - escala 1000 habitantes. In: **Anais** Congresso Associação Brasileira de Engenharia Sanitária - ABES, João Pessoa .

Gonçalves RF et al. (2001). In: Chernicharo CAL (coordenador). **Pós Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. PROSAB 2 – Programa de Pesquisas em Saneamento Básico. 1ª ed. Belo Horizonte, 544p.

Goux X, Calusinska M, Fossépré M, Benizri E, Delfosse P (2016) Start-up phase of an anaerobic full-scale farm reactor - Appearance of mesophilic anaerobic conditions and establishment of the methanogenic microbial community. **Bioresource Technology** 212:217–226.

Goux X, Calusinska M, Lemaigre S, Marynowska M, Klocke M, Udelhoven T, Benizri E, Delfosse P (2015) Microbial community dynamics in replicate anaerobic digesters exposed sequentially to increasing organic loading rate, acidosis, and process recovery, **Biotechnology Biofuels** 8:122.

Güngör K, Karthikeyan KG (2008) Phosphorus forms and extractability in dairy manure: a case study for Wisconsin on-farm anaerobic digesters. **Bioresource Technology** 99:425-436.

Guo J, Xu YF (2011) Review of enzymatic sludge hydrolysis. **Bioremediation & Biodegradation** 2:2-7.

Guo J, Peng Y, Ni BJ, Han X, Fan L, Yuan Z (2015) Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing. **Microbial Cell Factories** 14:33.

Gupta U, Solanki H (2013) Impact of boron deficiency on plant growth. **International Journal Bioassays** 2:1048-1050.

Gurmessa B, Pedretti EF, Cocco S, Cardelli V, Corti G (2020). Effects of anaerobic manure digestion and the role of pre- and post-treatments in veterinary antibiotics and the efficiency of removing antibiotic resistance genes. **Science of The Total Environment** 721:137532.

Hailu AM, Palani SG, Asfaw SL, Tegaye TA (2021) Insight into microbial community diversity and composition of two-stage anaerobic digestion: Focusing methanogenic stage. **Bioresource Technology Reports** 15.

Hamilton C, Calusinska M, Baptista S, Masset J, Backers L, Thonart P, Hilgsmann S (2018) Effect of the nitrogen source on the hydrogen production metabolism and hydrogenases of *Clostridium butyricum* CWBI1009. **International Journal of Hydrogen Energy** 43:5451-5462.

Han Y, Liu F, Xu X, Yan Z, Liu Z (2018) Nitrogen removal via a single stage PNAmmox process in a novel combined biofilm reactor. **Water Science Technology** 77 6:1483-1492.

Hansen J, Sato M, Glascoe J, Ruedy R (1998) A common-sense climate index: Is climate changing noticeably? **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America** 95:4113-4120.

Hawari AH, Mulligan CN (2007) Heavy metals uptake mechanisms in a fixed-bed column by calcium-treated anaerobic biomass. **Process Biochemistry** 41:187- 198.

He Z, Pagliari PH, Waldrip HM (2016) Applied and Environmental Chemistry of Animal Manure: A Review. **Pedosphere** 26:779-816.

Head IM, Saunders JR, Pickup RW (1998) Microbial evolution, diversity and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms **Microbial Ecology** 35:1-21

Hedlund BP, Dodsworth JA, Murugapiran SK, Rinke C, Woyke T (2014) Impact of single-cell genomics and metagenomics on the emerging view of extremophile “microbial dark matter.” **Extremophiles** 18:865-875.

Henrique IN, Sousa JT, Ceballos BSO, Brasil DP (2010) Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Revista de engenharia sanitária e ambiental** 15:197-204.

Henrique NI, Silva LSM, Sousa KA, Sousa C, Sousa JT (2019) Utilização de reator UASB seguido de filtro biológico percolador no tratamento de esgoto doméstico. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária. **Resumos...**Natal

Holly MA, Larson RA, Powell, JM, Ruark MD, Aguirre-villegas H (2017) Agriculture, Ecosystems and Environment Greenhouse gas and ammonia emissions from digested and separated dairy manure during storage and after land application. **Agriculture, Ecosystems & Environmental** 239:410-419.

Hori T, Haruta S, Ueno Y, Ishii M, Igarashi Y (2006) Dynamic transition of a methanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a thermophilic anaerobic digester. **Applied and Environmental Microbiology** 72:1623- 1630.

Hreiz R, Latifi MA, Roche N (2015) Optimal design and operation of activated sludge processes: state-of-the-art. **Chemical Engineering** 281:900-920.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2020) **Pesquisa Trimestral do Leite**. Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html>. Acesso 16 jun. 2021.

Insam H, Franke-Whittle I, Goberna M (2010) Microbes Aerobic and Anaerobic Waste Treatment. in: H. Insam, I. Franke-Whittle, M. Goberna (Eds.), *Microbes at Work. From Waste to Resources*. **Springer** p.1-34.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas**. Brasília, 2012

Irawati W, Parhusip AJN, Sopiah N, Tnunay JA (2017). The role of bacteria resistant to heavy metals *Acinetobacter* sp. in Copper Phytoremediation using *Eichhornia crasippes* [(Mart.) Solms. **KnE Publishing** 3:208-220.

Jami E, Israel A, Kotser A, Mizrahi I (2013) Exploring the rumen bovine bacterial community from birth to adulthood. **The ISME Journal** 7:1069–1079 (2013).

Jenkins SR, Morgan JM, Sawyer R CL (1983) Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. **Journal Water Pollution Control** 55:448-453.

Jetten MSM, Stams AJM, Zehnder AJB (1992) Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanotrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. **FEMS Microbiology Reviews** 88:181-198.

Ji Y, Liu P, Conrad R (2018) Response of fermenting bacterial and methanogenic archaeal communities in paddy soil to progressing rice straw degradation. **Soil Biology and Biochemistry** 124:70-80,

Jonge N, Moset V, Møller HB, Nielsen JL (2017) Microbial population dynamics in continuous anaerobic digester systems during start up, stable conditions and recovery after starvation. **Bioresource Technology** 232:313-320.

Jorge MF, Silva LDB, Barros FC, Lopes AD, Huther CM, Melo ACF, Cecchin D (2022) influência da aplicação de água residuária bovina nos atributos químicos do solo cultivado com cenoura. **Conjecturas** 1657-5830:14.

Jorge MF, Pinho CF, Nascentes AL, Alves DG, Almeida GV, Silva JB, Silva LD (2017). Tomato fertigation with dairy cattle wastewater. **Horticultura Brasileira**. 35:230–234.

Jordão EP, Pessôa CA (2014) **Tratamento de esgotos domésticos**. 7ª edição. Rio de Janeiro, 2014. p 1050.

Jordão EP, Pessôa CA (2011) **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 6ª ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011.

Joshi J, Wang J (2018) Manure management coupled with bioenergy production: An environmental and economic assessment of large dairies in New Mexico. **Energy Economics** 74:197-201.

Jucherski A., Walczowska A, Bugajski P, Jóźwiakowski K (2019) Technological reliability of domestic wastewater purification in a small Sequencing Batch Biofilm Reactor (SBBR). **separation and purification technology** 224:340–347.

Kadnikov VV, Mardanov AV, Podosokorskaya OA, Gavrilov SN, Kublanov LV, Bonch-Osmolovskaya EA, Ravin NV (2013). Genomic analysis of *Melioribacter roseus*, facultatively anaerobic organotrophic bacterium representing a novel deep lineage within. **Plos One** 8:53047.

Kapdan IK, Kargi F (2006) Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology** 38:569-582.

Khalid A, Arshad M, Anjum M, Mahmood T, Dawson L (2011) The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste management** 31:1737-1744.

Khatri S, Wu S, Kizito S, Zhang W, Li J, Dong R (2015) Synergistic effect of alkaline pretreatment and Fe dosing on batch anaerobic digestion of maize straw. **Applied Energy** 158:55-64.

Kim M, Gomec CY, Ahn Y, Speece RE (2003) Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. **Environmental Technology** 24:1183-1190.

Kim Y, Chung E, Jun S, Kim SU (2013) Prioritizing the best sites for treated wastewater instream use in an urban watershed using fuzzy TOPSIS. **Resources, Conservation and Recycling** 73:23-32.

Hyungjin K, Krishna P (2003) Competitive Growth of *Gordonia* and *Acinetobacter* in Continuous Flow Aerobic and Anaerobic/Aerobic Reactors. **Journal Of Bioscience And Bioengineering** 577-582

Kothari R, Pandey AK, Kumar S, Tyagi VV, Tyagi SK (2014) Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 39:174–195.

Kolecka K, Gajewska M, Cytawa S, Stepnowski P (2020) Is sequential batch reactor an efficient technology to protect recipient against non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol in treated wastewater?. **Biorresource Tecnology** 318:124068

Kong Z, Li L, Kurihara R, Kubota K, Li YY (2018) Anaerobic treatment of N, N-dimethylformamide-containing wastewater by co-culturing two sources of inoculum. **Water Research** 39:228-239.

Kougias PG, Campanaro S, Treu L, Tsapekos P, Armani A, Angelidaki I (2018) Spatial distribution and diverse metabolic functions of lignocellulosedegrading uncultured bacteria as revealed by genomecentric metagenomics. **Applied and Environmental Microbiology** 84:1–14.

Kratky L, Jirout T (2011) Biomass size reduction machines for enhancing biogas 1096 production. **Chemical Engineering Technology** 34:391-399.

Kröber M, Bekel T, Diaz N, Goesmann A, Jaenicke S, Krause L, Miller D, Runte K, Viehover P, Puhler A, Schluter A. Phylogenetic characterization of a biogas plant microbial community integrating clone library 16S-rDNA sequences and metagenome sequence data obtained by 454-pyrosequencing. **Journal of Biotechnology** 142:38-49.

Kudisi D, Lu X, Zheng C, Wang Y, Cai T, Li W, Hu L, Zhang R, Zhang Y, Zhen G (2022) Long-term performance, membrane fouling behaviors and microbial community in a hollow fiber anaerobic membrane bioreactor (HF-AnMBR) treating synthetic terephthalic acid-containing wastewater. **Journal of Hazardous Materials** 424B.

Kumari S, Regar RK, Manickam N (2018) Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria. **Bioresource Technology** 254:17-179.

Kunz A, Steinmetz RLR, Amaral AC (2019) Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato **Sbera: Embrapa Suínos e Aves**, 209 p.

Lage OM, Bondoso J (2014) Planctomycetes and macroalgae, a striking association. **Frontier Microbiology** 5:1-9.

Leclerc A, Laurent A. (2017) Science of the Total Environment Framework for estimating toxic releases from the application of manure on agricultural soil: National release inventories for heavy metals in 2000 – 2014. **Science of the Total Environment** 590-591:452-460.

Lee DJ, Chen YY, Show KY, Whitele CG, Tay JH (2010) Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances** 28:919–934.

Lee SH, Park JH, Kang HJ, Lee YH, Lee TJ, Park HD (2013) Distribution and abundance of Spirochaetes in full-scale anaerobic digesters. **Bioresource Technology** 145:25-32.

Lee CG, Baba Y, Asano R, Fukuda Y, Tada C, Nakai Y (2020) Identification of bacteria involved in the decomposition of lignocellulosic biomass treated with cow rumen fluid by metagenomic analysis, **Journal of Bioscience and Bioengineering** 130:2.

Leite VD, Sousa JT, Lopes WS, Henrique IN, Barros AJM (2015) Bioestabilização anaeróbica de resíduos sólidos orgânicos: aspectos quantitativos. **Tecno-Lógica** 18:90-96.

Leite JLB, Resende JC, Stock LA (2020) balança comercial de lácteos: estabilidade e déficit reduzido. In: **Anuário leite 2020: Leite de vacas felizes**. Embrapa, 2020.p.53.

Lemos LN, Medeiros JD, Dini-Andreote F, Fernandes GR, Varani AM, Oliveira G, Pylro VS (2019) Genomic signatures and co-occurrence patterns of the ultra-small Saccharimonadia (phylum CPR/Patescibacteria) suggest a symbiotic lifestyle. **Molecular Ecology** 28:4259-4271.

Leng L, Yang P et al. (2018) A review on the bioenergetics of anaerobic microbial metabolism close to the thermodynamic limits and its implications for digestion applications. **Bioresource Technology** 247:1095-1106.

Lettinga G, Velsen AFM van, Hobma SW, Zeeuw W, Klapwijk A (1980) Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially anaerobic treatment. **Biotechnology Bioengineering** 22:699-734.

Levén L, Eriksson ARB, Schnurer A (2007) Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. **Microbiology Ecology** 59:683-693.

Liang S, McDonald AG (2015) Anaerobic digestion of pre-fermented potato peel wastes for methane production. **Waste Management** 46:197-200.

Li B, Dinkle K, Zhao N, Sobhi M, Merkle W, Liu S, Dong R, Oechsner H, Guo J (2020) Influence of anaerobic digestion on the labile phosphorus in pig, chicken, and dairy manure. **Science of The Total Environment** 737:140234

Li Y, Park SY, Zhu J (2011) Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 15:821-826.

Li Y, Zhang R, Liu X, Chen C, Xiao X, Feng L, He Y, Liu G (2013) Evaluating methane production from anaerobic mono- and co-digestion of kitchen waste, corn stover, and chicken manure. **Energy and Fuels** 27:2085-2091.

Libutti A, Gatta G, Gagliardi A, Vergine P, Pollice A, Beneduce L, Disciglio G, Tarantino E (2018) Agro-industrial wastewater reuse for irrigation of a vegetable crop succession under Mediterranean conditions. **Agricultural Water Management** 196:1-14.

Lima DM, Cunha RL, Pinho EVRV. Guimarães RJ (2003) Efeito da adubação foliar no cafeeiro, em sua produção e na qualidade fisiológica de sementes. **Ciência Agrotécnica**. Edição Especial:1499-1505.

Liu Y, Qian Y, Yong X, Jia H, Wei P, Zhou J (2021) Effects of granular activated carbon and temperature on the viscosity and methane yield of anaerobically digested of corn straw with different dry matter concentrations. **Bioresource Technology** 332.

Liu C, Guo T, Chen Y, Meng Q, Zhu C, Huang H (2018) Physicochemical characteristics of stored cattle manure affect methane emissions by inducing divergence of methanogens that have different interactions with bacteria. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 253:38-47.

Liu X, Zhou Y, Zhang J, Luo L, Yang Y, Huang H, Peng H, Tang L, Mu Y (2018) Insight into electro-Fenton and photo-Fenton for the degradation of antibiotics: mechanism study and research gaps **Chemical Engineering Journal** 347:379-397.

Liu Y, Zhou J, Fu W, Zhang P, Pan X, Xie E (2017) In situ synthesis of CoSx@carbon core-shell nanospheres decorated in carbon nanofibers for capacitor electrodes with superior rate and cycling performances. **Carbon** 114:187-197.

Liu Y, Zhu Y, Jia H, Yong X, Zhang L, Zhou J, Cao Z, Kruse A, Wei P (2017) Effects of different biofilm carriers on biogas production during anaerobic digestion of corn straw. **Bioresource Technology** 244:445-451

Liu Y, Balkwill DL, Aldrich HC, Drake GR, Boone DR (1999) Characterization of the anaerobic propionate-degrading syntrophs *Smithella propionica* gen. nov., sp. nov. and *Syntrophobacter wolinii*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 49:545-556.

Lymperatou A, Gavala HN, Skiadas IV (2017) Optimization of Aqueous Ammonia Soaking of manure fibers by Response Surface Methodology for unlocking the methane potential of swine manure. **Bioresource Technology** 244:509-516.

Luo G, Angelidaki I (2014) Analysis of bacterial communities and bacterial pathogens in a biogas plant by the combination of ethidium monoazide, PCR and ion torrent sequencing. **Water Research** 60:156-63.

Luo G, Francisi D, Kougias PG, Laura T, Zhu X, Angelidaki I (2015) New steady-state microbial community compositions and process performances in biogas reactors induced by temperature disturbances. **Biotechnol Biofuels** 3.

Luo G, Fotidis IA, Angelidaki I (2016) Comparative analysis of taxonomic, distribution and metabolic patterns of microbiomes of 14 biogas reactors in full scale by metagenomic sequencing and radioisotopic analysis. **Biotechnology Biofuels** 9:51.

Luo J, Li Y, Yibing L, Han L, Xinyang F, Yuxiao L, Wenxuan H, Jiashun C, Yang W (2021) Waste-to-energy: Cellulase induced waste activated sludge and paper waste co-fermentation for efficient volatile fatty acids production and underlying mechanisms. **Bioresource Technology** 341.

Ma J, Wang Z, Yang Y, Mei X, Wu Z (2013) Correlating microbial community structure and composition with aeration intensity in submerged membrane bioreactors by 454 highthroughput pyrosequencing. **Water Resource** 47:859-869.

Machado, F.S., Pereira, L.G.R., Guimarães Júnior, R., Lopes, F.C.F., Chaves, A. V., Campos, M.M., Morenz, M.J.F., 2011. Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação. **Embrapa Gado Leite** 1–92.

Maciel AM, Silva JBG, Nacsimento AM, Paula VR, Otenio MH (2019) Aplicação de biofertilizante de bovinocultura leiteira em um planossolo. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente** 12:151-171.

Madigan MT, Martinko J, Dunlap PV, Clark DP (2010) **Microbiologia de Brock**, 12a edição, Editora Artmed, Porto Alegre, 1160p.

Magoč, T., & Salzberg, S. L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, 27(21), 2957-2963.

Manyika J, Chui M, Miremadi M, Bughin J, George K, Willmott P, Dewhurst T M (2017) A future that works: automation, employment, and productivity. [S.l.]: **McKinsey Global Institute**.

Mao, H, Lv Z, Sun H, Li R, Zhai B, Wang Z, Zhou L (2018) Improvement of biochar and bacterial powder addition on gaseous emission and bacterial community in pig manure compost. **Bioresource. Technology** 258:195-202.

Mao C, Feng Y, Wang X, Ren G (2015) Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable Sustainable Energy Reviews** 45: 540–555.

Mao S, Zhang R, Wang D (2012) The diversity of the fecal bacterial community and its relationship with the concentration of volatile fatty acids in the feces during subacute rumen acidosis in dairy cows. **BMC Veterinary Research** 8:237.

MAPA. **Projeções do agronegócio: Brasil 2016/17 a 2026/27 Projeções de longo prazo**. Brasília: SPA/Mapa, 2017. p. 101.

Mahmoud M, Tawfika A, El-goharya F (2011) Use of down-flow hanging sponge (DHS) reactor as a promising post-treatment system for municipal wastewater. **Chemical Engineering Journal** 168:535–543.

Marchetto M, Campos JR, Reali MAP (2003) Remoção de fósforo de efluente de reator anaeróbio em reator com aeração intermitente seguido por flotação por ar dissolvido. **Engenharia sanitária e ambiental** 8:77-83.

Mardis ER (2008) Next-Generation DNA Sequencing Methods. **Annual Review of Genomics and Human Genetics** 9:387-402.

Mardis ER (2008) The impact of next-generation sequencing technology on genetics **Trends in Genetics** 24:133-141.

Martínez BLK, Gil BG, Nava MAF, Rueda PA, Lozano MB, (2020) A metagenomic assessment of microbial communities in anaerobic bioreactors and sediments: Taxonomic and functional relationships, **Anaerobe** 68:102296

Martinez D, Challacombe J, Morgenstern I, Hibbett DS, Schmoll M, Kubicek CP (2009) Genome, transcriptome, and secretome analysis of wood decay fungus *Postia placenta* supports unique mechanisms of lignocellulose conversion. *Proc Natl Acad Sci USA*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 106:1954-1959.

Martin Vincent N, Wei Y, Zhang J, Yu D, VTong J (2018) Characterization and Dynamic Shift of Microbial Communities during Start-Up, Overloading and Steady-State in an Anaerobic Membrane Bioreactor. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 15:7.

Martins AS, Ferreira BO, Ribeiro NC, Martins R, Leite LR, Oliveira G, Colturato LF, Chernicharo CA, Araujo JC (2016) Metagenomic analysis and performance of a mesophilic anaerobic reactor treating food waste at various load rates. **Environmental Technology** 38:1-11.

Martín-González L, Font X, Vicent T (2013) Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes. **Biochemical Engineering Journal** 76:1-5.

Maspolim Y, Zhou Y, Guo CH, Xiao KK, Ng WJ. (2015) Comparison of single-stage and two-phase anaerobic sludge digestion systems - performance and microbial community dynamics. **Chemosphere** 140: 54-62.

Matos AT, Matos MP (2017) **Disposição de águas residuárias no solo e em sistemas alagados construídos**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV. p. 371.

Matos CF, Pinheiro EFM, Paes JL, Lima E, Marques AS, Campos DVB (2015) Efeito da aplicação de biofertilizante de dejetos de bovino no solo e cultura do sorgo. In: 10º **Congresso** sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural. Universidade de São Paulo, São Paulo, Novembro, 2015.

Masih-das J, Tao W (2018) Anaerobic co-digestion of foodwaste with liquid dairy manure or manure digestate: Co-substrate limitation and inhibition. **Journal Environmental Management** 223:917-924.

Mazareli RCS, Duda RM, Leite VD, Oliveira RA (2016) Anaerobic co-digestion of vegetable waste and swine wastewater in high-rate horizontal reactors with fixed bed. **Waste Management** 52:112-121.

Mcmurdie PJ, Holmes S (2013) phyloseq: an r package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PloS one**.

Medeiros S, Gomes R, Bungenstab D (2015) Nutrição de Bovinos de corte: Fundamentos e aplicações. Brasília/DF: **EMBRAPA Gado de corte** 2015.p. 178.

Medeiros M (2011) **Pós-tratamento de efluente de lagoa facultativa fotossintética em filtros biológicos percoladores visando remoção de nitrogênio amoniacal**. 132 f. Dissertação (mestrado em engenharia Hidráulica) - Universidade de São Paulo.

Medeiros SS, Gheyi HR, Pérez-Marin AM, Soares FAL, Fernandes D (2011) Características químicas do solo sob algodoeiro em área que recebeu água residuária da suinocultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 35:1047-1055.

Melidis P, Georgiou D, Aivasidis A (2003) Scale-up and design optimization of anaerobic immobilized cell reactors for wastewater treatment. **Chemical Engineering Processing Process Intensification** 42:897-908.

Metcalf & Eddy (2003) **Wastewater engineering: treatment, and reuse**. New York: 1157 Inc., 4. ed., 1819 p.

Metcalf & Eddy (2016) **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

Mikryukov, V. (2019). metagMisc: **miscellaneous functions for metagenomic analysis**.

Moestedt J, Muller B, Westerholm M, Schnurer A (2016) Ammonia threshold for inhibition of anaerobic digestion of thin stillage and the importance of organic loading rate. **Microbial Biotechnology** 9: 180-194

Mockaitis G, Bruant, Guiot SR, Peixoto G, Foresti E, Zaiat M (2020) Acidic and thermal pre-treatments for anaerobic digestion inoculum to improve hydrogen and volatile fatty acid production using xylose as the substrate. **Renewable Energy** 145:1388-1398

Möller K, Schultheiß U (2014) Organische Handelsdüngemittel tierischer und pflanzlicher Herkunft für den ökologischen Landbau – **Charakterisierung und Empfehlungen für die Praxis**.

Montero-Díez R, Castrillo M, Casao M, Tejero I (2019) Model-based assessment of a drip filter installation update for biological nutrient removal. **Science total enviromental** 15:187-195.

Mosey FE (1983) Mathematical modelling of the anaerobic digestion: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science and Technology** 15:209-232.

Mota VC, Campos AT, Damasceno FA, Resende AM, Rezende CPA, Abreu LR, Vareiro T (2017) Confinamento para bovinos leiteiros: histórico e características. **Pubvet** 11(5):433-442.

Mu Y, Lin X, Wang, Z, Hou Q, Wang Y (2018) Production dairy cattle exhibit different rumen and fecal bacterial community and rumen metabolite profile than low- production cattle. **Microbiologyopen** 8:1-12.

Muller EB, Stouthamer AH, Van VHW (1995) Simultaneous NH₃ oxidation and N₂ production at reduced O₂ tensions by sewage sludge subcultured with chemolithotrophic medium. **Biodegradation** 6:339-349.

Mustafa AM, Poulsen TG, Sheng K (2016) Fungal pretreatment of rice straw with *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma reesei* to enhance methane production under solid-state anaerobic digestion. **Applied Energy** 180:661-671.

Morrill WBB, Rolim MM, Bezerra Neto E, Pedrosa EMR, Oliveira VS, Almeida GLP (2012) Produção e nutrientes minerais de milho forrageiro e sorgo sudão adubado com soro de leite. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 16:182-188.

Nobre RG, Gheyi HR, Soares FAL, Andrade, LO, Nascimento ECS (2010) Produção do girassol sob diferentes lâminas com efluentes domésticos e adubação orgânica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 14:747-754.

Nancharaiah YV, Reddy GKK (2018) Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology** 247:1128-1143.

Narihiro T, Nob MK, Kim NK, Kamagata Y, Liu WT (2015) The nexus of syntrophy-associated microbiota in anaerobic digestion revealed by long-term enrichment and community survey. **Environmental Microbiology** 17:1707-1720.

Nascimento MCP, Chernicharo CAL, Bejar DO (2001) Filtros biológicos aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB. **Anais... do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. João Pessoa: ABES – 194.

Nasir IM, Idaty T, Ghazi M (2015) Pretreatment of lignocellulosic biomass from animal manure as a means of enhancing biogas production. **Engineering in Life Sciences** 15:733-742.

Nakasaki K, Nguyen KK, Ballesteros FC, Maekawa T, Koyama M (2020) Characterizing the microbial community involved in anaerobic digestion of lipid-rich wastewater to produce methane gas. **Anaerobe** 61.

Neczaj E, Kacprzak M, Lach J, Okoniewska E (2007) Effect of sonication on combined treatment of landfill leachate and domestic sewage in SBR reactor. **Desalination** 204:227-233

Neshat SA, Mohammadi M, Najafpour GD, Lahijani P (2017) Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. **Renew Sustainable Energy Reviews** 79: 308-322.

Neto LGL, Costa RHR (2011) Tratamento de esgoto sanitário em reator híbrido em bateladas sequenciais: eficiência e estabilidade na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N, P), **Engenharia Sanitária e Ambiental** 16:411-420.

Nobu M, Narihiro T, Rinke KY, Tringe SG, Woyke T, Liu WT (2015) Microbial dark matter ecogenomics reveals complex synergistic networks in a methanogenic bioreactor. **The ISME Journal** 9, 1710–1722.

Nordell E, Nilsson B, Nilsson Påledal S, Karisalmi K, Moestedt J (2016) Co digestion of manure and industrial waste - The effects of trace element addition. **Waste Management** 47:21–27.

Niedringhaus TP, Milanova D, Kerby MB, Snyder MP, Barron AE (2011) Landscape of Next-Generation Sequencing Technologies. **Analytical chemistry** 83:4327-4341.

Oehmichen K, Thrän D (2017) Fostering renewable energy provision from manure in Germany – Where to implement GHG emission reduction incentives. **Energy Policy** 110:471-477.

Oliveira RA, Vazoller RF, Foresti E (1997) Sludge bed characteristics of UASB reactors: growth, activity, microbial structure and chemical composition of granules. In: International conference on anaerobic digestion, 8.,1997, Sendai, Japan. **Proceedings...** Sendai: IAWQ, p. 524-531

Oliveira RA, Foresti E (2004) Balanço de massa de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, Jaboticabal 24:807-820.

Oliveira RA, Santana AM (2011) 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 sequencial (RBS). **Engenharia Agrícola** 31:178-192.

Oliveira DMC, Peralta AH, Cardoso ML, Constizi RN (2015) Tratamento de água cinza através de um sistema alagado construído. **Revista Hipótese** 1:48-64.

Okada DY (2012) **Degradação de surfactantes aniônicos e reator UASB com água residuárias de lavanderia**. 237 f. Tese (Doutorado em ciências) Escola de Engenharia de São Carlos.

Okabe S, Ariesyady HD, Ito T (2007) Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full-scale anaerobic sludge digester. **Water Research** 41:1554-1568

Orozco FD, Patidar R, Levin DB, Sparling R, Kumar A, Çiçek N (2020) Effect of anaerobic mesophilic digestion on resistome profile of milk manure. **Bioresouce Technology** 315:123889.

Orrico ACA, Lopes WRT, Manarelli DM, Orrico Junior MAP, Sunada NS (2016) Codigestão anaeróbia dos dejetos de bovinos leiteiros e óleo de descarte. **Revista de Engenharia Agrícola, Jaboticabal** 36:537-545.

Otenio, M.H. Uso racional da água e manejo dos efluentes. In: **Anuário Leite 2020: Leite de vacas Felizes**. Embrapa. 2020 p. 53

Otenio MH, Paula VR, Costa LR, Magalhaes VMA (2020) Reaproveitamento de água residuária em sistemas de produção de leite em confinamento: conteúdos elaborados conforme a metodologia e-Rural. **Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico** 78:5.

Palhares JCP (2018) Pegada hídrica na produção de carne e leite bovino no Brasil. In. IV Simpósio Brasileiro de Produção de Ruminantes no Cerrado. 2018, Uberlândia. **Anais**. Uberlândia. 2018. 97 p.

Palakawong NAS, Oost HV, Oost JV, VLiet DMV, Plugge CM (2019) Diversidade microbiana e produção de ácido orgânico em amostras fecais de cobaias. **Current Microbiology** 76:425-434

Pandey S, Sarkar S (2017) Anaerobic treatment of wastewater using a two-stage packed-bed reactor containing polyvinyl alcohol gel beads as biofilm carrier. **Journal Environmental Chemical Engineering** 5:1575–1585.

Paliwal V, Puranik S, Purohit HJ (2012) Integrated perspective for effective bioremediation. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 166:903–924.

Patidar SK, Tare V (2006) Effect of nutrientes on biomass activity in degradation of sulfate laden organics. **Process Biochemistry** 41:489-495.

Passetti RAC, Eiras CE, Gomes LC, Santos JF, Prado IN (2016) Intensive dairy farming systems from Holland and Brazil: SWOT analyse comparison. **Acta Scientiarum Animal Sciences** 38:439-446.

Passos F, Ortega V, Barvo-Donosco A (2017) Thermochemical pretreatment and anaerobic digestion of dairy cow manure: experimental and economic evaluation. **Bioresource Technology** 227:2390-246.

Pedrotti A, Chagas RM, Ramos VC, Prata APN, Lucas AAT, Santos PB (2015) Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas** 19:1308-1324.

Pelissari C, Decezaro ST, Sezerino PH, Junior OC, Wolff DB, Philippi LS (2013) Wetlands construídos de fluxo vertical empregado no tratamento de efluente de bovinocultura leiteira gesta. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais** 1:223-233.

Pelletier A, Kreimeyer A, Zoé S, Gábor Gyapay R, Chouari R, Riviere D, Ganesan A, Daegelen P, Sghir A, Cohen GN, Médigue C, Weissenbach J, Paslier DL (2008) “*Candidatus* Cloacamonas acidaminovorans”: genome sequence reconstruction provides a first glimpse of a new bacterial division **Journal Bacteriology** 190:2572-2579.

Pereira LPF, Mercante CTJ (2005) A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca** 31:81-88.

Pérez J, Muñoz-Dorado J, De La Rubia T, Martínez J (2002) Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. **International Microbiology** 5:53–63.

Poli A, Finore I, Romano I, Gioiello A, Lama L, Nicolaus B (2017) Microbial Diversity in Extreme Marine Habitats and Their Biomolecules. **Microorganisms** 5:1-30.

Popple T, Williams JB, May E, Mills GA, Oliver R (2016) Evaluation of a sequencing batch reactor sewage treatment rig for investigating the fate of radioactively labelled pharmaceuticals: case study of propranolol. **Water Resource** 88:83-92.

Psaroulaki A, Chochlakis D (2018) Use of Maldi-tof mass spectrometry in the battle against bacterial infectious diseases: recent achievements and future perspectives. **Expert Review of Proteomics** 15:537-539.

Palakawong Na, Ayudthaya S, van de Weijer AHP, van Gelder AH, Stams AJM, Vos WM, Plugge CM (2018) Production of organic acid from the fermentation of potato starch residues by microbial communities in the rumen of Dutch and Thai dairy cows. **Biotechnology Biofuels** 11:13.

Pathak N, Phuntsho S, Tran VH, Johir MAH, Ghaffour N, Leiknes T, Fujioaka T, Shon HK (2020) Simultaneous nitrification-denitrification using baffled osmotic membrane bioreactor-microfiltration hybrid system at different oxic-anoxic conditions for wastewater treatment. **Journal of Environmental Management** 253:109685-109695.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza, Glöckner FO (2012) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic acids research** 41:D590-D596.

Ramalho BCF, Siqueira KB (2020) Cresce o consumo de lactéros no Brasil. In. **Anuário do leite 2020: Leite de Vacas Felizes**. Embrapa 2020. p. 53.

Ramos-suárez JL, Ritter A, González JM, Pérez AC (2019) Biogas from animal manure : A sustainable energy opportunity in the Canary Islands. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 104:137-150.

Ramires RD, Oliveira, RA (2014) COD, TSS, nutrients and coliforms removals in UASB reactors in two stages treating swine wastewater. **Engenharia Agricola** 34:1256-1269.

Rakovskaya IV, Ermolaeva SA, Levina GA, Barkhatova OI, Mukhachev AY, Andreevskaya SG, Zhukhvitsky VG, Gorina LG, Miller GG (2019) Microcolonies: a novel morphological form of pathogenic mycoplasma spp. **Journal of Medical Microbiology** 68:1747-1758.

Rajagopal R, Rousseau P, Bernet N, Béline F (2011) Combined anaerobic and activated sludge anoxic/oxic treatment for piggery wastewater. **Bioresource Technology** 102:2185-2192.

Regueiro L, Spirito CM, Usack JG, Hospodsky D, Werner JJ, Angenent LT (2015) Comparing the inhibitory thresholds of dairy manure co-digesters after

prolonged acclimation periods : Part 2 e correlations between microbiomes and environment. **Water Resource** 87:458-466.

Ren Y, Ngo HH, Guo W, Wang D, Peng L, Ni B, Wei W (2020) New perspectives on microbial communities and biological nitrogen removal in wastewater treatment systems. **Bioresource Technology** 297:122491-122502.

Ribeiro TB, Brandt EMF, de Almeida PGS, Flórez CAD, Chernicharo CAL (2017) Technological improvements in compact UASB/SBTF systems for decentralized sewage treatment in developing countries. **Desalination and Water Treatment** 91:112-120.

Ribeiro TB (2015) **Sistema UASB/FBP submetido a hidrograma típico de vazão: avaliação do uso de meio suporte baseado em espuma de poliuretano e operação sem decantadores secundários**. 2015. 145p. Dissertação (Mestre em Engenharia Hidráulica e Ambiental), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Rico C, Rico JL, Tejero I, Muñoz N, Gómez B (2011a) Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure in pilot plant for biogas production: Residual methane yield of digestate. **Waste Management** 31:2167-2173.

Rico C, García H, Rico JL (2011) Physical-anaerobic-chemical process for treatment of dairy cattle manure. **Bioresource Technology** 102:2143–2150.

Rico C, Muñoz N, Fernández J, Rico JL (2015a) High-load anaerobic co-digestion of cheese whey and liquid fraction of dairy manure in a one-stage UASB process: Limits in co-substrates ratio and organic loading rate. **Chemical Engineering Journal** 262:794-802.

Rico L, Rico C (2015) Thermophilic anaerobic digestion of the screened solid fraction of dairy manure in a solid-phase percolating reactor system. **Journal of Cleaner Production** 102:512-520.

Rico C, Rico JL, García H, García PA (2012) Solid - Liquid separation of dairy manure: Distribution of components and methane production. **Biomass and Bioenergy** 39:370–377.

R Core Team (2021). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rincón B, Borja R, González JM, Portillo MC, Sáiz J (2008) Influence of organic loading rate and hydraulic retention time on the performance, stability and microbial communities of one-stage anaerobic digestion of two-phase olive mill solid residue. **Biochemical Engineering Journal** 40:253-261.

Ripley LE, Boyle WC, Converse JC (1986) Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control** 58:406-411.

Risberg K, Sun L, Levén L, Jarle S, Schnürer A (2013) Bioresource Technology Biogas production from wheat straw and manure – Impact of pretreatment and process operating parameters. **Bioresource Technology** 149:232–237.

Rodrigues LS, Silva IJ, Santos RLH, Goulart DB, Oliveira PR, Von Sperling M, Fontes DO (2009) Avaliação de desempenho de lagoa de polimento para pós-tratamento de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 61:142—1433.

Roesch LFW, Fulthorpe RR, Riva A, Casella G, Hadwin AKM, Kent AD, Daroub SH, Camargo FAO, Farmerie WG, Triplett EW (2007) Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **The Isme Journal** 1:283-290

Ruiz-ánchez J, Campanaro S, Guivernau M, Fernández B, Prenafetaöldú FX (2018) Effect of ammonia on the active microbiome and metagenome from stable full-scale digesters. **Bioresource Technology** 250:513-522.

Rodrigues RNC (2020) **Covid-19 e a atividade leiteira: cuidados, impactos e perspectivas**. In: Anuário leite 2020: Leite de vacas felizes. Embrapa, p 102.

Roston DM, Silva E (2010) Tratamento de efluentes de sala de ordenha de bovinocultura: Lagoas de estabilização seguidas de leito cultivado. **Engenharia Agrícola** 30:67-73.

Salomoni C, Caputo A, Bonoli M, Francioso O, Rodrigues EMT, Palenzona D (2011) Enhanced methane production in a two-phase anaerobic digestion plant, after CO₂ capture and addition to organic wastes. **Bioresource Technology** 102:6443-6448.

Santana AM. (2008) **Avaliação de Sistema Composto por Reatores Anaeróbios e Aeróbio Para Tratamento de Águas Residuárias de**

Suinocultura. 2008 284 f. Tese (Doutorada em Microbiologia Agropecuária) - UNESP, Jaboticabal.

Santos ASP (2005). **Avaliação de desempenho de um filtro biológico percolador com diferentes meios suportes plásticos**. 2005. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Engenharia Civil) – UFRJ, Rio de Janeiro, 2005.

Santos AL, Peixoto R, Rosado AS (2009) Novos métodos para análise da diversidade microbiana em sistemas de tratamento de resíduos sólido e líquidos . **Oecologia Australis**, v. 13, n. 4, p. 631-648.

Santos AC, Oliveira RA (2011) Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios horizontais seguidos de reator aeróbio em batelada sequencial. **Engenharia Agrícola** 3.

SÃO PAULO. Governo do Estado de São Paulo. Resolução Conjunta SES/SMA/SSRH Nº 01 de 28 de junho de 2017. **Disciplina o reúso direto não potável de água, para fins urbanos, proveniente de estações de tratamento de esgoto sanitário e dá providências correlatas**. Diário Oficial [do] Estado de São Paulo, 29 jun. 2017. p. 12 Disponível em: Acessado em: 06 abril 2021.

Schlegel AJ, Assefa Y, Bond HD, Haag LA, Stone LR (2017) Changes in soil nutrients after 10 years of cattle manure and swine effluent application. **Soil and Tillage Research** 172:48-58.

Şenol H, Açikel Ü, Demir S, Oda V (2020) Anaerobic digestion of cattle manure, corn silage and sugar beet pulp mixtures after thermal pretreatment and kinetic modeling study. **Fuel** 263:116651.

Schegolkova NM, Krasnov GS, Belova AA, Dmitriev AA, Kharitonov SL, Klimina KM, Melnikova NV, Kudryavtseva (2016) Microbial Community Structure of Activated Sludge in Treatment Plants with Different Wastewater Compositions. **Frontiers in Microbiology** 7:90

Schnürer A, Nordberg A (2008) Ammonia, a selective agent for methane production by syntrophic acetate oxidation at mesophilic temperature. **Water Science Technology** 57:735-740.

Shendure J, Ji H (2008) Next-generation DNA sequencing. **Nature Biotechnology** 26:1135-1145.

Shi X, Lin J, Zuo J, Li P, Li X, Guo X (2017) Effects of free ammonia on volatile fatty acid accumulation and process performance in the anaerobic digestion of two typical bio-wastes. **Journal of Environmental Sciences** 55:49-57.

Shi X, Guo X, Zuo J, Wang Y, Zhang M (2018) A comparative study of thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion of food waste and wheat straw: Process stability and microbial community structure shifts. **Waste Management** 75:261-269.

Shipley GL (2006) **An Introduction to real-time PCR**. In: Dorak MT (Ed). Real-time PCR. New York: Taylor & Francis Group 31p.

Shrestha S, Fonoll X, Khanal SK, Raskin L (2017) Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: current status and future perspectives. **Bioresource Technology** 245:1239:1257.

Shokralla S, Spall JL, Gibson JF, Hajibabaei M (2012) Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. **Molecular Ecology**, 21:1794-1805.

Show KY, Lee DJ, Tay JH (2012) Aerobic granulation: advances and challenges. **Applied Biochemical Biotechnology**, 167:1622-1640.

Siqueira KB, Binoti ML, Nunes RM, Borges CAV, Pilati AF, Marcelino GW, Gama MAS, Silva PHF (2018) Custo benefício dos nutrientes dos alimentos consumidos no Brasil. **Ciencia & Saude Coletiva** 25:3

Siqueira (2020) KB Bem-estar animal, sustentabilidade e a relação com o consumidor. In: **Anuário de leite 2020: Leite de vacas Felizes** Embrapa 2020.p. 53.

Silva GC (2013) **Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios seguidos de filtro biológico percolador e wetland**. 314 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - UNESP, Jaboticabal.

Silva Jr FCG (2011) **Sistema combinado anaeróbio-aeróbio para remoção de nitrogênio e DQO de efluente petroquímico**. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos São Carlos.

Silva JBG, Martinez CSP, Andrade IP, Silva GT (2012) Avaliação da condutividade elétrica e ph da solução do solo em uma área fertirrigada com água residuária de bovinocultura de leite. **Irriga** Edição Especial:250-263.

Silva TL (2018) Qualidade da água residuária para reuso na agricultura irrigada. **Irriga** 1:101-111.

Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA (1997) **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, p. 259.

Silva RB, Leite VD (2014) Tratamento conjugado de lixiviado de aterro sanitário e esgoto doméstico por processo anaeróbio seguido de aeróbio. **Revista DAE**

Silva JBG, Martinez MA, Matos AT, Oliveira APS, Silva LBD (2016) Concentração de metais em um solo adubado com água residuária da bovinocultura de leite. **Engenharia na Agricultura** 24:357-367.

Singh R, Kumar S, Ojha CS (1999) Nutrient requirement for UASB process: a review. **Biochemical Engineering Journal** 3:35-54.

Solli L, Håvelsrud OE, Horn SJ, Rike AG (2014) A metagenomic study of microbial communities in four parallel biogas reactors. **Biotechnology Biofuels** 7:146.

Sun Q, Wu D, Zhang Z, Zhao Y, Xie X, Wu J, Lu Q, Wei Z (2017) Effect of cold-adapted microbial agent inoculation on enzyme activities during composting start-up at low temperature **Bioresource Technology** 244:635-640.

Sundberg C, Al-Soud WA, Larson M, Alm E, Yekta SS, Svensson BB, Sorensen A, Karlsson A (2013) 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. **Microbial Ecology** 85:612-626.

Sylvestre SHZ, Hoppe EGL, Oliveira RA (2014) Removal of Total Coliforms, Thermotolerant Coliforms, and Helminth Eggs in Swine Production Wastewater Treated in Anaerobic and Aerobic Reactors. **International Journal of Microbiology** 2014:757934

Song YC, Kwon SJ, Woo JH (2004) Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge. **Water Research** 38:1653-1662.

Song H, Hwang J, Yi H, Ulrich RL, Yu Y, Nierman WC, Kim HS (2010) The early stage of bacterial genome-reductive evolution in the host. **PLoS Pathogens** 6:1000922

Stokes-Forbis AA, Melogno-Rocha L, Deshusses MA (2018) Nitrification drip filters and denitrifying bioreactors for nitrogen management of high strength anaerobic digestion effluent. **Chemosphere** 204:119-129.

Stok LA, Resende JC, Leite JLB (2020) Produção mundial de leite: tendências nos principais países. In: **Anuário do leite 2018**, Embrapa. p. 116.

Sundberg C, Al-soud WA, Larsson M, Alm E, Yekta SS, Svensson BH, Karlsson A (2013) 454 Pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. **FEMS Microbiology Ecology** 85:612-26.

Sutherland IW (2001) Exopolysaccharides in biofilms, flocs and related structures. **Water Science and Technology** 43:77-83.

SuC, Zheng P, Lin X, Chen W, Li X, Chen Q, Wu S, Chen M (2019) Influence of amoxicillin after pre-treatment on the extracellular polymeric substances and microbial community of anaerobic granular sludge *Bioresource Technology* 276:81-90

Sun L, Pope PB, Eijsink VG, Schnürer A (2015) Characterization of the microbial community structure during continuous anaerobic digestion of straw and cow dung. **Microbial Biotechnology** 8:815-827.

Surendra KC, Takara D, Hashimoto AG, Kuma S (2014) Biogas as a sustainable energy source for developing countries: Opportunities and challenges. **Renewable & Sustainable Energy Reviews** 31:846-859.

St-Pierre B, Wright AG (2014) Comparative metagenomic analysis of bacterial populations in three full-scale mesophilic anaerobic manure digesters. **Appl. Microbiol. Biot.**, 98, pp. 2709-2717.

Tao W, Fattah KP, Huchzermeier MP (2016) Struvite recovery from anaerobically digested dairy manure: A review of application potential and hindrances. **Journal Environmental Management** 169:46-57.

Technology Focus.(2014) An alternative manure treatment technology. Filtration + Separation. **Purchase** 51:44-45.

Thans FC (2008) **Controle Operacional de Reator em Bateladas Seqüenciais (RBS): Ajustes na Concentração de Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção de Nutrientes**. 2008 108 f. Dissertação (mestrado em Engenharia Ambiental) - UFSC, Florianópolis.

Thoetkiattikul H, Mhuantong W, Laothanachareon T, Tangphatsornruang S, Pattarajinda V, Eurwilaichitr L, Champreda V (2013) Comparative analysis of microbial profiles in the rumen of cows fed different dietary fibers by pyrosequencing the labeled 16S rRNA gene. **Current Microbiology** 67:130–7.

Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yamata Y, Nomura N (2016) Environmental factors that shape biofilm formation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry** 80:7-12.

Torres K, Alvarez-Hornos FJ, San-Valero P, Gabaldon C, Marzal P (2018) Granulation and microbial community dynamics in the chitosan-supplemented anaerobic treatment of wastewater polluted with organic solvents. **Water Resource** 130:376-387

Treu L, Kougias PG, Campanaro S, Bassani I, Angelidaki I (2016) A deeper look at the structure of the microbial community of anaerobic digestion; The biogas microbiome database is expanded with 157 new genomes. **Bioresource Technology** 216:260-266.

Theuerl S, Klang J, Heiermann M, De Vrieze J (2018) Marker microbiome clusters are determined by operational parameters and specific key taxa combinations in anaerobic digestion **Bioresource Technology** 263:128-135.

Tsapekos P, Kougias PG, Treu L, Campanaro S, Angelidaki I (2017) Process performance and comparative metagenomic analysis during co-digestion of manure and lignocellulosic biomass for biogas production **Applied Energy** 185:126-135.

Triolo JM, Sommer SG, Møller HB, Weisbjerg MR, Jiang XY (2011) Bioresource Technology A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion : Influence of lignin concentration on methane production potential. **Bioresource Technology** 102:9395-9402.

Usepa - United States Environmental Protection Agency - EPA (1999) **Wastewater technology fact sheet sequencing batch reactors**. Report number: 832/F-99/073. Acesso 05 ago. 2021.

Ugwu SN, Biscoff RK, Enweremadu CC (2020) A meta-analysis of iron-based additives on enhancements of biogas yields during anaerobic digestion of organic wastes. **Journal of Cleaner Production** 269:122449.

Umaña O, Raposo F, Nikolaeva (2008) Treatment of screened dairy manure by upflow anaerobic fixed bed reactors packed with waste tyre rubber and a combination of waste tyre rubber and zeolite: Effect of the hydraulic retention time. **Bioresource Technology** 15:7412-7417.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Ciências Exatas. **Estação Agroclimatológica**: valores médios do período de 2019 - 2020. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP. Disponível em <www.fcav.unesp.br/estacao> Acesso em: 05 outubro de 2020.

Urbinati E, Duda MR, Oliveira RA (2013) Performance of Uasb Reactors in Two Stages Under Different Hrt. **Engenharia Agrícola** 23:367-378.

Urbinati E, Oliveira RA (2014) Anaerobic-aerobic treatment of swine wastewater in UASB and batch reactors in series. **Engenharia Agrícola** 34:124-142.

Vacheyrou M, Normand AC, Guyot P, Cassagne C, Piarroux R, Bouton Y (2011) Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. **International Journal of Food Microbiology** 146:253–262.

Venkiteshwaran K, Bocher B, Maki J, Zitomer D (2015) Relating Anaerobic Digestion Microbial Community and Process Function: Supplementary Issue: Water Microbiology. **Microbiology insights** 8:37-44.

Van Haandel AC, Lettinga G (1994) Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente. Um manual para regiões de clima quent. Campina Grande-PB: EPGRAF, 1994. 242p. Paraíba. 1994.

Van Haandel AC, Marais G (1999) **O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado**: Teoria e Aplicações para Projetos e Operações. 1999.

Van Haandel AC, Van Der Lubbe JGM (2012) Handbook of biological wastewater treatment: Design and optimisation of activated sludge systems. Second Edition. **IWA Publishing**. 2012. p. 767.

Vavilin VA, Flotats X (2008) Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. **Waste Management** 28:939–951.

Vazoller RF, Manfio GP, Canhos VP (1999) Domínio Archaea: Reinos Crenarcheota, Euryarcheota e Korarcheota. In: Canhos VP, Vazoller RF (Ed.) Série biodiversidade do estado de São Paulo – **microrganismos e vírus**. São Paulo, v.1, 1999.

Vanwonterghem I, Jensen PD, Ho DP, Batstone DJ, Tyson GW (2014) Linking microbial community structure, interactions and function in anaerobic digesters using new molecular techniques. **Current Opinion in Biotechnol** 27:55-64

Vendruscolo ECG, Mesa D, Rissi DV, Meyer BH, Pedrosa FP, Souza EM, Cruz LM (2020) Microbial communities network analysis of anaerobic reactors fed with bovine and swine slurry. **Science of The Total Environment** 742.

Victoria JAR (2006) **Filtro biológico aeróbio-anóxico para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores UASB**. 2006. 146 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

Von Sperling M, Chernicharo CAL (2005) **Biological wastewater treatment in warm climate regions**. v. 1. IWA Publishing. DESA – UFMG. 2005. P. 835

Von Sperling M (2016) Princípios do tratamento biológico de águas residuárias Vol. 1. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 3ª ed. 452 p.

Vidal AG (2015) Produção de biogás em reator anaeróbio de alta taxa alimentado com fração líquida de esterco bovino peneirado. 2015. 90 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlo.

Villa-Montoya AC, Mazareli RCS, Oliveira RA, Leite VD (2016) Dairy manure wastewater in serial uasb reactors for energy recovery and potential effluent reuse. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 34:971-983.

Villa-Montoya AC, Ferro MIT, Oliveira RA (2017) Removal of phenols and methane production with coffee processing wastewater supplemented with phosphorous. Int. **Journal of Environmental Science & Technology** 14:61–74.

Vilela D, Resende JC, Leite JB, Alves E A (2017) Evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de política agrícola** 1.

Vilela D, Ferreira RP, Fernandes EN, Juntolli FV (2016) **Pecuária de Leite no Brasil – Cenários e Avanços Tecnológicos**. 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuarria-de-leite-no-Brasil.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2020.

Vilela D (2015) Para onde caminha o leite. **Balde Branco** 603:41-43.

Von Sperling, M., 2016. **Pincípios básicos do tratamento de esgoto**. v2, 2 ed.

Wang IQ, Wang, MX, Chen YY, Li CM, Zhou ZF (2021) Microbial community structure and co-occurrence are essential for methanogenesis and its contribution to phenanthrene degradation in paddy soil. **Journal of Hazardous Materials** 417.

Wang J, Zhu B, Zhang JB, Müller C, Cai ZC (2015) Mechanisms of soil N dynamics following long-term application of organic fertilizers to subtropical rain-fed purple soil in China. **Soil Biology Biochemistry** 91:222-231.

Wang X, Man H, Xia H, Wen X, Ding K (2012) Pyrosequencing Analysis of Bacterial Diversity in 14 Wastewater Treatment Systems in China. **Applied and Environmental Microbiology** 78:7042-7047.

Wang Y, Yuan T, Zhang Z, Lei Z, Shimizu K (2020) Bioresource Technology Reports Improved lignocellulose degradation prior to semi-dry anaerobic digestion of dairy manure via potassium permanganate treatment. **Bioresource Technology Reports** 11:100462.

Wang D, Li X, Yang Q, Zeng G, Liao D, Zhang J (2008) 'Biological Phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process', **Bioresource Technology** 99:5466-5473.

Wei W, Hu X, Hou Z, Wang Y, Zhu L (2021) Microbial community structure and diversity in different types of non-bovine milk. **Current Opinion in Food Science** 40:51-57.

Wentzel MC, Mbewe A, Ekama GA (2015) Batch test for measurement of readily biodegradable COD and active organism concentrations in municipal waste waters. **Water SA** 21:117-124.

Westerholm M, Dolfing J, Schnürer A (2019) Growth characteristics and thermodynamics of syntrophic acetate oxidizers. **Environ. Sci. Technol.** 53.

Wickham, H. (2011). ggplot2. **Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics**, 3(2):180-185.

Wilkie ACC, Castro HFC, Cubinski KR, Owens JM, Yan SC (2004) Fixed-film anaerobic digestion of flushed dairy manure after primary treatment: Wastewater production and characterization. **Biosystems Engineering** 89:457-471.

Windsor HM, Windsor GD, Noordergraaf JH (2010) The growth and long term survival of *Acholeplasma laidlawii* in media products used in biopharmaceutical manufacturing. **Biologicals** 38:204-210

Wu L, Yunfeng Y, Si C, Mengxin Z, Zhenwei Z, Sihang Y, Yuanyuan Q, Qiao M, Zhili H, Jizhong Z, Qiang H (2016) Long-term successional dynamics of microbial association networks in anaerobic digestion processes. **Water Research** 104:1-10.

Wu LJ, Kobayashi T, Kuramochi H, Li YY, Xu KQ (2016) Effects of Potassium, Magnesium, Zinc, and Manganese Addition on the Anaerobic Digestion of De-oiled Grease Trap Waste. **Arabian Journal for Science Engineering** 41:2417-2427.

Wu G, Sørensen KB, Rodgers M, Rodgers M, Zhan (2009) Microbial community associated with glucose-induced enhanced biological phosphorus removal. **Water Science and Technology** 60:2105-2113.

Wu X, Yao W, Zhu J, Miller C (2010) Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. **Bioresource Technology** 101:4042-4047.

Wyman V, Henríquez J, Palma C, Carvajal A (2018) Lignocellulosic waste valorisation strategy through enzyme and biogas production. **Bioresource Technology** 247:402-411.

Whitman WB, Liu YC (2008) Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. **Annals of the New York Academy Sciences** 1125:171-189.

Xavier JB, Picioreanu C, Almeida JS, Van Loosdrecht MCM (2002) Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Boletim de Biotecnologia**. Biomatemática - Modelação da estrutura de Biofilmes. <<https://docs.ufpr.br/~microgeral/arquivos/pdf/pdf/biofilmes.pdf>> Acesso 10 junh. 2021.

Xia L, Lam SK, Yan X, Chen D (2017) How Does Recycling of Livestock Manure in Agroecosystems Affect Crop Productivity, Reactive Nitrogen Losses, and Soil Carbon Balance? **Environmental Science Technology** 13:7450-7457.

Xiang XP, Yang ZH, Zhang YR, Xu R, Zheng Y, Hu JH, Li XY, Jia MY, Xiong WP, Cao J (2019) Influence of nanoscale zero-valent iron and magnetite nanoparticles on anaerobic digestion performance and macrolide, aminoglycoside, beta-lactam resistance genes reduction **Bioresource Technology** 294.

Xie XL, Zhang G, Gao HH, Deng KX, Chu YF, Wu DY, Yan SY, hou JZ, Zhao J (2021) Analysis of bovine colostrum microbiota at a dairy farm in Ningxia, China. **International Dairy Journal** 119.

Yadvika S, Sreekrishnan TR, Kohli S, Rana V (2004) Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques - A review. **Bioresource Technology** 95:1-10.

Yang Y, Shi X, Ballent W, Mayer BK (2017) Biological Phosphorus Recovery: Review of Current Progress and Future Needs. **Water Environment Research** 89:2122- 2135.

Yang X, Yin F, Yang Y, Lepp D, Yu H, Ruan Z, Gong J (2018) Dietary butyrate glycerides modulate intestinal microbiota composition and serum metabolites in broilers. **Scientific reports** 8:4940.

Yang Z, Li J, Liu J, Cao J, Sheng D, Cai T (2019) Evaluation of a pilot-scale bio-drip filter as a VOC control technology for the chemical fiber wastewater treatment plant. **Journal of environmental management** 246:71-76.

Yao JQ, Liu JQ, Zhang YJ, Xu S, Hong Y, Chen YG (2019) Adding an anaerobic step can rapidly inhibit sludge bulking in SBR reactor. **Scientific Reports** 9

Yarza P, Yilmaz P, Pruesse E, Glockner FO, Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, Euzéby J, Amann R, Mora RR (2014) Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16s rna gene sequences. **Nature Reviews Microbiology** 12:635.

Yenigün O, Demirel B (2013) Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry** 48:901-911.

Yu Y, Lee C, Hwang S (2005) Analysis of community structures in anaerobic processes using a quantitative real-time PCR method. **Water Science and Technology** 52:85-91.

Ze X, David YB, Laverde-Gomes JA, Dassa B, Sheridan PO, Duncam SH, Louis P, Henrissat B, Juge N, Koropatkin NM, Bayer EA, Flint J (2015) Unique organization of extracellular amylases into amylosomes in the resistant starch-utilizing human colonic firmicutes bacterium *Ruminococcus bromii*. **Journal of Microbiology e Biology Education** 6:1-11.

Zamanzadeh M, Hagen LH, Svensson K, Linjordet R, Horn SJ (2016) Anaerobic digestion of food waste – Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. **Water Research** 96:246-254.

Zhou Z, Pan J, Wang F, Gu JD, Li M (2018) " *Bathymarchaeota* : globally Distributed metabolic generalists in anoxic environment," **FEMS Microbiology Reviews** 42:639-655.

Zhang P, Zhou Q (2007) Simultaneous nitrification and denitrification in activated sludge system under low oxygen concentration. **Environmental Science Engineering** 1:49-52.

Zhao y, Ren n, Wang a (2008) Contributions of fermentative acidogenic bacteria and sulfate-reducing bacteria to lactate degradation and sulfate reduction. **Chemosphere** 72:233-242.

Zaks DPM, Winchester N, Kucharik CJ, Barford CC, Paltsev S, Reilly JM (2011) Contribution of Anaerobic Digesters to Emissions Mitigation and Electricity Generation Under U . S . Climate Policy. **Environmental Science e Technology** 15:6735–6742.

Zhang-Wei H, Zheng-Shuo Z, Qian S, Hong-Yu J, Xing-Ye Y, Wen-Jing Y, Cong-Cong T, Ai-Juan Z, Wenzong L, Yong-Xiang R, Aijie W (2022) Freezing-low temperature treatment facilitates short-chain fatty acids production from waste activated sludge with short-term fermentation. **Bioresource Technology** 347.

Zheng Y, Zhao J, Xu F, Li Y (2014) Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science** 42:35–53.

Zhuang M, Lu X, Caro D, Gao J, Zhang B, Cullen QW (2019) Non-CO₂ greenhouse gas emissions from livestock in China during 2000-2015: magnitude, trends and spatiotemporal patterns. **Journal Environmental Management**. 242:40-45.

Zhuang M, Shan N, Wang Y, Caro D, Marie R, Wang L (2020) Science of the Total Environment Different characteristics of greenhouse gases and ammonia emissions from conventional stored dairy cattle and swine manure in China. **The Science of the Total Environment** 722:137693.

Zhu X, Campanaro S, Treu L, Seshadri R, Ivanova N, Kougias PG, Kyrpides N, Angelidaki I (2020) Metabolic dependencies govern microbial syntrophies during methanogenesis in an anaerobic digestion ecosystem. **Microbiome** 8:22.

Zhou Y, Kangyi H, Xiuyao J, Nemanja S, Lei L, Svjetlana V, Xuya Pg, Xiaoming W (2021) Anaerobic co-digestion of organic fractions of municipal solid waste: Synergy study of methane production and microbial community. **Biomass and Bioenergy** 151.

Zhou D, Hao X, Wang Y, Dong Y, Cang L (2005) Copper and Zn uptake by 1313 radish and pakchoi as affected by application of livestock and poultry manures **Chemosphere** 59:167-175

Zoccal R (2020) Estados e regiões: destaques em produção. In: **Anuário do leite 2020: Leite de Vacas Felizes**. Embrapa, 2020.p. 53.

Produção Diária de Biogás	-	89	89	-	63	63
Produção volumétrica de metano	-	89	89	-	63	63
Produção específica de metano	-	89	89	-	63	63

ANEXO 2. Número de repetições dos parâmetros avaliados nos reatores UASB (R1 e R2) nas fases 3 e 4.

Parâmetros	Número de repetições					
	Fase 3			Fase 4		
	Afluente	R1	R2	Afluente	R1	R2
COV	38	38	38	25	25	25
pH	38	38	38	25	25	25
AT	38	38	38	25	25	25
Al	38	38	38	25	25	25
AP	38	38	38	25	25	25
Al/AP	38	38	38	25	25	25
AVT	38	38	38	25	25	25
DQO total	38	38	38	25	25	25
DQO Diss	38	38	38	25	25	25
DQO Part	38	38	38	25	25	25
SST	33	33	33	20	20	20
SSV	33	33	33	20	20	20
NTK	25	25	25	17	17	17
N-am	38	38	38	25	25	25
N-Org	25	25	25	17	17	17
Fósforo	28	28	28	15	15	15
Ortofosfato	33	33	33	18	18	18
K	12	12	12	7	7	7
Mg	12	12	12	7	7	7
Ca	12	12	12	7	7	7
Fe	12	12	12	7	7	7
Zn	12	12	12	7	7	7
Cu	12	12	12	7	7	7

Mn	12	12	12	7	7	7
Na	12	12	12	7	7	7
Lodo						
ST	14	14	14	9	9	9
SV	14	14	14	9	9	9
Biogás						
Produção Diária de Biogás		157	157	-	77	77
Produção volumétrica de metano		157	157	-	77	77
Produção específica de metano		157	157	-	77	77

ANEXO 3. Número de repetições dos parâmetros avaliados nos reatores UASB (R1 e R2) nas fases 5 e 6.

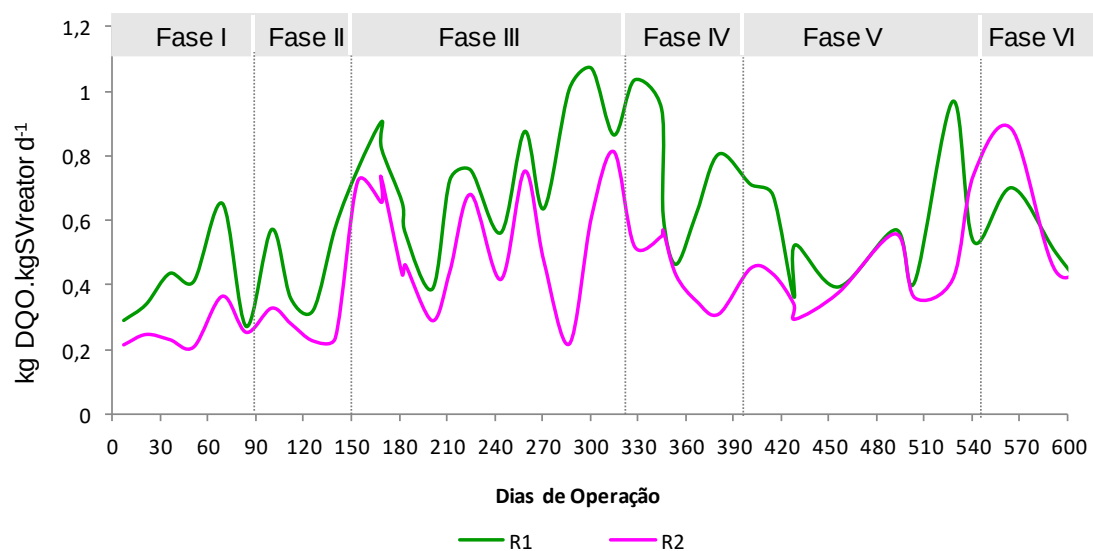
Parâmetros	Número de repetições					
	Fase 5			Fase 6		
	Afluyente	R1	R2	Afluyente	R1	R2
COV	33	33	33	23	23	23
pH	33	33	33	23	23	23
AT	33	33	33	23	23	23
Al	33	33	33	23	23	23
AP	33	33	33	23	23	23
Al/AP	33	33	33	23	23	23
AVT	33	33	33	23	23	23
DQO total	33	33	33	23	23	23
DQO Diss	33	33	33	23	23	23
DQO Part	33	33	33	23	23	23
SST	22	22	22	18	18	18
SSV	22	22	22	18	18	18
NTK	18	18	18	12	12	12
N-am	33	33	33	23	23	23
N-Org	18	18	18	12	12	12
Fósforo	13	13	13	11	11	11
Ortofosfato	23	23	23	16	16	16

K	9	9	9	6	6	6
Mg	9	9	9	6	6	6
Ca	9	9	9	6	6	6
Fe	9	9	9	6	6	6
Zn	9	9	9	6	6	6
Cu	9	9	9	6	6	6
Mn	9	9	9	6	6	6
Na	9	9	9	6	6	6
Bo	3	3	3	3	3	3
Lodo						
ST	11	11	11	8	8	8
SV	11	11	11	8	8	8
Biogás						
Produção Diária de Biogás	-	128	128	-	79	
Produção volumétrica de metano	-	128	128	-	79	
Produção específica de metano	-	128	128	-	79	

ANEXO 4. Número de repetições dos parâmetros avaliados nos reatores aeróbios (RBS e FBP seguido de Dec.) nas fases 2, 4, 5 e 6.

Parâmetros	Número de repetições					
	Fase 2	Fase 6	Fase 4		Fase 5	
	RBS	RBS	FBP	Dec	FBP	Dec
OD	26	79	77	77	128	128
COV	26	23	25	25	33	33
pH	26	23	25	25	33	33
AT	26	23	25	25	33	33
Al	26	23	25	25	33	33
AP	26	23	25	25	33	33
AVT	26	23	25	25	33	33
DQO total	26	23	25	25	33	33
DQO Diss	26	23	26	25	33	33

DQO Part	26	23	26	25	33	33
SST	15	18	24	15	15	15
SSV	15	18	24	15	15	15
NTK	15	12	17	17	18	18
N-am	31	23	25	25	33	33
N-Org	15	12	17	17	18	18
Nitrito	16	18	19	19	23	23
Nitrato	16	18	19	19	23	23
Fósforo	14	11	15	15	13	13
Ortofosfato	22	16	18	18	23	23
K	8	6	7	7	9	9
Mg	8	6	7	9	9	128
Ca	8	6	7	9	9	33
Fe	8	6	7	9	9	33
Zn	8	6	7	9	9	33
Cu	8	6	7	9	9	33
Mn	8	6	7	9	9	33
Na	8	6	7	9	9	33
Bo	-	3	-	3	3	33



Anexo 5: Comportamento da carga biológica nos reatores anaeróbios (R1 e R2) durante o período experimental.