

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Escola de Engenharia de São Carlos

Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais

Willame de Araujo Cavalcante

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coorientador: Dr. Tito Augusto Gehring

São Carlos

2023



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

WILLAME DE ARAÚJO CAVALCANTE

Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos
ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais

São Carlos

2023

WILLAME DE ARAÚJO CAVALCANTE

Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coorientador: Dr. Tito Augusto Gehring

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

D376a de Araujo Cavalcante, Willame
Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais
/ Willame de Araujo Cavalcante; orientador Marcelo Zaiat; coorientador Gehring Tito Augusto . São Carlos, 2023.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2023.

1. DIET. 2. Sobrecarga orgânica. 3. AnSTBR. 4. UASB. 5. Resíduos de frutas e verduras. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **WILLAME DE ARAÚJO CAVALCANTE**.

Título da tese: "Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais".

Data da defesa: 13/11/2023.

Comissão Julgadora

Resultado

Prof. Tit. Marcelo Zaiat

(Orientador)

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC/USP)

Aprovado

Profa. Dra. Giovanna Lovato

(Instituto Mauá de Tecnologia/IMT)

Aprovado

Prof. Dr. Marcelo Loureiro Garcia

(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP)

Aprovado

Dra. Adriana Ferreira Maluf Braga

(TEAGASC (Agriculture and Food Development Authority) - Irlanda)

Aprovado

Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes

(Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:
Prof. Tit. **Marcelo Zaiat**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

DEDICATÓRIA

ao meus pais, José Wilton e Antônia Célia, pelo amor e carinho e orgulho do filho tão diferente que eles construíram;

à memória de minha avó, Maria Idelzuíte; a velhinha que tornou tudo isso possível.

AGRADECIMENTOS

À ciência por ter resistido arduamente ao atravessar da pandemia!

Às minhas origens (Quixeramobim-CE), nas palavras do poeta Braulio Bessa: “Eu nasci no interior nunca neguei a ninguém. A terra que a gente vem merece todo amor, lá sofri senti dor, lá fui feliz demais. Sempre que olho pra trás quero voltar sem ter freios, pois quem esquece de onde veio não sabe pra onde vai”.

À minha mãe, Antônia Célia, e ao meu pai, José Wilton, por acreditarem em seu filho cheio de sonhos - sonhos dos quais eles nem ao menos sabem a dimensão, mas acreditaram de olhos fechados e com muito amor. Obrigado, meus “coroas”.

Aos meus irmãos Weudes, Wheverton e Williane por simplesmente existirem com suas mais diversas personalidades.

Às minhas sobrinhas Maisa, Cecília e Emily por me fazerem um tio tão bobão.

Ao meu orientador Marcelo Zaiat, pelo apoio nessa jornada de doutorado, na qual aprendi mais do que ser um pesquisador. Marcelo é o “cabra da peste” que tornou essa jornada leve e cientificamente proveitosa. Você é um orientador/pesquisador/humano do qual tenho e terei uma eterna admiração.

Ao meu coorientador Tito Gehring, por ter, em 2016, plantado a semente do nosso projeto. De lá até aqui, temos cultivado nossa grande amizade, a qual é recheada de muitas conversas aleatórias. Você me ensinou muito!

Ao meu supervisor e conselheiro na pesquisa, Renato Leitão, pela contribuição pessoal e profissional ao longo de toda minha vida acadêmica (desde 2011 ensinando com esse jeito sério/pai/afincado de ser). Obrigado pelas discussões e pelos desafios que, juntos, nos dispomos a superar.

À minha mãe acadêmica, Sandra Santaella, que sempre me deu ouvidos, café, bronca, conselhos e muitos ensinamentos. Esse ser humano que sou tem muito de você!

Aos meus irmãos não sanguíneos: Daniel (DaniB), Edilson Bieh (Cumpadim), Icaro Breno (Ikim), Gefferson (Gerdim), João Paulo (Agronobre) e Vitor Mendes (Vitim). Parceria, pescaria, cerveja e nostalgia são coisas que só bons irmãos fazem.

Ao Felipe Brito e ao Renato Mendes, que juntos somos os “Rutherford-Bohr”. Obrigado pela cerveja, samba, praia e principalmente pelas horas de conversas que só agregaram em nossas lutas internas com a ansiedade.

Às minhas irmãs de coração: Liliane Freitas (Lili), Taynara Matos (Tay), Daiane Boni (Day), Clíce Mendonça, Janile (Nili), Clara Cabral (Clarinha), Gabriela (Gabi), e Shyrlane (Xi). Amizades interestaduais e sem fronteiras.

À Jessica Santana, pelo apoio pessoal e tecnológico (teck) na reta final desse trabalho. Pense numa pessoa que puxou minha orelha com muito amor e parceria. Pois, parceiro é parceiro.

À “quarta do gole” com os inoxidáveis Guilherme Giglio (Monstro), Alex Marques, Carol Tavares e Rayssa. Apesar da pandemia ter impedido nossos encontros, foram momentos de muita descontração. Monstro, a você dedico meu agradecimento especial pela grande amizade de ex-integrante da estrogonófica XB; essa amizade vai durar a vida, pois te admiro muito.

Aos integrantes e agregados da antiga República XB: Rodrigo (Bel), Rodrigo (bobo), Guilherme (Monstro) e Mateus (Teta). Vocês são estrogonoficamente sensíveis e inoxidáveis. Como disse Carro Velho: que as placas tectônicas de suas cabeças abram para a entrada de mais conhecimento.

Aos mais que companheiros de trabalho no “Lixão” e agregados: Chagas (o cabeludo mais parceiro), Maira (a guerreira que quer colorir o mundo), Matheus, Nicolás, Isabele e os demais integrantes daquele ambiente maravilhoso.

Aos funcionários e técnicos da Embrapa: Chiquinha, Dona Socorro, Adriano e Lílian. Aqui deixo um misto de agradecimento e desculpas pelas inúmeras vezes que eu os perturbei.

Ao Men de Sá pelas conversas paralelas de corredores de Embrapa. Você é minha inspiração de ser humano.

Aos Professores Rogers Ribeiro e Giovana Tommaso pelo apoio durante a construção dessa tese.

À Carol e a Janja, pelo apoio durante minha temporada no LTB. Muito obrigado mesmo por aguentar minha pessoa perturbando vocês duas diariamente. O aprendizado com essas duas bravas mulheres foi moral, pessoal, profissional e social.

Aos meus grandes conselheiros de período pandêmico com cafés e bobagem, Mateus Araújo (o capivara que conquistou meu coração), Elias (um menino helps de um coração gigante) e Thiago Ravanini (o ferrugem mais inoxidável que pude conhecer). Aprendi lições de vida, de boas amizades e de respeito com nossas horas de café.

Aos amigos que achei em São Carlos: Cebola, Pauleta, Dico, Cegonho, GHDO, Sami, Paulinha, Henrique Dornelles, Lili, Williane e Raquel Costa. Obrigado pela descontração durante o período de pandemia. Tenho mais de mil histórias para contar futuramente.

Ao quinteto parada dura Pilar, Pâmela, Felipe Eng e Lucas Fuess por todos os ensinamentos de laboratório e de vida. Que nossa amizade dure muitos artigos, cervejas e risadas.

Às reuniões de quinta, onde aprendi muito com as observações conjuntas de todos os colegas do grupo.

À minha turma de terceiro ano do ensino média do curso de agropecuária do IFCE campus Tauá. Vocês me garantiram as risadas para superar a sobrecarga do dia a dia. Não atoa ainda serei o único “professor de merda” da vida de vocês.

À Camila Menezes pelo apoio acadêmico e pessoal na construção e reconstrução dessa trajetória acadêmica. Eu agradeço demais por todo seu apoio, apesar de toda tensão que foi.

Aos meus colegas de trabalho do IFCE campus Tauá da geração 2018 pelo apoio e pela compreensão na concessão de meu afastamento.

Aos meus colegas de trabalho de IFCE da geração 2023 pelo apoio nesta reta final. As conversas paralelas e a cervejinha foram ótimas distrações.

Ao Laboratório de Processos Biológicos (LPB) por todo o suporte, material técnico e material humano de suma importância para a realização desta pesquisa.

À Embrapa Agroindústria Tropical pelo suporte técnico e material para a realização dessa pesquisa.

À Central Estadual de Abastecimento (CEASA) do Ceará, por oferecer toda sua estrutura para a realização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP – Projeto número: 2015/06246-7) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Código Financeiro 001).

À Universidade de São Paulo, à Escola de Engenharia de São Carlos e à secretaria do Programa de pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (PPG-SEA).

Epígrafe

O egoísmo da humanidade alimenta a estupidez do preconceito, construindo muros invisíveis que aprisionam e marginalizam a cor de uma pele preta.

- Willame Cavalcante

RESUMO

CAVALCANTE, W. A. **Avaliação de processos sintróficos avançados na digestão anaeróbia de resíduos ricos em carboidratos sob diferentes condições de estresse operacionais**. 2023. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

A transferência direta de elétrons interespécies (DIET) se coloca como uma estratégia vantajosa para aumentar a produção de metano em reatores anaeróbios alimentados com substratos ricos em carbono e suplementados com algum material condutor. Esta pesquisa buscou avaliar o potencial do mecanismo de DIET sob diferentes condições operacionais de estresse biológico. Na primeira etapa utilizou-se dois reatores de leito estruturados alimentados com solução rica em carboidratos para avaliar a influência do carvão ativado granular (GAC) como meio condutor estimulador da metanogênese sob baixa concentração de inóculo. Na segunda etapa utilizou-se dois reatores com biomassa floculenta alimentados com resíduos de frutas e verduras liquefeito (FVWL) para avaliar o limite de carga orgânica volumétrica (COV), bem como a redução do estresse da sobrecarga com a adição de uma dose de GAC previamente selecionada em ensaios em bateladas. Na primeira etapa, os *Anaerobic Structured Bed Reactors* (AnSTBRs) com leito de nylon e leito de GAC (2,45 L) foram operados por 20 dias em modo de batelada sequencial com 0,05% (v:v) de inóculo, além de mais 40 dias em modo contínuo. O estresse operacional forçou uma intensa acidificação, a qual estimulou o desenvolvimento de organismos promotores de DIET apenas no reator com leito de GAC. Ou seja, o GAC é capaz de estimular o desenvolvimento de microbiomas especializados no desenvolvimento de DIET, potencializando a metanogênese. Na segunda etapa, dois reatores *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) de 12,6 L foram alimentados com FVWL com COV variando de 1,8 a 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ por 360 dias. A duplicata de reatores operados de forma idêntica até 240 dias confirmou a reprodutibilidade do processamento do FVWL até o limite operacional identificado com COV acima de 8 g-DQO L⁻¹ d⁻¹. O aumento do limite de COV só foi ultrapassado com a adição de 10 g-GAC L⁻¹ em um dos reatores. Esta dose foi dimensionada com o auxílio de um planejamento experimental em batelada, o qual permitiu identificar um limite de dose em função da concentração de biomassa no reator. Com a dosagem de GAC definida, o reator UASB suportou COV de 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ com MY_{DQO} de 0,200 mL_{CH₄} g-DQO⁻¹, enquanto o outro reator UASB acidificou sem recuperação. Ou seja, o GAC alivia a sobrecarga de ácidos, possibilitando o acréscimo de COV em reator UASB alimentado com FVWL.

Palavras-chave: DIET. Sobrecarga orgânica. AnSTBR. UASB. Resíduos de frutas e verduras.

ABSTRACT

CAVALCANTE, W. A. **Assessment of advanced syntrophic processes in anaerobic digestion of carbohydrate-rich waste under different operational stress conditions.** 2023, Thesis (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

Direct interspecies electron transfer (DIET) is an advantageous strategy to increase methane production in anaerobic reactors fed with carbon-rich substrates and supplemented with conductive material. The purpose of this study was to assess the potential of the DIET mechanism under various operational conditions of biological stress. In the first research stage, two structured bed reactors fed with carbohydrate-rich solution were used to assess the influence of granular activated carbon (GAC) as a conductive medium to stimulate methanogenesis at low inoculum concentration. In the second research stage, two suspended biomass reactors fed with liquefied fruit and vegetable residues (FVW_L) were used to assess the organic loading rate (OLR) limit as well as the reduction of overload stress with the addition of a dose of GAC previously selected in batch tests. In the first research stage, two Anaerobic Structured Bed Reactors (AnSTBRs) with nylon bed and GAC bed (2.45 L) were operated in sequential batch mode for 20 days with 0.05% (v:v) inoculum, followed by 40 days in continuous mode. Operational stress forced intense acidification, which stimulated the development of DIET-promoting organisms only in the reactor with GAC bed. That is, the GAC can stimulate the development of specialized microbiomes in the development of DIET, enhancing methanogenesis. In the second research stage, two 12.6 L Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactors were fed with FVW_L with OLR ranging from 1.8 to 10 g COD L⁻¹ d⁻¹ for 360 days. The duplicate assay of identically operated reactors up to 240 days confirmed the reproducibility of the FVW_L processing up to the operational limit identified with OLR above 8 g-COD L⁻¹ d⁻¹. The OLR limit increase was only exceeded with the addition of 10 g-GAC L⁻¹ in one of the reactors. This dose was dimensioned using an experimental batch design, which allowed for the identification of a dose limit as a function of biomass concentration in the reactor. With the defined GAC dosage, the first UASB reactor supported OLR of 10 g-COD L⁻¹ d⁻¹ with MY_{COD} of 0.200 mL_{CH₄} g-COD⁻¹, while the other UASB reactor acidified and could not be recovered. In other words, GAC alleviates acid overload, allowing increased OLR in a UASB reactor fed with FVW_L.

Keywords: DIET. Organic overload rate. AnSTBR. UASB. Fruit and vegetable waste.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Divisão da digestão anaeróbia por processo de hidrólise, fermentação primária e fermentação secundária.	38
Figura 2 - Agrupamento das 21 palavras-chave com mais de 37 ocorrências (total de 390 arquivos analisados) nos artigos científicos buscados na WOC para o período de 01-01-2020 a 01-01-2023 com a busca: “ <i>electron transfer and methanogenesis</i> ”. As quatro maiores ocorrências tiveram seus valores acentuados na imagem.	44
Figura 3 - Modelo simplificado de processos de transporte de elétrons entre bactérias eletrogênicas e metanogênicas eletrotroficas. Adaptado de Cavalcante, Gehring e Zaiat, (2021).	49
Figura 4 - Agrupamento das 21 palavra-chave com mais de 45 ocorrências (total de 419 arquivos analisados) nos artigos científicos buscados na base de dados da <i>Clarivate</i> para o período de 01-01-2020 a 01-01-2023 com as buscas “DIET”. As quatro maiores ocorrências tiveram seus valores acentuados na imagem.	53
Figura 5 - Esquema simplificado de um sistema do tipo AnSTBR, demonstrando o escoamento ascendente (seta preta), o leito estruturado (B) e o sistemas de medição de biogás (seta cinza).	71
Figura 6 - Esquema simplificado de um reator UASB, demonstrando o escoamento ascendente (seta preta), o separador trifásico (A), o defletor (B), manta de lodo (C) e o sistemas de medição de biogás (seta cinza).	72
Figura 7 - Fluxograma da operação dos reatores AnSTBR operados no capítulo 2 desta tese.	86
Figura 8 - Arranjo experimental desenvolvido para a operação dos reatores AnSTBR dimensionados para atender o objetivo específico II.	88
Figura 9 - Estrutura do leito em lâminas de acrílico (A) fixadas em formato radial (B) nos reatores AnSTBR.	88
Figura 10 – Comparação dos resultados dos critérios operacionais para as três bateladas sequenciais definidas para o período de <i>startup</i> do R1 com leito de nylon (marcador sem preenchimento) e R2 com leito de GAC (marcador com preenchimento preto): remoção	

de DQO (A), percentual de conversão de DQO em CH ₄ (B), percentual de conversão de DQO em H ₂ (C) e pH e capacidade tampão do sistema (D).	93
Figura 11 – <i>Box-plot</i> comparativo das variáveis respostas avaliadas durante a operação em modo contínuo dos reatores R1 e R2: (A) COV, (B) remoção de DQO; (C) conversão de DQO em CH ₄ e (D) concentração de SSV no efluente.	96
Figura 12 - Conteúdo anexo às estruturas de nylon (A) e de GAC (B) após operação em modo contínuo.	97
Figura 13- Diagrama de Sankey de abundância relativa (ordem crescente) para filo, família e gênero mais dominantes para a biomassa do AnSTBR1 construído com nylon (R1) e AnSTBR2 construído com GAC (R2). Os valores das 13 maiores abundâncias relativas para as amostras do leito dos reatores R1 (A) e R2 (C)) foram comparados em nível de filo, família e gênero (>1%). Os valores das 12 maiores abundâncias relativas para as amostras do fundo dos reatores R1 (B) e R2 (D)) foram comparados em nível de filo, família e gênero (>1%).	98
Figura 14 – Abundância relativa para o total de gêneros de arqueas encontrados nas amostras de inóculo, leito e fundo dos reatores AnSTBR.	101
Figura 15 – Mapa de cluster para todos os gêneros com abundância relativa superior a 1% entre as cinco amostras analisadas para: o inóculo, o leito do AnSTBR1 (R1 leito), o leito do AnSTBR2 (R2 leito), o fundo do AnSTBR 1 (R1 fundo) e o fundo do AnSTBR2 (R2 fundo).	103
Figura 16 - Fluxograma da operação dos reatores UASB operados no capítulo 3 desta tese.	106
Figura 17 -Fluxo do processamento mecânico para a obtenção da fração líquida do resíduo de frutas e verduras (FVW _L).	108
Figura 18 - Respirômetro Micro-Oxymax com 40 canais utilizados para o monitoramento dos ensaios em batelada.	109
Figura 19 – Frascos Schott e aparatos (tampas de rosca, <i>O-ring</i> e tampo superior em aço inox) para a acoplagem hermética no respirômetro.	110
Figura 20: Fotografia do reator UASB utilizado. As descrições e o dimensionamento do reator encontram-se na Figura-Anexo- B.	113
Figura 21 - Ajuste cinéticos baseados no modelo de degradação (A e B) e em Gompertz (C e D) para os dois grupos de ensaios realizados com glicose e FVW _L	119
Figura 22 - SMA para ensaio com açúcar (glicose) e ensaio com FVW _L (A) em paralelo com valores médios para COE para o período de inicialização em reatores UASB (B).	120

Figura 23 - Apresentação dos dados em box-plot para COV (A), MY (B), q_{CH_4} (C) e V_{CH_4} (D) de ambos os reatores UASB operados em paralelo para os cinco estágios (dados operacionais diários na Figura-Anexo- E).....	122
Figura 24 - Atividade metanogênica específica (SMA) com lodo dos reatores UASBs operados até o estágio V usando como substrato: glicose (A) e FVW_L (B).....	126
Figura 25 - Ajuste cinéticos baseados em Gompertz (A e B) e degradação (C e D) para os dois grupos de ensaios realizados com FVW_L e açúcar (glicose) para o lodo extraído dos reatores UASBs.	127
Figura 26 -Fluxograma da operação dos reatores UASB operados no capítulo 3 desta tese .	132
Figura 27 - Gráfico de superfície resposta para o MY_{DQO} em função da concentração de GAC e da relação F/M para os ensaios DCCR alimentados com FVW_L (após a operação descrita no capítulo 3).....	138
Figura 28 - Gráfico de resposta 2D para o MY_{DQO} em função da concentração de GAC e da relação F/M para os ensaios DCCR alimentados com FVW_L (após a operação descrita no capítulo 3).	140
Figura 29 - Apresentação dos dados em <i>box-plot</i> para COV (A), MY (B), q_{CH_4} (C) e V_{CH_4} (D) para os estágios V, VI e VII. Box em branco para o reator UASB1 (sem adição de GAC) e box em cinza para o reator UASB2 (com adição de GAC) (dados operacionais diários dos estágios VI e VII dentro de cada box de apresentação.	143
Figura 30 - Apresentação dos dados operacionais diários para COV (A), V_{CH_4} (B), q_{CH_4} (C) e MY_{COD} (D) do reator UASB2 operados no estágio IV (sem GAC em vermelho) e VII (com GAC em preto).	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Principais reações envolvidas em microbiomas anaeróbios direcionados à AD, incluindo o número de elétrons disponíveis (N_e^-) e a energia livre de Gibbs para duas condições de temperatura (35 e 55°C) sob o padrão da reação (ΔG_r) e condição de baixa pressão parcial de hidrogênio (ΔG_r ; p_{H_2}) típico para formação e consumo de H_2 sintrófico. Conteúdo extraído de Cavalcante, Gehring e Zaiat, (2021).....	40
Tabela 2 - Resumo das variáveis respostas adquiridas com a operação contínua dos reatores AnSTBR: carga orgânica volumétrica (COV), percentual de remoção de DQO efluente ($E\%$), quociente de conversão de DQO em CH_4 no biogás (q_{CH_4}), sólidos voláteis no efluente (SV), pH efluente e razão alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI:AP).....	95
Tabela 3 - Caracterização físico-química principal da fração líquida de resíduos de frutas e verduras (FVW_L) realizada por Silva Júnior et al. (2022) e aplicada nesta pesquisa.....	108
Tabela 4 - Variáveis operacionais monitoradas durante cada período de operação dos reatores UASB alimentados com FVW_L	116
Tabela 5 - Resumo das variáveis respostas ajustadas para o ensaio em batelada alimentado com glicose e FVW_L	117
Tabela 6 - Média e coeficiente de variação (CV_{10} em parênteses) das variáveis de respostas obtidas em ambos os reatores UASB para as etapas operacionais em regime quase estacionário.....	123
Tabela 7 - Resumo das variáveis operacionais encontradas para o lodo do reator UASB alimentado com glicose e com FVW_L (equação 1 a 5).....	125
Tabela 8 - Descrição das componentes dimensionadas para os ensaios DCCR em função das variáveis dependentes: concentração de GAC e a relação F/M (do inglês: <i>food to microorganism ratio</i> – F/M).....	134
Tabela 9 – Análise da equidade do perfil de sólidos voláteis dos reatores UASB operados até o estágio V (após a operação descrita no capítulo 3).	137
Tabela 10 – Previsão/predição da MY_{DQO} máxima (variável Z) em função da dose ideal de GAC (variável Y) e da razão F/M de acordo com a Equação 21, incluindo a	

verificação/calibração com a duplicada sem adição de GAC e uma triplicata admitindo a adição ideal de GAC. 139

Tabela 11 - Média e coeficiente de variação (CV; indicado em parênteses) das variáveis operacionais adquiridas em ambos os reatores UASB (UASB 1 sem adição de GAC e UASB2 com adição de GAC) para as etapas operacionais em seus regimes quase estacionários ou equivalentes comparativos. 144

Tabela 12 - Resumo das condições operacionais de estudos com reatores contínuos operados com HCPM dos últimos três anos..... 146

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADM1	–	<i>Anaerobic Digestion Model N°1</i>
AGCC	–	Ácidos graxos de cadeia curta
AGCM	–	Ácidos graxos de cadeia média
AGV	–	Ácidos graxos voláteis
AI	–	Alcalinidade intermediária
AnSTBR	–	<i>Anaerobic Structured Bed Reactor</i>
AP	–	Alcalinidade parcial
ASBR	–	<i>Anaerobic Sequencing Batch Reactor</i>
ASV	–	<i>Amplicon Sequence Variant</i>
ATP	–	Adenosina trifosfato
BC	–	Biochar
BMP	–	<i>Biomethane potential</i>
BRS	–	Bactérias redutoras de Sulfato.
CNTP	–	Condições normais de temperatura e pressão
CoA	–	Coenzima A
COV	–	Carga Orgânica Volumétrica
CSTR	–	<i>Continuously Stirred Tank Reactor</i>
DA	–	Digestão anaeróbia
DIET	–	<i>Direct Interspecies Electron Transfer</i>
DIETers	–	Microrganismos mediadores da DIET
DQO	–	Demanda química de oxigênio
EPS	–	<i>Extracellular Polymeric Substances</i>

ETE	–	Estação de tratamento de esgoto
F/M	–	<i>Food to microorganism ratio</i>
F ₄₂₀ -H ₂	–	8-hidroxi-5-deazaflavina-H ₂
FA	–	Filtro anaeróbio
FADH e FAD	–	Dinucleótido de adenina flavina
FAO	–	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
F _{red}	–	Ferredoxina reduzida
F _{po}	–	Complexo de translocação de prótons
FVW	–	<i>Fruit and Vegetable Waste</i>
FVW _L	–	Fração líquida do FVW
FVW _s	–	Fração sólida do FVW
FW	–	<i>Food Waste</i>
GAC	–	<i>Granular Activated Carbon</i>
HdrABC	–	Complexo heterodissulfeto bifurcado de elétrons citoplasmático
HPCM	–	<i>High Porosity Carbon Materials</i>
IIET	–	<i>Indirect Inter-species Electron Transfer</i>
LPB	–	Laboratório de processos biológicos
LTB	–	Laboratório de Tecnologia da Biomassa
MHCs	–	Citocromos tipo-c-multiheme
NADH e NAD	–	Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídio
OMCS	–	<i>c-type cytochrome</i>
ONU	–	Organização das Nações Unidas
PVC	–	Policloreto de vinila
QUIIME2	–	<i>Quantitative Insights Into Microbial Ecology</i>
SAO	–	<i>Syntrophic Acetate Oxidation</i>
SMA	–	<i>Specific Methanogenic Activity</i>

SS	–	Sólidos suspensos
ST	–	Sólidos totais
STP	–	<i>Standart Temperature and Pressure</i>
STR	–	Reator de mistura completa
SV	–	Sólidos voláteis
TDH	–	Tempo de detenção hidráulica
TRC	–	Tempo de retenção celular
UASB	–	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
WOC	–	<i>Web of Science™, Clarivate</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

$B(t)$ - Produção acumulada de metano normalizado por massa de DQO adicionada ($\text{NmLCH}_4 \text{ g-DQO}^{-1}$)

B_0 - Produção final de metano por massa de DQO adicionada ($\text{NmLCH}_4 \text{ g-DQO}^{-1}$)

BMP - Potencial de produção de biometano normalizado ($\text{NmLCH}_4 \text{ g-DQO}^{-1}$)

BMP_{SV} - Potencial de produção de biometano normalizado por massa de SV do substrato ($\text{NmLCH}_4 \text{ g-SV}^{-1}$)

C_a - Valor do coeficiente de amortecimento ($C_a < 1$)

CH_4 - Metano

CO_2 - Dióxido de carbono

COE - Carga orgânica específica pela concentração de SV do lodo ($\text{g-DQO g-SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$)

COV0 - Carga orgânica volumétrica inicial ($\text{g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)

CV_{10} - Coeficiente de variação de até 10%

E% - Eficiência de remoção de DQO (%)

$e\text{-cp}^{-1}$ - Distância mínima entre pares de células

F - Coeficiente de conversão de DQO em metano sob condição padrão de temperatura e pressão ($0,350 \text{ LCH}_4 \text{ g-COD}^{-1}$)

Fe_2O_3 - Hematita

Fe_3O_4 - Magnetita

H^+ - Íons hidrogênio

H_2 - Hidrogênio molecular

K - Temperatura ($^{\circ}\text{K}$)

k_h - Coeficiente de degradação de primeira ordem (d^{-1})

$M_{(t)}$ - Produção acumulada de metano (NmL)

M_0 - Potencial máximo de produção de metano (NmLCH₄)

MY_{DQO} – Rendimento de CH₄ por DQO (LCH₄ g-DQO⁻¹)

MY_{SV} – Rendimento de CH₄ por SV (LCH₄ g-SV⁻¹)

N₂ - Nitrogênio

PH₂ – Pressão parcial de hidrogênio (Atm)

Q - Vazão de alimentação (L d⁻¹)

q_{CH_4} - Quociente de recuperação de DQO em CH₄ no biogás (%; g-DQO^{CH₄} g-DQO⁻¹)

Q_{CH_4} - Vazão de metano (L d⁻¹)

Q_{gas} - Vazão de biogás (L d⁻¹)

R – Constante dos gases (0,0823 J mol⁻¹ K⁻¹)

$R_{DQO/SV}$ – Razão DQO para SV do substrato (g-DQO g-SV⁻¹)

R_m – Velocidade máxima de produção de metano (NmLCH₄ d⁻¹)

r_h - Velocidade de degradação do substrato (g-DQO L⁻¹ d⁻¹)

S_0 - Concentração inicial do substrato (g-DQO L⁻¹)

S_i - Concentração afluyente do substrato (g-DQO L⁻¹)

SMA- Atividade metanogênica específica máxima (g-DQO_{CH₄} g-SV⁻¹ d⁻¹)

SF – Sólidos fixos (g-SF L⁻¹)

ST – Sólidos totais (g-ST L⁻¹)

SV - Sólidos voláteis (g-SV L⁻¹)

SV_i - Concentração de sólidos voláteis afluyente (g-SV L⁻¹)

T – Temperatura (°C)

V_{CH_4} – Produção volumétrica de CH₄ (LCH₄ L⁻¹ d⁻¹)

V_m - Volume cumulativo de CH₄ (NmLCH₄)

V_{mC} - Volume de CH₄ do controle (NmLCH₄)

V_{mT} - Volume de CH₄ do ensaio com substrato (NmLCH₄)

V_r - Volume do reator (L)

V_{rb} - volume reacional (L)

λ - fase *lag* (d)

$\%_{CH_4}$ - Porcentagem de metano no biogás

$\%_{H_2}$ - Porcentagem de hidrogênio no biogás

ΔG_R° - Energia livre de Gibbs padrão (kJ mol^{-1})

SUMÁRIO

1.	CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	36
1.1	Introdução	36
1.1.1	Estrutura de análise e objetivo	37
1.2	A digestão anaeróbia: uma síntese do passado ao presente	38
1.3	O processo de DIET	46
1.3.1	Termodinâmica e cinética do processo de DIET	50
1.3.2	Interação abiótica em sistemas metanogênicos DIET	52
1.3.3	Material suporte eletrocondutor	53
1.3.4	Impactos da magnetita na DA	54
1.3.5	Impactos do GAC na DA	56
1.3.6	Operação a longo prazo de sistemas metanogênicos baseados em DIET ..	58
1.3.7	Interação biótica em sistemas baseados em DIET metanogênica	60
1.3.8	O papel da transferência extracelulares de elétrons	60
1.3.9	O papel do biofilme em sistemas metanogênicos baseados na DIET	61
1.3.10	Os microrganismos capazes de DIET sob condição de estresse	64
1.3.11	Influência da DIET no metabolismo das BRS	66
1.4	Reatores contínuos de alta taxa e as potencialidades da DIET	68
1.4.1	AnSTBR	70
1.4.2	UASB	71
1.4.3	Reatores contínuos metanogênico baseado em DIET	73
1.5	Resíduos alimentares e as possibilidades da DA baseada na DIET	75
1.5.1	Resíduos de frutas e verduras	77
1.5.2	Desafios do gerenciamento de resíduos de frutas e verduras	78
1.6	Conclusões parciais: hipótese e objetivos	82
1.6.1	Hipóteses a serem testadas	82
1.6.2	Objetivos a serem avaliados	82
2.	CAPÍTULO 2: GAC COMO MEIO SUPORTE EM AnSTBR	86
2.1	Suporte científico e metodológico	86
2.2	Material e métodos	87
2.2.1	Montagem dos reatores	87
2.2.2	Tipo de substrato e inóculo	89
2.2.3	Critérios de operação dos AnSTBR	89
2.2.4	Monitoramento	90
2.2.5	Cálculos e análises	90
2.2.6	Coleta de lodo e análise microbiológica	91
2.2.7	Sequenciamento	91
2.2.8	Análise dos dados	92
2.3	Resultados e discussão	92
2.3.1	Operação dos AnSTBR em batelada	92
2.3.2	Comportamento dos AnSTBR em modo contínuo	95

2.3.3	Análise biomolecular.....	97
2.4	Conclusões parciais.....	104
3.	CAPÍTULO 3: APLICAÇÃO DE FVW _L EM REATOR UASB	106
3.1	Suporte científico e metodológico	106
3.2	Material e método	107
3.2.1	Preparo do substrato	107
3.2.2	Montagem dos ensaios em batelada	109
3.2.3	Modelagem dos ensaios em batelada	111
3.2.4	Descrição dos ensaios em reatores UASB	112
3.2.5	Estratégia de inoculação	114
3.2.6	Monitoramento	115
3.2.7	Análise estatística e critérios operacionais	116
3.3	Resultados e discussão	117
3.3.1	BMP do FVW _L	117
3.3.2	Aplicação da SMA para a partida dos reatores UASB.....	119
3.3.3	Desempenho da operação dos reatores UASB	121
3.3.4	Limitações operacionais	124
3.3.5	Desafios e perspectivas para o processo FVW em reator UASB.....	128
3.4	Conclusões parciais.....	128
3.4.1	Conclusões parciais	128
4.	CAPÍTULO 4: GAC EM REATOR UASB ALIMENTADO COM FVW _L	132
4.1	Suporte científico e metodológico	132
4.2	Material e método	133
4.2.1	Reatores UASB	133
4.2.2	Montagem dos ensaios em batelada	133
4.2.3	Operação dos reatores UASB: adição de GAC	135
4.2.4	Monitoramento, cálculos e análises.....	136
4.3	Resultados e discussão	136
4.3.1	Pré-operação dos reatores UASB	136
4.3.2	O planejamento experimental.....	137
4.3.3	Aspectos operacionais dos reatores UASB	142
4.4	Conclusões parciais.....	151
4.4.1	Conclusões.....	151
5.	CONCLUSÕES FINAIS E PRÓXIMOS AVANÇOS CIENTÍFICOS	154
5.1	Conclusões	154
5.2	Embasamento para avanços científicos.....	155
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
	ANEXOS	186

CAPÍTULO 1:
INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1. CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Introdução

A produção de metano (CH_4) a partir da digestão anaeróbia (DA) é mundialmente estudada como estratégia para recuperação de energia a partir de resíduos e substratos orgânicos (LI; CHEN; WU, 2019). A revalorização de materiais ricos em carbono orgânico tem impulsionado uma série de estudos em biorreatores anaeróbios sob diferentes configurações e condições operacionais de otimização (VOROBYOVA, 2022; YAFETTO, 2022). Contudo, o aumento da velocidade de produção de CH_4 em biorreatores de alta taxa ainda oferece desafios operacionais e cinéticos. Principalmente porque as reações bioquímicas em microbiomas anaeróbios dependem do equilíbrio entre diferentes reações redox, as quais possuem velocidades reacionais distintas (CARBALLA; REGUEIRO; LEMA, 2015). Ou seja, durante a digestão anaeróbia de compostos orgânicos, as etapas iniciais de hidrólise e acidogênese possuem velocidades superiores à etapa final de metanogênese, necessitando de um rígido controle operacional para que haja equilíbrio sintrófico entre os organismos envolvidos (AGLER et al., 2011). Fundamentados nesta premissa da autorregulação em microbiomas anaeróbios, alguns estudos apresentam alternativas operacionais para acelerar os processos sintróficos como estratégia biotecnológica para aumentar a velocidade de metanogênese em reatores biológicos (JIANG; ZHAO; ZHANG, 2022; WU et al., 2023).

Alguns estudos sugerem que substâncias eletricamente condutoras aumentam a produção de CH_4 em sistemas anaeróbios apoiados pela transferência direta de elétrons interespecíes (do inglês: *Direct Interspecies Electron Transfer* - DIET) (LOVLEY, 2011a, 2011b). A DIET é representada como sendo um processo redox bioquímico, o qual os elétrons são trocados externamente por compostos eletrocondutores inorgânicos (materiais à base de carbono e à base de metal) e/ou orgânicos (proteínas ligadas à membrana citoplasmática) (MARTINS et al., 2018). O aumento das velocidades de troca de elétrons durante os processos redox anaeróbios aumenta a velocidade de produção de CH_4 , diminuindo a distância de velocidades entre acidogênese e metanogênese. Apesar das relações sintróficas por meio da DIET serem encontradas em diversos ambientes naturais, por ex.: solos de arrozais (HOLMES et al., 2017) ou em reatores anaeróbios convencionais (MARTINS et al., 2018), ainda existe uma grande demanda de estudos para compreender a aplicação deste

processo como estratégia para potencializar a tratabilidade de resíduos agroindustriais com alto teor de material orgânico. Em vista disso, esta proposta de pesquisa visa ampliar estratégias para a produção de CH₄ via aplicação do processo sintrófico DIET no tratamento de substratos ricos em carboidratos, buscando explorar um dos mais novos conceitos sobre a digestão anaeróbia.

1.1.1 Estrutura de análise e objetivo

A estrutura desta seção está fundamentada no artigo de revisão publicado no ano de 2021:

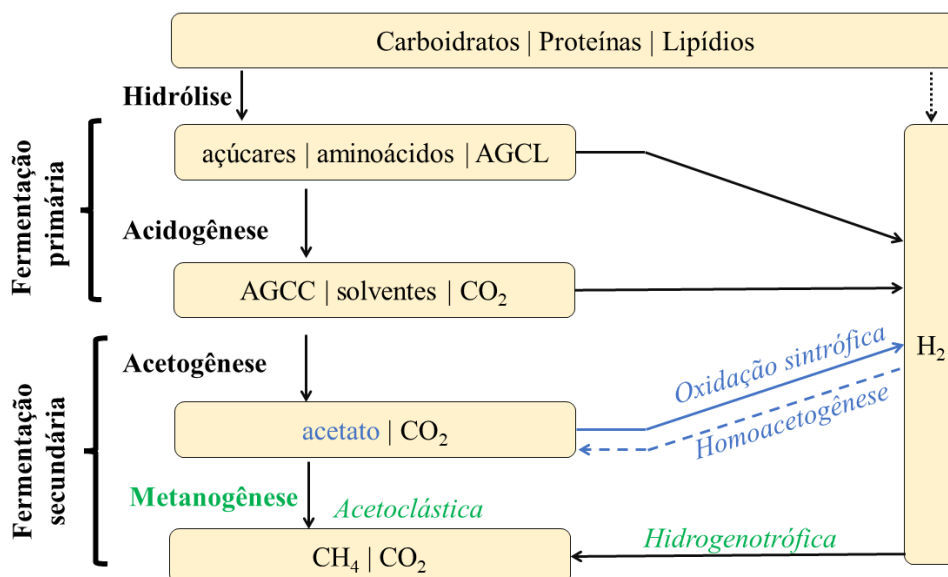
CAVALCANTE, W. A.; GEHRING, T. A.; ZAIAT, M. *Stimulation and inhibition of direct interspecies electron transfer mechanisms within methanogenic reactors by adding magnetite and granular activated carbon*. **Chemical Engineering Journal**, v. 415, p. 128882, 2021.

Resumidamente, este capítulo abordará as principais contribuições científicas sobre o desenvolvimento de sistemas anaeróbios suplementados com materiais condutores no tratamento de resíduos orgânicos. As conclusões deste capítulo resumem os objetivos avaliados e as hipóteses testadas nos capítulos seguintes. O levantamento de literatura foi realizado por meio da plataforma web (do inglês: *Web of Science*TM, Clarivate - WOC). As palavras-chave e o período de busca foram definidos de acordo com a necessidade de análise de cada seção. Após a definição dessa metodologia, foi extraído da plataforma de busca o resumo dos achados em formato de arquivo RIS. Os arquivos foram tratados por meio da plataforma de análise bibliométrica de acesso livre VOSviewer, a qual forneceu uma análise dinâmica do conteúdo pesquisado. Os artigos foram tratados e analisados de acordo com a relevância científica definida para cada seção deste capítulo. Em síntese, este capítulo estrutura-se com o objetivo central de investigar criticamente os achados científicos que norteiam as principais premissas em torno dos processos sintróficos avançados em reatores anaeróbios, possibilitando construir as hipóteses e os objetivos dos próximos capítulos.

1.2 A digestão anaeróbia: uma síntese do passado ao presente

A produção anaeróbia de CH_4 é uma biotecnologia amplamente difundida como ferramenta potencialmente sustentável para a recuperação de bioenergia. Em geral, os processos bioquímicos envolvidos nessa biotecnologia são realizados por comunidades microbianas anaeróbias distintas (microbiomas) responsáveis pela digestão da matéria orgânica em dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4) (GUJER; ZEHNDER, 1983). Em condições naturais, o processo de digestão anaeróbia (DA) é detalhado em três etapas sequenciais (Figura 1): i) hidrólise da matéria orgânica complexa em seus respectivos monômeros (compostos menores), incluindo os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL); ii) fermentação primária de moléculas menores em ácidos orgânicos de cadeia curta (AGCC), solventes, CO_2 e hidrogênio (H_2) e; iii) fermentação secundária responsável pela conversão de acetato, H_2 e CO_2 em CH_4 pelo processo de metanogênese, sintrofismo do acetato e homoacetogênese (PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991; GIJZEN, 2002; AGLER et al., 2011).

Figura 1 -Divisão da digestão anaeróbia por processo de hidrólise, fermentação primária e fermentação secundária.



Fonte: o autor

Em ambientes naturais e em biorreatores, a metanogênese é um processo dependente do transporte de elétrons interespecies (THIELE; ZEIKUS, 1988; SIEBER; MCINERNEY; GUNSALUS, 2012). As duas principais vias metanogênicas são: 1) a metanogênese hidrogenotrófica, que consiste na redução de CO_2 utilizando H_2 como doador de elétrons e; 2) a metanogênese acetoclástica que envolve a clivagem do acetato em CH_4 e CO_2 (THIELE; ZEIKUS, 1988; ZIGANSHINA, 1993). Em segundo plano, o ácido fórmico (CH_2O_2) também pode ser usado para redução de CO_2 por meio de uma desidrogenase desempenhada pela maioria dos organismos metanogênicos hidrogenotróficos (ZIGANSHINA, 1993). Porém, o H_2 é considerado o maior carreador de elétrons envolvido na transferência indireta de elétrons entre espécies (do inglês: *Indirect interspecies electron transfer* - IIET) dentro de microbiomas anaeróbios metanogênicos (SCHINK; STAMS, 2013).

O H_2 possui tamanho molecular pequeno, permitindo a difusão rápida (BATSTONE; PICIOREANU; VAN LOOSDRECHT, 2006) como carreador de elétrons entre organismos sintróficos metanogênicos e não metanogênicos (STAMS; PLUGGE, 2009; ZHU et al., 2020). De acordo com Thauer et al. (2008), sintrofismo é uma relação na qual dois ou mais organismos compartilham metabólitos para consumir substratos que um ou outro organismo não metabolizaria sozinho. Por exemplo, a acetogênese de compostos intermediários acumulados durante a fermentação primária (etanol, lactato, propionato, butirato e outros) pela via do acetyl-CoA aumenta o conteúdo de H_2 no meio, resultando na interrupção do processo fermentativo devido ao aumento da pressão parcial de H_2 (SCHINK; STAMS, 2013). Contudo, para evitar tal limitação termodinâmica no processo fermentativo, o consumo sintrófico de H_2 por organismos autotróficos fixadores de CO_2 é acionado (SCHINK; STAMS, 2013).

A energia das reações sintróficas relacionadas à produção de CH_4 com base na IIET é sensível às restrições ambientais (temperatura, condutividade elétrica e pH). A Tabela 1 compara a energia livre de Gibbs das principais reações associadas à produção de CH_4 em condição mesofílica (35°C) e em condição termofílica (55°C), incluindo a interação com bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Tabela 1- Principais reações envolvidas em microbiomas anaeróbios direcionados à AD, incluindo o número de elétrons disponíveis (Ne^-) e a energia livre de Gibbs para duas condições de temperatura (35 e 55°C) sob o padrão da reação (ΔG_r) e condição de baixa pressão parcial de hidrogênio (ΔG_r ; pH_2) típico para formação e consumo de H_2 sintrófico. Conteúdo extraído de Cavalcante, Gehring e Zaiat, (2021).

Reações	Acetogênese via transferência de H_2	Ne-	$\Delta G^{37 55}$	$\Delta G^{37 55}$
R1	$\text{etanol} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{acetato}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	12	8,0 5,6	-39,6 -44,6
R2	$\text{lactato} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{acetato}^- + \text{HCO}_3^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	12	-6,4 -8,7	-53,8 -59,0
R3	$\text{propionato}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{acetato}^- + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2 + \text{H}^+$	14	74,8 72,4	3,6 -2,9
R4	$\text{butirato}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{acetato}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	20	46,6 44,2	-0,9 -6,0
	Acetogênese via transferência de formiato			
R5	$\text{etanol} + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{acetato}^- + 2\text{formato}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	12	5,4 3,0	-- --
R6	$\text{lactato} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{acetato}^- + 2\text{formato}^- + \text{H}^+$	12	-8,9 -11,4	-- --
R7	$\text{propionato}^- + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{acetato}^- + 3\text{formato}^- + \text{H}^+$	14	70,9 68,5	-- --
R8	$\text{butirato}^- + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow 2\text{acetato}^- + 2\text{formato}^- + \text{H}^+$	20	44,0 41,6	-- --
	Sulfetogênese			
R9	$\text{SO}_4^{-2} + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	2	-150,6 -148,2	-55,6 -47,7
R10	$\text{SO}_4^{-2} + \text{acetato}^- \rightarrow \text{HS}^- + 2\text{HCO}_3^-$	2	-47,8 -47,8	-- --
R11	$\text{SO}_4^{-2} + 2\text{etanol} \rightarrow \text{HS}^- + 2\text{acetato}^- + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	6	-134,5 -136,9	-- --
R12	$\text{SO}_4^{-2} + 2\text{lactato} \rightarrow \text{HS}^- + 2\text{acetato}^- + 2\text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	6	-134,5 -136,9	-- --
R13	$\text{SO}_4^{-2} + 1,33\text{propionato}^- \rightarrow \text{HS}^- + 1,33\text{acetato}^- + 1,33\text{HCO}_3^- + 0,33\text{H}^+$	8	-50,8 -51,6	-- --
R14	$\text{SO}_4^{-2} + 2\text{butyrato}^- \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{acetato}^- + \text{H}^+$	14	-57,3 -59,7	-- --

[...] Continuação da Tabela 1 [...]

Processo sintrófico e metanogênese				
R15	$\text{acetato}^- + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+$	8	102,8 100,4	7,8 -0,1
R16	$2\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{acetato}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	8	-102,8 -100,4	-7,8 0,1
R17	$\text{HCO}_3^- + \text{H}_2 \rightarrow \text{formiato} + \text{H}_2\text{O}$	4	-1,3 -1,3	22,4 23,8
R18	$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	8	-133,8 -131,4	-38,8 -30,9
R19	$4\text{formiato}^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{HCO}_3^-$	8	-128,6 -126,6	-- --
R20	$\text{acetato}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	8	-31,0 -31,0	-- --
R1+R18+R20	$\text{etanol} + 0,5\text{H}_2\text{O} \rightarrow 1,5\text{CH}_4 + 0,5\text{HCO}_3^- + 0,5\text{H}^+$	12	-89,8 -91,1	-- --
R2+R18+R20	$\text{lactato}^- + 1,5\text{H}_2\text{O} \rightarrow 1,5\text{CH}_4 + 1,5\text{HCO}_3^- + 0,5\text{H}^+$	12	-104,3 -105,5	-- --
R3+R18+R20	$\text{propionato}^- + 1,75\text{H}_2\text{O} \rightarrow 1,75\text{CH}_4 + 1,25\text{HCO}_3^- + 0,25\text{H}^+$	14	-56,5 -57,1	-- --
R4+R18+R20	$\text{butirato}^- + 2,5\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2,5\text{CH}_4 + 1,5\text{HCO}_3^- + 0,5\text{H}^+$	20	-82,3 -83,5	-- --

Nota; os cálculos termodinâmicos foram realizados de acordo com os valores estabelecidos de ΔH_f^0 e ΔG_f^0 para os componentes individuais (KLEEREBEZEM; VAN LOOSDRECHT, 2010). Correções de temperatura a 37°C e 55°C foram feitas usando a equação de Gibbs-Helmholtz. A pressão parcial de hidrogênio (pH₂) de 10⁻⁴ atm foi adotada para o cálculo do ΔG_r ; pH₂ por ser este o limite relatado para a ocorrência do IIET (ZIGANSHINA, 1993; MIZUNO; LI; NOIKE, 1998; STAMS; PLUGGE, 2009).

De acordo com a Tabela 1, a sulfetogênese realizada por BRS pode auxiliar a metanogênese (em baixa disponibilidade de sulfato) ou competir com a metanogênese e vias de acetogênese sintrófica (em alta disponibilidade de sulfato) (MIZUNO; LI; NOIKE, 1998; HU et al., 2015).

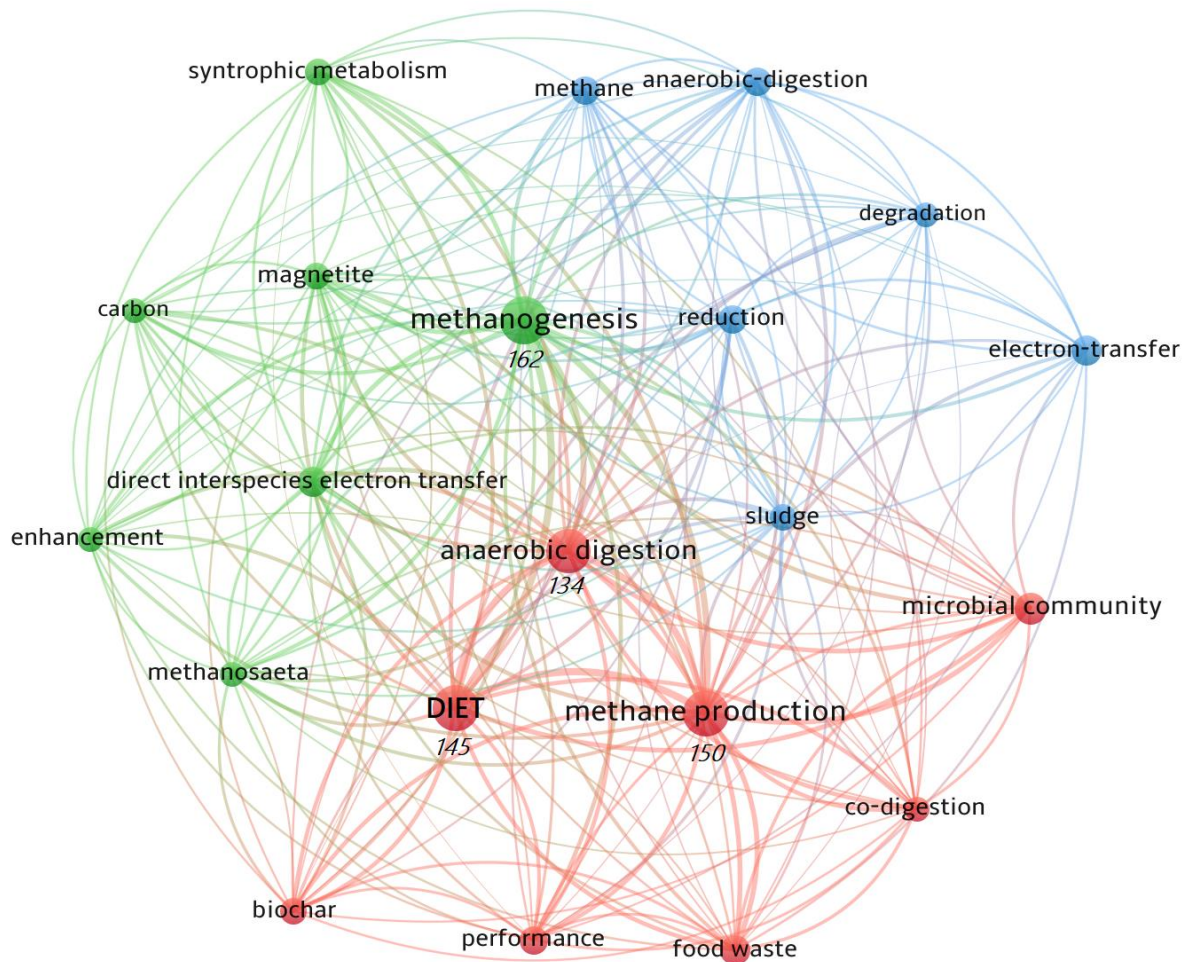
Diferentes gêneros de Archaea (por exemplo, *Methanobacterium*, *Methanobolus*, *Methanococcus*, *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*, *Methanosarcina*, *Methanosaeta*) são relatados na literatura como organismos metanogênicos (THAUER et al., 2008; WANG et al., 2018b; EVANS et al., 2019). A maioria destes organismos metanogênicos são capazes de realizar a via hidrogenotrófica (EVANS et al., 2019; MAND; METCALF, 2019), enquanto a via acetoclástica é realizada por grupos limitados de organismos. Porém, a via acetoclástica é observada em apenas dois gêneros da ordem *Methanosarcinales* (*Methanosarcina* e *Methanosaeta*). Dessa forma, como o acetato é um dos principais intermediários para a produção de CH₄ (FERRY, 2010), esses dois gêneros são organismos-chave em reatores anaeróbios de alta taxa (DE VRIEZE et al., 2012; WELTE; DEPPENMEIER, 2014; MAND; METCALF, 2019). Além disso, as diferenças morfológicas e metabólicas entre esses dois grupos metanogênicos determinam a predominância de um sobre o outro em biorreatores anaeróbios (CONKLIN; STENSEL; FERGUSON, 2006; DE VRIEZE et al., 2012). Por exemplo, *Methanosarcina* spp. tendem a ser abundantes em altas concentrações de acetato, enquanto *Methanosaeta* spp. dominam em baixa concentração de acetato (DEMIREL; SCHERER, 2008; WELTE; DEPPENMEIER, 2014; ZIGANSHIN et al., 2016). Além disso, *Methanosaeta* spp. são incapazes de usar H₂ como doador de elétrons para reduzir CO₂ em CH₄ devido à ausência de hidrogenases específicas (ZHU et al., 2012; WELTE; DEPPENMEIER, 2014). Apesar dessa inflexibilidade metabólica, *Methanosaeta* spp são os maiores produtores globais de CH₄ devido à capacidade de metabolizar o acetato em concentrações muito baixas (SMITH; INGRAM-SMITH, 2007). No entanto, recentes estudos demonstram que o consórcio sintrófico entre *Geobacter* sp. e *Methanosaeta* sp. permite que este último grupo reduza o CO₂ para formar CH₄ concomitantemente à via acetoclástica (HOLMES et al., 2016, 2017; ROTARU et al., 2018; FILMAN et al., 2019). Isso ocorre por meio de um processo de transferência direta de elétrons entre espécies (DIET), que é um processo sintrófico mais eficiente para a troca de elétrons do que a IIET (SHRESTHA et al., 2013; STORCK; VIRDIS; BATSTONE, 2015; CHENG; CALL, 2016). Vale salientar que

durante o processo de DIET, a interferência da pressão parcial de H₂ decorrente do acúmulo de H₂ durante a acetogênese é desconsiderada (CRUZ VIGGI et al., 2014).

No processo DIET, o organismo doador de elétrons (organismos eletrogênicos) gera prótons reduzidos de H₂ ($H_2 \rightarrow 2e^- + 2H^+$) que são compartilhados com o organismo receptor (metanogênicos eletrotroficos), fazendo com que o CO₂ seja reduzido a CH₄ independente da presença de desidrogenases para o organismos redutor (HOLMES et al., 2017). De acordo com Holmes et al. (2016), este processo eletrossintrófico é denominado de processo metanogênico baseado na DIET. Em um sistema deste tipo, as estruturas condutoras ligadas à membrana desempenhem um papel importante para a transferência de elétrons entre espécies, como o *pili* eletricamente condutivo (*e-pili*) associado aos citocromos tipo-c-multiheme (MHCs), que são proteínas de superfície externa anexadas ao *e-pili* (LEANG et al., 2010; HOLMES et al., 2016; WALKER et al., 2020). Tais componentes condutores biológicos desempenham um papel significativo na transferência extracelular de elétrons interespecies (CHONG; KARBELKAR; EL-NAGGAR, 2018; JIN; ZHAO; ZHANG, 2019). Apesar das metanogênicas pertencentes à ordem *Methanosarcinales* terem conteúdo elevado de MHC (THAUER et al., 2008), foi revelado que somente a presença dessas proteínas é insuficiente para a determinação de microrganismos mediadores da DIET (DIETers) (WALKER et al., 2020; YEE et al., 2020), pois existem outras estruturas condutoras de elétrons específicas (por exemplo, ácidos húmicos, conteúdo de íons metálicos na membrana, polímeros de biofilme e outros) que podem estimular as propriedades eletroativas do biofilme anaeróbico (CAIZÁN-JUANARENA et al., 2020; YEE et al., 2020).

A influência do processo DIET é uma variável intensamente estudada em reatores anaeróbios metanogênicos nos últimos anos. A maior evidência disso é que nos últimos três anos (01-01-2020 a 01-01-2023), o processo DIET foi um dos assuntos mais explorados em artigos que abordaram as palavras-chave “*electron transfer*” e “*methanogenesis*” (Figura 2). A Figura 2 sintetiza a busca bibliométrica que relaciona as duas palavras-chave a outras ocorrências nos 390 artigos encontrados para o assunto.

Figura 2 - Agrupamento das 21 palavras-chave com mais de 37 ocorrências (total de 390 arquivos analisados) nos artigos científicos buscados na WOC para o período de 01-01-2020 a 01-01-2023 com a busca: “*electron transfer and methanogenesis*”. As quatro maiores ocorrências tiveram seus valores acentuados na imagem.



Fonte: criado pelo autor na plataforma VOSviewer

Vários estudos demonstraram que sistemas metanogênicos podem ser estimulados pela adição de materiais condutores inorgânicos, resultando no aumento das velocidades de produção de CH₄, reduzindo a fase de latência (do inglês: *lag phase*) e aumentando a resiliência dos processos anaeróbios. De acordo com artigos de revisão bibliográficas dos últimos anos (MARTINS et al., 2018; LEE; LEE, 2019; LU; CHANG; LEE, 2020; KUTLAR; TUNCA; YILMAZEL, 2022; WU et al., 2023), existem dois grupos principais de materiais

que podem servir como condutores para acelerar a transferência de elétrons entre organismos acidogênicos e metanogênicos: i) materiais à base de metal e II) materiais à base de carbono inorgânico.

Materiais à base de metal, incluindo aço inoxidável, manganês (Mg), magnetita (Fe_3O_4) e hematita (Fe_2O_3), funcionam como estruturas condutoras de elétrons não bióticas entre espécies microbianas anaeróbias (KATO; HASHIMOTO; WATANABE, 2012a, 2012b; ARIF; LIAQUAT; ADIL, 2018). Alguns estudos confirmam que a magnetita pode compensar a falta de MHCs associados a *e-pili* no fluxo de elétrons microbiano durante a DIET (LIU et al., 2015; WANG et al., 2020a). De acordo com Liu et al. (2015), a magnetita pode compensar a função do OmcS (do inglês: *c-type cytochrome* - OmcS) em cepas de *Geobacter* com deficiência de OmcS, bem como estimular microrganismos a regular sua expressão do gene OmcS, gastando menos energia em sua biossíntese. Semelhante aos materiais à base de metal, alguns pesquisadores indicam que os materiais à base de carbono inorgânico, como carvão ativado granular (do inglês: *granular activated carbon* - GAC), grafeno, grafite e biochar (BC) têm um potencial alto para apoiar os processos metanogênicos baseados na DIET (LIU et al., 2012; LIN et al., 2018; PRADO; BERENQUER; ESTEVE-NÚÑEZ, 2019; AJAY et al., 2020; KUTLAR; TUNCA; YILMAZEL, 2022). Por exemplo, Liu et al. (2012) observaram que o GAC tem um potencial de condutividade elétrica maior do que a componente biológica *e-pili* (3000 ± 327 vs. $2\text{--}20 \mu\text{S cm}^{-1}$), permitindo uma velocidade de elétrons mais alta em sistemas metanogênicos baseados na DIET. Em resumo, os materiais condutores superam a eficiência do transporte de elétrons das conexões biológicas, permitindo que os microrganismos DIETers gastem menos energia para produzir estruturas condutoras (BAEK et al., 2018). Apesar do aumento no número de estudos envolvendo a aplicação de processos metanogênicos baseados na DIET, uma base abrangente para a escolha do melhor material para o transporte de elétrons permanece indefinida. Porém, alguns estudos fornecem suporte de alguns materiais condutores preferidos pela eficiência e pelo custo (KUTLAR; TUNCA; YILMAZEL, 2022).

A magnetita e o GAC são sugeridos como os facilitadores da DIET mais promissores (MARTINS et al., 2018). Embora a magnetita e o GAC revelem propriedades físicas e químicas extremamente diferentes (MAJEWSKI; THIERRY, 2007; PASUPULETY et al.,

2019), eles têm em comum uma capacidade condutiva elevada, a qual contribui substancialmente para os processos bioeletroquímicos durante a DA. No entanto, os efeitos desses materiais em biosistemas submetidos à operação de longo prazo e alimentados com biomassa complexa ainda carecem de estudos adicionais. Recentemente, dois estudos forneceram uma visão geral de riscos biotóxicológicos potenciais para o uso de materiais baseados em carbono e materiais baseados em metais dentro de sistemas metanogênicos (LEE; LEE, 2019; LU; CHANG; LEE, 2020). Ambos os estudos levantaram preocupações sobre a viabilidade do uso de materiais condutores para melhorar o desempenho da metanogênese. Contudo, as premissas usadas como suporte pelos estudos supracitados não se aplicam a todo material condutor.

Embora as relações sintróficas por meio da DIET sejam encontradas em ambientes naturais e em biorreatores anaeróbios (ZHANG; LU, 2016; YUAN et al., 2018), o desenvolvimento de sistemas metanogênicos baseados na DIET em reatores contínuos ainda necessita de evidências experimentais. Para esclarecer essa questão e formular hipóteses mais coesas esta revisão foi estruturada em três aspectos relativos aos sistemas metanogênicos baseados na DIET:

- i) o estado da arte do processo DIET explorado sob a ótica da adição de materiais condutores;
- ii) os gargalos em torno de ensaios em batelada operados com meio suporte condutores de fácil acesso;
- iii) as barreiras para a aplicação de sistemas baseados na DIET metanogênicos em reatores contínuos;

1.3 O processo de DIET

A identificação do processo sintrófico DIET foi objeto de grande repercussão em diversas áreas de pesquisas envolvendo microbiologia, desde pesquisas básicas até estudos de bioengenharia. O primeiro trabalho experimental sobre DIET em condição anaeróbia foi conduzido pelo grupo do pesquisador americano Derek R. Lovley, quando os autores propuseram o uso de co-cultura de *Geobacter* sp. para acelerar a acetogênese do etanol em sintrofismo com metanogênicas acetoclásticas (SUMMERS et al., 2010). Logo em seguida,

Lovley, (2011b) publicou um artigo de revisão bibliográfica para explicar como os componentes condutores microbianos facilitam a transferência de elétrons entre espécies, permitindo acelerar o processo metanogênico em microbiomas anaeróbios. Outras contribuições foram feitas por Cruz Viggi et al. (2014), os quais identificaram que a velocidade de transferência de elétrons por meio da DIET é $\approx 10^6$ vezes mais rápida que a IIET, estabelecendo condições termodinâmicas e metabólicas favoráveis para a produção de CH_4 em sistemas anaeróbios. Outras evidências do processo DIET foram apontadas por Barua; Zakaria e Dhar, (2018), que fornecem evidências de que a adição de fibra de carbono pode aumentar a velocidade de produção de CH_4 em até 6,7 vezes a partir da oxidação do ácido propanoico e ácido *n*-butírico em reator anaeróbio em batelada. Ou seja, os sistemas metanogênicos baseados na DIET refletem uma vantagem maior que os sistemas baseados na IIET. Todavia, é necessário enfatizar que o processo sintrófico DIET não exclui o processo sintrófico da IIET. Alguns estudos relatam que ambos os processos DIET e IIET podem coexistir durante o equilíbrio sintrófico de elétrons em microbiomas anaeróbios submetidos a estresses metabólicos (BAEK et al., 2018; LIN et al., 2019; WANG et al., 2020c).

Embora as conexões elétricas biológicas necessárias para a DIET sejam suficientes na manutenção do metabolismo sintrófico, a DIET pode ser aprimorada com a ajuda de materiais condutores (PARK et al., 2018). De acordo com Yan et al. (2017), materiais condutores de elétrons podem facilitar o contato direto com microrganismos, criando condições favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos DIETers. Em relação à temperatura, o aumento da produção de CH_4 foi observado em condições mesofílicas e termofílicas (YAN et al., 2017; LIN et al., 2018; RYUE et al., 2019). Dados relevantes da literatura dos últimos anos mostram características vantajosas no uso de diferentes materiais condutores em sistemas metanogênicos, como:

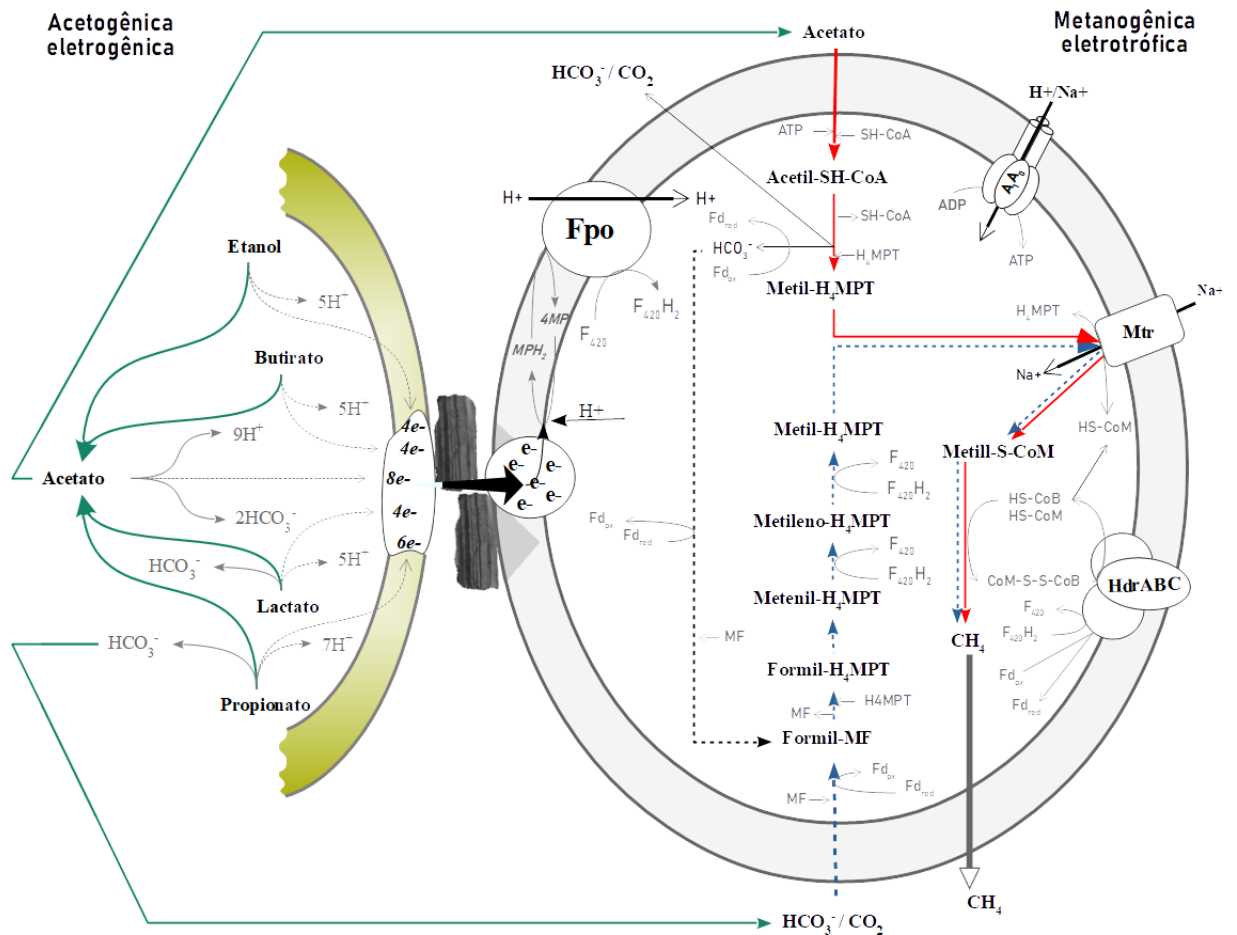
- o tecido de carbono em reatores contínuos e descontínuos aumenta a resistência microbiana do ataque ácido proveniente da fermentação primária (ZHAO et al., 2017);
- a presença de hematita (Fe_2O_3) pode estimular o desenvolvimento de microrganismos eletroativos durante a produção de CH_4 (AMBUCHI et al., 2018);
- a capacidade de transferência de elétrons de grupos funcionais eletroativos (quinona, fenazina) presentes na superfície do biocarvão (do inglês: *biochar*- BC) direciona o

processo DIET durante a degradação de ácidos graxos voláteis (PRADO; BERENGUER; ESTEVE-NÚÑEZ, 2019);

- as análises de metagenômica revelam genes funcionais envolvidos na degradação do carbono e na produção de CH₄ estimulados pela presença de magnetita (XING et al., 2020);
- as diferentes doses de BC interferem na produção de CH₄, não havendo uma relação diretamente proporcional à dose (CUI et al., 2021);
- o GAC desempenha papel fundamental no controle de metabólitos oriundo do excesso de substrato em relação à concentração de microrganismos (ZHAO et al., 2022);
- o efeito sinérgico do mecanismo DIET e da capacidade de adsorção de GAC beneficia a degradação de ácidos graxos de cadeia longa (XU et al., 2023);

Múltiplas linhas de evidência sugerem que os reatores anaeróbios suplementados com materiais suporte eletrocondutores podem estimular o enriquecimento de microrganismos eletrogênicos (por exemplo, *Geobacter* sp., *Desulfovibrio* sp., *Desulfobulbus* sp., *Syntrophobacter* sp., *Sphaerochaeta* sp., *Shewanella* sp. dentre outros) em favor da metanogênese eletrotrofica (ZHAO et al., 2017; WANG et al., 2018b; LEI et al., 2019; YEE; ROTARU, 2020). A interação entre os componentes bióticos (estruturas ligadas à membrana) e abióticos (material condutor de elétrons) permite que organismos metanogênicos capturem elétrons diretamente, transportando-os por meio de enzimas reduzidas intracelulares específicas. A Figura 3 mostra de maneira simplificada os processos de transporte de elétrons entre bactérias eletrogênicas e archaea metanogênicas eletrotroficas.

Figura 3 - Modelo simplificado de processos de transporte de elétrons entre bactérias eletrogênicas e metanogênicas eletrotroficas. Adaptado de Cavalcante, Gehring e Zaiat, (2021).



Fonte: adaptado de Cavalcante, Gehring e Zaiat, (2021).

De modo geral, as coenzimas reduzidas ferredoxina (Fd_{red}) e 8-hidroxi-5-deazaflavina- H_2 (F_{420-H_2}) se comportam como transportadores de elétrons para a redução gradual de CO_2 em formil, metileno e metila (WELTE; DEPPENMEIER, 2014), enquanto outras estruturas ligadas à membrana controlam o equilíbrio de prótons intracelular, permitindo o ganho de energia suficiente para realizar ambas as vias metanogênicas (acetoclástica e eletrotrofica hidrogenotrofica). Holmes et al. (2018) propuseram que, durante a DIET, a F_{420-H_2} gerada pelo complexo de translocação de prótons (Fpo) ligado à membrana doa elétrons para o complexo heterodissulfeto bifurcado de elétrons citoplasmático (HdrABC), produzindo Fd_{red} e

CoM-S-S-CoB necessários para a produção de CH₄. Dada a importância do conteúdo de F₄₂₀-H₂, alguns estudos apontam um aumento significativo do conteúdo desta coenzima nos sistemas metanogênicos baseados na DIET, estimulando a atividade dessa proteína em consonância com a dosagem de material eletrocondutor (WANG et al., 2016; TIAN et al., 2017).

Vários estudos revelam que os citocromos associados ao *e-pili* são as principais estruturas bióticas ligadas à membrana, auxiliando o transporte de elétrons durante a DIET (LIU et al., 2015; HOLMES et al., 2016; WALKER et al., 2020). Por outro lado, foi relatado que alguns componentes do biofilme aderidos a suportes condutivos podem armazenar substâncias eletroquimicamente ativas contendo grupos funcionais que aprimoram as propriedades redox do biofilme anaeróbico, potencializando o processo DIET (YE et al., 2018a; XU et al., 2019). Portanto, ainda são necessários estudos mais detalhados para revelar as reais estruturas e moléculas intimamente relacionadas à bioquímica do transporte de elétrons mediado pelo processo DIET.

1.3.1 Termodinâmica e cinética do processo de DIET

A comparação entre os dados de energia livre de Gibbs apresentados na Tabela 1 com a ilustração de rotas da Figura 3, possibilita identificar que o processo de DIET pode fornecer uma via termodinamicamente mais favorável para a acetogênese do que o processo de IIET. A termodinâmica das reações delimitadas pela DIET difere das delimitadas pela IIET, pois esta última depende diretamente do gradiente de concentração de H₂ no meio (STAMS; PLUGGE, 2009; CHENG; CALL, 2016). Na IIET, o gradiente de concentração de H₂ no meio é, geralmente, autorregulado por meio da razão NAD/NADH (mediadores redox: Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo). Ou seja, o controle interno de H₂ deve ser mantido em concentrações baixas o suficiente para garantir uma termodinâmica favorável durante a acetogênese, sendo um requisito crítico para a IIET dependente da transferência de H₂ (STAMS; PLUGGE, 2009; SCHINK; STAMS, 2013). Além disso, a via hidrogenotrófica por meio da DIET (Figura 3) é endotérmica, enquanto a mesma reação via IIET é exergônica (Tabela 1). Isso ocorre pois a energia livre de Gibbs da porção de íons hidrogênio (H⁺) (-39,8 kJ mol⁻¹ em pH 7) é diferente em relação ao valor zero quando o gás H₂ é consumido pelo processo de IIET (KLEEREBEZEM; VAN LOOSDRECHT, 2010; CHENG; CALL, 2016). Por outro lado,

devido à baixa perda de energia associada à formação de intermediários durante a acetogênese, as reações mediadas por meio da DIET podem produzir mais energia que as mesmas reações mediadas pela IIET (SUMMERS et al., 2010; XU et al., 2019). Mesmo que a DIET não dependa de um mediador redox para transferir elétrons, a transferência de elétrons entre pares de células conectados a uma matriz condutora resulta em perdas de energia eletroquímicas específicas para esse tipo de processo (STORCK; VIRDIS; BATSTONE, 2015). As perdas de energia durante a DIET ocorrem devido à necessidade de: i) ativação inicial da transferência bioelétrica; ii) aceitação de elétrons da ativação do cofator redox; e iii) resistência elétrica do meio líquido e do material condutor usado (STORCK; VIRDIS; BATSTONE, 2015; CHENG; CALL, 2016).

Com base no conceito de distância mínima entre pares de células ($e\text{-cp s}^{-1}$), prevista por meio de modelo matemático, a DIET é mais favorável que a IIET, mostrando um valor de $4,49 \times 10^4 e\text{-cp s}^{-1}$ para a DIET e $5,24 \times 10^3 e\text{-cp s}^{-1}$ para o IIET (STORCK; VIRDIS; BATSTONE, 2015). Contudo, as constantes cinéticas utilizadas no modelo de Storck, Virdis e Batstone (2015) foram baseadas no metabolismo de espécies do gênero *Shewanella*, as quais podem apresentar características bioeletroquímicas diferentes de outras espécies eletrogênicas participantes do processo de DIET. Assim, fica claro a necessidade do desenvolvimento de mais estudos para identificar barreiras termodinâmicas e limites cinéticos dos processos de DIET, principalmente em microbiomas complexos. Neste sentido, Liu et al. (2020) enfatizaram que a análise termodinâmica é uma ferramenta poderosa para fornecer uma base teórica para a aquisição de parâmetros cinéticos e estequiométricos em sistemas metanogênicos baseados na DIET.

O desempenho cinético de reatores metanogênicos com base na DIET é avaliado por meio de ajustes sigmóides baseados nas equações modificadas de Gompertz (GADHAMSSETTY et al., 2010). O rápido acesso a variáveis cinéticas, como produção cumulativa de CH_4 ($M(t)$; mL) no tempo (t ; d), potencial de CH_4 (M_0 ; mL), velocidade máxima de produção de CH_4 (R_m ; mL d^{-1}) e *lag-phase* (λ ; d)), torna o ajuste de Gompertz modificado o mais usado para comparar a eficiência de processos metanogênicos em reatores descontínuos suplementados com materiais condutores (LI et al., 2019; SHEN et al., 2020; CUI et al., 2021; WANG et al., 2022b; XU et al., 2023).

Todavia, a natureza da equação modificada de Gompertz é limitada por sua incapacidade de prever a evolução simultânea da concentração de substrato, mudança de pH e evolução dos diferentes tipos de metabólitos. Portanto, para garantir a determinação de parâmetros operacionais de reatores metanogênicos baseados na DIET é necessário adotar modelos matemáticos que permitam estruturar as principais rotas metabólicas dentro de suas limitações cinéticas e termodinâmicas. Nesta linha, Storck, Viridis e Batstone (2015) foram pioneiros na modelagem do processo de DIET sob a premissa da distância mínima entre as células para o compartilhamento de elétrons, sugerindo adaptações que podem ser acopladas a outros modelos matemáticos semiestruturados, como o modelo anaeróbio número 1 (do inglês: *Anaerobic Digestion Model N°1* - ADM1) proposto por Batstone et al. (2002). O modelo ADM1 integra a resolução de equações parciais, diferenciais e algébricas simultaneamente, permitindo conectar o equilíbrio físico-químico dos processos biológicos que apresentam diferentes reações. Muitas contribuições ainda podem ser encontradas para acoplar modificações estruturais no modelo ADM1, permitindo descrever as interações eletroquímicas entre massa líquida, biofilme e material suporte. Potencialmente, modificações para propor um novo modelo que integre o processo DIET (ADM1-DIET) podem seguir estruturas e parâmetros cinéticos de modelos de sistemas bioeletroquímicos (PINTO et al., 2011; BELLEVILLE et al., 2019). Por outro lado, a facilidade de transformar a linguagem de base DQO (demanda química de oxigênio) em elétrons equivalentes ($125 \text{ mol } e^- \text{ kg-DQO}^{-1}$) pode ser uma nova adaptação para unificar a linguagem de modelos ADM1 aplicados à microbiomas baseados na DIET.

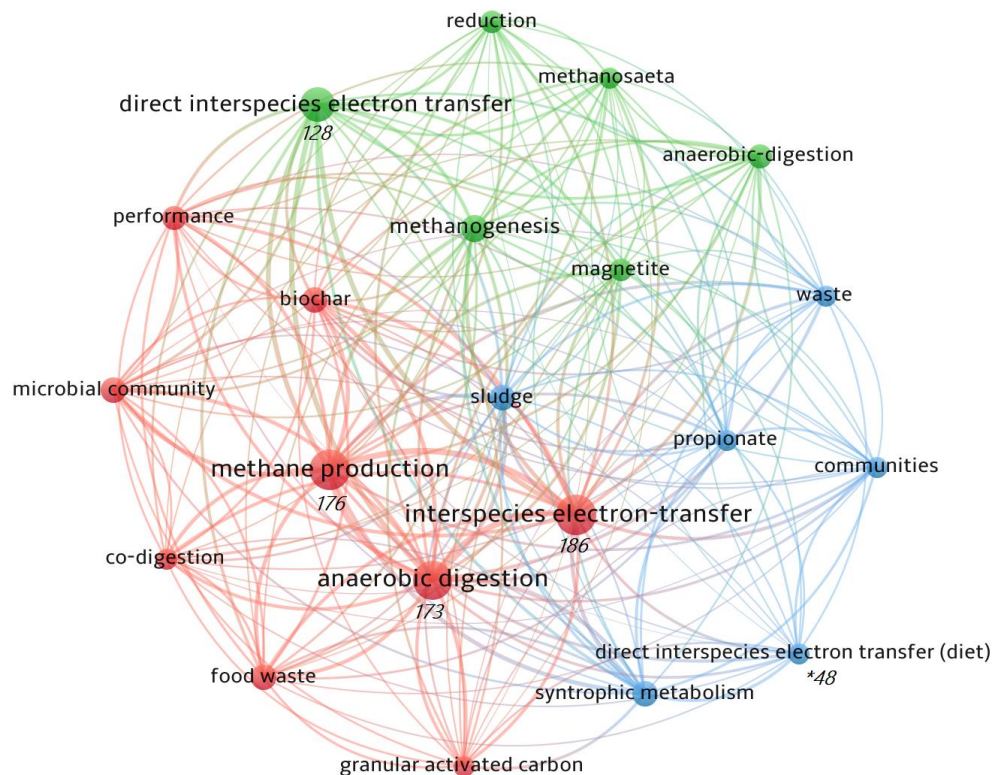
1.3.2 Interação abiótica em sistemas metanogênicos DIET

As interações abióticas se concentram na análise dos tipos e efeitos de diferentes materiais condutores em meio anaeróbio. É importante salientar que a grande maioria dos estudos se concentram na avaliação dos efeitos de estimulação sintrófica que os materiais condutores podem exercer no desenvolvimento do processo de DIET. Estes efeitos serão detalhados na seção 1.3.3, usando como ponto central o uso de GAC e de magnetita como materiais condutores.

1.3.3 Material suporte eletrocondutor

De acordo com dados coletados no portal WOC, foi possível verificar uma tendência em relação ao uso de magnetita, GAC e BC como materiais suporte em sistemas metanogênicos alterados com a DIET (Figura 4). Além disso, nos últimos anos, sucessivos estudos de revisão abordaram o potencial da aplicação de materiais condutores em biorreatores metanogênicos (BAEK et al., 2018; MARTINS et al., 2018; PARK et al., 2018; LEE; LEE, 2019; SHARMA; MAHAJAN; GOEL, 2019; AJAY et al., 2020; YEE et al., 2020; LU; CHANG; LEE, 2020; CHEN et al., 2022; KUTLAR; TUNCA; YILMAZEL, 2022; PAQUETE et al., 2022; WU et al., 2023).

Figura 4 - Agrupamento das 21 palavra-chave com mais de 45 ocorrências (total de 419 arquivos analisados) nos artigos científicos buscados na base de dados da *Clarivate* para o período de 01-01-2020 a 01-01-2023 com as buscas “DIET”. As quatro maiores ocorrências tiveram seus valores acentuados na imagem.



Fonte: criado pelo autor na plataforma VOSviewer

Devido à síntese fácil, custo baixo e condutividade alta, o GAC e a magnetita se apresentam como fortes candidatos ao desenvolvimento de sistemas metanogênicos DIET. Esses destaques tornam possível o aumento de escala de sistemas metanogênicos com menor custo operacional. Entretanto, antes de propor a ampliação dos sistemas metanogênicos baseados na DIET, é necessário entender os impactos da interação de materiais eletrocondutores com o meio biótico anaeróbio em operações de curto e longo prazo.

1.3.4 Impactos da magnetita na DA

A magnetita é um mineral ferrimagnético encontrado na natureza na forma de óxido de ferro-III (Fe_3O_4), sendo comumente usado como aditivo no tratamento de vários poluentes presentes em meio líquido (RAHMAN et al., 2016; BILAL et al., 2020). Por exemplo, alguns materiais funcionalizados acoplados à magnetita mostraram adsorção elevada para íons de metais pesados (BILAL et al., 2020). No entanto, nos últimos anos, a magnetita recebeu grande atenção devido à sua capacidade de estimular as reações sintróficas microbianas, aumentando a produção de CH_4 em biorreatores anaeróbios (LEE; LEE, 2019; XU et al., 2019). Segundo Gorski et al. (2010), o posicionamento dos átomos de ferro na magnetita confere propriedades eletrocondutoras que facilitam a transferência biológica de elétrons entre espécies, acelerando a degradação da matéria orgânica durante o processo metanogênico (LIU et al., 2015). Nessa linha de contribuição, Cruz Viggi et al. (2014) relataram que a adição de magnetita em reator metanogênico aumenta a velocidade de produção de CH_4 em 1,33 vezes a partir da oxidação do propionato em ensaio em batelada. Similarmente, Zhang et al. (2018) relataram que o processo de DIET mediado com magnetita pode acelerar a velocidade de produção de CH_4 , reduzir a *lag phase* e diminuir o conteúdo de carbonato durante a oxidação anaeróbia sintrófica do butirato. O aumento da velocidade de produção de CH_4 com o auxílio de magnetita também foi observado em reatores anaeróbios alimentados com substratos complexos ou compostos recalcitrantes. Por exemplo, a adição de magnetita melhorou em 53% a velocidade de degradação do benzoato em reator mesofílico anaeróbio (ZHUANG et al., 2015). Em adição, Ye et al. (2018b) afirmaram que as partículas de magnetita em ensaios

em modo batelada aumentaram a velocidade de degradação do fenantreno em ~ 26% em comparação com o ensaio de controle sem adição de material condutor.

Apesar das grandes descobertas envolvendo as vantagens dos sistemas metanogênicos suplementados com magnetita, alguns estudos revelaram que doses diferentes desse material podem influenciar a velocidade de produção de CH₄. Por exemplo, Wang et al. (2018a) operaram três reatores semi-contínuos alimentados com água residuária sintética suplementados com três concentrações de magnetita: 0,1 g L⁻¹, 0,2 g L⁻¹ e 0,3 g L⁻¹. Os autores descobriram que a dosagem de 0,2 g L⁻¹ foi a mais eficiente para a elevação da produção de CH₄. Porém, a dosagem excessiva (0,3 g L⁻¹) causou efeito inibitório no processo de metanogênese, mas não no processo de acidificação. Nessa mesma linha, Jing et al. (2017) mencionaram que a adição de 0,01 g L⁻¹ de magnetita era suficiente para estimular a produção de CH₄ a partir de propionato em um experimento do tipo batelada alimentada. Jing et al. (2017) mostraram que concentrações elevadas de magnetita (0,1 e 1 g L⁻¹) não indicaram efeito inibitório ou diferença significativa na produção de CH₄ em comparação ao reator suplementado com 0,01 g L⁻¹ de magnetita. Embora ambos os estudos supracitados tenham avaliado a dose de magnetita sob as mesmas condições de temperatura (37°C), é possível mensurar que a dose ideal relatada entre eles difere 20 vezes. Contudo, vale salientar que a quantidade de inóculo aplicada por Wang et al. (2018) foi três vezes maior que a de Jing et al. (2017).

É necessário considerar que a adição de material condutor não deve ser a mínima que não suporte o processo de DIET ou a máxima que possa causar inibição ou consumo excessivo de material condutor. Dessa forma, faz-se necessário encontrar uma faixa de dosagem adequada de magnetita em reatores anaeróbios. A faixa ideal para adição de material condutor deve se basear em uma variável de comparação uniforme. Por exemplo, a relação entre a massa do material condutor e a massa do inóculo em sólidos voláteis (SV) (kg kg-SV⁻¹) pode ser adotada para garantir uma faixa segura para o aumento da velocidade de produção de CH₄ em relação à quantidade de material condutor adicionado. Se essa nova variável for aplicada para fixar a concentração ideal de magnetita descrita por Wang et al. (2018) e por Jing et al. (2017), é possível identificar uma faixa ideal de 2 a 15 kg kg-SV⁻¹. De modo geral, a adoção ou não dessa variável nos estudos que avaliaram diferentes doses de magnetita

precisam detalhar os gargalos bioquímicos ou os efeitos de inibição relacionados ao excesso de magnetita nos sistemas metanogênicos baseados na DIET.

A magnetita é uma molécula de conteúdo férrico suscetível ao ataque redox por microrganismos redutores de Fe(III) (WANG et al. 2018), como *Geobacter* sp., que são capazes de usar a redução de Fe(III) para conservação de energia durante a oxidação de H₂ e de matéria orgânica (VAN BODEGOM; SCHOLTEN; STAMS, 2004; BYRNE et al., 2015). Por outro lado, *Geobacter* sp. são os microrganismos DIETers mais importantes durante o sintrofismo com organismos metanogênicos (HOLMES et al. 2016; ROTARU et al. 2018; FILMAN et al. 2019). Embora o ferro seja um nutriente necessário para vários processos celulares, é essencial que as concentrações intracelulares de Fe²⁺/Fe³⁺ não atinjam níveis tóxicos (VAN BODEGOM et al. 2004; RAHMAN et al. 2016). Bennett e Gralnick (2019) destacam que o Fe³⁺ é menos tóxico e menos solúvel que o Fe²⁺ e altas concentrações intracelulares de Fe²⁺ podem causar toxicidade para organismos anaeróbios. Portanto, uma variável importante no controle de processos metanogênicos baseados na DIET suplementados com magnetita é garantir uma dose ideal de magnetita sem alterações químicas durante a DA. Alguns estudos recomendam confirmar a presença de magnetita adicionada após a DA (BAEK et al., 2017; WANG et al., 2020c), principalmente às nanopartículas deste material, que são mais suscetíveis à dissociação. As ressalvas quanto a dimensão e toxicidade da magnetita serão discutidas na seção 1.3.6.

1.3.5 Impactos do GAC na DA

O GAC é um material baseado em carbono amplamente utilizado em aplicações ambientais, sendo muitas delas destinadas ao tratamento de água e esgoto (BHATNAGAR et al., 2013). A alta porosidade e a área específica do GAC possibilitam a incorporação de metais e outros compostos tóxicos naturalmente presentes em alguns substratos ou resíduos orgânicos (LU; CHANG; LEE, 2020). Além de tudo, foi demonstrado nos últimos anos que o GAC pode oferecer benefícios significativos à produção de CH₄ devido a capacidade de estimular o desenvolvimento de DIETers (MARTINS et al., 2018; JOHNRAVINDAR et al., 2020). Por exemplo, Liu et al. (2012) conduziram pela primeira vez um ensaio para a degradação de etanol em co-cultura de *Geobacter* sp. e *Methanosarcina barkeri* na presença de GAC. Os autores revelaram que esse consórcio permite, na presença de material condutor,

maior condutividade entre as células do que as conexões elétricas produzidas biologicamente para o transporte de elétrons. Logo depois, o mesmo grupo repetiu o mesmo estudo e revelaram que o GAC é capaz de diminuir o período de *lag phase* da produção de CH₄ de 39 dias para 7 dias (ROTARU et al., 2014). De acordo com Lee et al. (2016), a produção específica de CH₄ em um reator operado em batelada alimentado com acetato e suplementado com GAC foi 3,7 vezes maior que o controle com biomassa suspensa.

Um aspecto extremamente importante da suplementação de GAC em reatores metanogênicos é o aumento da resistência microbiana ao ataque ácido oriundo da fermentação primária (LEI et al., 2019). A resistência a altas concentrações de ácidos significa que os sistemas metanogênicos baseados na DIET requerem menor alcalinização externa, reduzindo possíveis custos operacionais. Nos microbiomas anaeróbios alterados com o GAC, o processo DIET pode acelerar um número maior de interações entre parceiros sintróficos, incluindo a degradação de compostos recalcitrantes. Zhang et al. (2020) relataram que 82-93% dos elétrons liberados pelo benzoato foram recuperados por meio do processo de DIET na presença de 1 g L⁻¹ de GAC.

Embora a literatura não indique riscos específicos ao uso de GAC em sistemas biológicos anaeróbios, é necessário controlar a dose adicionada para não exceder a capacidade técnica do processo. Além disso, deve-se considerar que ao contrário da magnetita, o GAC tem densidade baixa e uma área específica elevada, dando a esse material uma maior capacidade de adesão celular (ZHAO et al., 2022). Portanto, para padronizar um parâmetro operacional para reatores DIET modificados com GAC, sugere-se atribuir a produção específica de CH₄ em função da área específica do material (mL-CH₄ SV⁻¹ m⁻²). Essa estratégia permite comparar sistemas metanogênicos baseados na DIET operados com meios suportes de mesma origem. Vale salientar que os materiais de carbono de alta porosidade (do inglês: *high porosity carbon materials* - HPCM) como GAC e BC têm capacidade elevada de adsorção, a qual deve ser levada em consideração durante o isolamento do processo DIET (ZHAO et al., 2022; XU et al., 2023).

1.3.6 Operação a longo prazo de sistemas metanogênicos baseados em DIET

A operação de curto prazo de sistemas metanogênicos baseados na DIET em modo batelada dificulta a detecção de possíveis interferências negativas dos materiais condutores em microbiomas anaeróbios. Poucos estudos se concentraram no comportamento de longo prazo de reatores suplementados com material suporte condutor. Por sua vez, ainda faltam pesquisas sobre a real influência biótica ou resistência do material condutor submetido a um longo período de contato dentro do meio líquido em biorreatores anaeróbios. Baek, Kim e Lee, (2016) e Baek et al. (2017) investigaram aspectos intrínsecos do comportamento de um sistema contínuo metanogênico baseado na DIET por 376 dias. Em ambos os estudos, os sistemas anaeróbios foram suplementados com nano-magnetita sob condição mesofílica (35°C) e alimentado com soro de queijo como único substrato. Os dados experimentais de ambos os estudos apontam para um efeito positivo significativo da suplementação de magnetita no processo AD, principalmente por aumentar a robustez do desempenho do reator e corrigir o desequilíbrio bioquímico dos processos metabólicos. Além disso, os autores relataram que, durante toda a operação, as partículas de magnetita não sofreram alterações químicas e não foi observado efeito redutivo de Fe^{3+} a Fe^{2+} . Apesar do tamanho reduzido da magnetita utilizada (100-700 nm), Baek et al. (2017) sugerem que essas partículas formam estruturas celulares agregadas, aumentando a atividade de microrganismos acidogênicos eletrogênicos. Mesmo com tais benefícios da adição de nano-magnetita em reatores metanogênicos, Lee et al. (2019) afirma que pode haver riscos bio-toxicológicos associados ao uso de nano-metais em biorreatores anaeróbios, pois muitas nanopartículas metálicas (maiores que a escala celular) podem atravessar a membrana celular e causar distúrbios metabólicos no meio intracelular (RAHMAN et al., 2016; WANG et al., 2016).

Devido à fácil síntese e ao potencial estimulante sintrófico, a nano-magnetita é a partícula nano-metálica condutora mais estudada em reatores metanogênicos. Por exemplo, Ali et al. (2017) relataram que a adição de nano-magnetita potencializa o processo de DIET devido aos inúmeros sítios ativos que os materiais em nanoescala são capazes de fornecer. Arif, Liaquat e Adil, (2018) enfatizaram que as nanopartículas de magnetita são preferidas para a condução de sistemas metanogênicos baseados na DIET devido à sua baixa toxicidade e biocompatibilidade às atividades enzimáticas celulares. Porém, Vittori Antisari et al. (2013) revelaram que partículas de nano-magnetita podem alterar o quociente metabólico microbiano

(relação respiração-biomassa) em biorreatores anaeróbios. Portanto, para garantir o uso seguro da nano-magnetita como estimulante do processo de DIET em reatores metanogênicos é necessário avaliar os seus aspectos abióticos (HASSANEIN; LANSING; TIKEKAR, 2019).

Em relação aos materiais à base de carbono, Lu et al. (2020) citam a possibilidade da presença destes materiais oferecerem risco bio-toxicológico em sistemas metanogênicos baseados na DIET. Os autores levantaram suposições sobre uma possível inibição de materiais à base de carbono devido aos registros na literatura da citotoxicidade do grafeno em ambientes aquáticos. No entanto, Lu et al. (2020) não mencionaram aspectos bio-toxicológicos relacionados ao uso de GAC em reatores anaeróbios. Vale salientar que o grafeno é um material à base de carbono que pode ter diferentes funcionalizações projetadas para remover poluentes em ambientes aquáticos (BILAL et al., 2020), e a maioria das referências sobre a biotoxicidade do grafeno está associada a atividades metabólicas mitocondriais, ou seja, para organismos aeróbios (BIANCO, 2013). Em contradição, alguns estudos observaram velocidades de produção de CH₄ elevada para sistemas metanogênicos suplementados com nanopartículas de grafeno (TIAN et al., 2017; LIN et al., 2018). Por exemplo, Tian et al. (2017) utilizaram reatores mesofílicos (35°C) anaeróbios em modo batelada alimentados com glicose e suplementado com 0,120 g L⁻¹ de nano-grafeno, identificando um aumento de 51,4% na velocidade de produção de CH₄. Em linha com o achado anterior, Lin et al. (2018) também obtiveram um aumento significativo na velocidade de produção de CH₄ (25%) usando um reator mesofílico (35°C) em modo batelada alimentada com etanol e suplementado com 1,0 g L⁻¹ de nano-grafeno. Ambos os estudos não relataram a inibição associada à concentração de grafeno nos experimentos em modo batelada. No entanto, após 55 dias de operação em reator contínuo com diminuição gradual da temperatura (20, 15 e 10 °C), a velocidade de produção de CH₄ com a dose de 0,120 g L⁻¹ de grafeno teve redução insignificativa em relação ao controle sem adição de grafeno (TIAN et al., 2017). Por outro lado, Lin et al. (2018) operaram um reator mesofílico por um período maior (120 dias) e uma concentração de grafeno aproximadamente oito vezes superior ao de Tian et al. (2017), sem qualquer observação de efeito inibitório. A diferença observada nos dois estudos supracitados pode estar correlacionada às interações específicas com a diminuição gradual da temperatura e sucessão microbiológica adotada por Tian et al. (2017).

Todas as discussões anteriores mostraram a necessidade de um planejamento cuidadoso de experimentos usando materiais condutores para sistemas metanogênicos baseados na DIET, principalmente pelo risco de inibição de nanopartículas. O risco de usar nanopartículas como aditivos em biosistemas anaeróbios ainda carece de esclarecimentos, especialmente em reatores operados a longo prazo. Ajay et al. (2020) apontaram que a adição de nanopartículas em biodigestores pode ter impactos positivos e negativos sob três principais linhas: 1) a produção de CH₄ depende do tipo e quantidade de material utilizado; 2) nanopartículas à base de ferro e materiais carbonáceos afetam positivamente a DA e; 3) nanopartículas à base de cério, cobre e zinco resultam na inibição da atividade metanogênica. Além disso, novos estudos devem explorar os efeitos da dose de material em sistemas metanogênicos, uma vez que essa variável pode levar à descoberta de doses inibitórias ou insignificantes para o aumento da produção de CH₄. A interação de materiais condutores com organismos metanogênicos deve ser descrita de forma abrangente, garantindo a ampliação de sistemas metanogênicos baseados na DIET. Por fim, a adição de materiais condutores com tamanho igual ou superior ao tamanho da microescala (tamanho celular) em reatores metanogênicos deve ser considerada como meio suporte, enquanto as partículas menores devem ser classificadas como aditivos eletroativos.

1.3.7 Interação biótica em sistemas baseados em DIET metanogênica

1.3.8 O papel da transferência extracelulares de elétrons

O biofilme anaeróbio desempenha um papel central nos processos anaeróbios em reatores preenchidos com materiais inertes. Por definição, o biofilme é uma estrutura biótica composta por polímeros autoproduzidos (lipídios, proteínas, polissacarídeos) capaz de agregar diferentes microbiomas (BRYERS, 1994), conhecido como substâncias poliméricas extracelulares (EPS) (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2010). A maioria dos microrganismos anaeróbios tem como aspecto comum a produção de EPS para a auto fixação em biorreatores preenchidos com meio suporte (MCCARTY; SMITH, 1986; LANGER et al., 2014). As maiores vantagens oferecidas pelos reatores de biofilme são: maior retenção e manutenção de células no sistema (GERMEC; DEMIRCI; TURHAN, 2020), maior rendimento de biogás (LANGER et al., 2014), aumento da biomassa sintrófica ativa (YE et

al., 2018a) e resistência a compostos inibitórios tóxicos endógenos ou exógenos (STOODLEY et al., 2002; RABIN et al., 2015). Contudo, a contribuição biótica do biofilme em matrizes condutoras é muitas vezes uma variável negligenciada em estudos com reatores em batelada metanogênicos baseados na DIET.

Alguns estudos relatam que a hematita (Fe_2O_3) pode estimular a geração de substâncias biocondutoras (citocromo tipo c e/ou moléculas húmicas) que melhoram as propriedades redox das substâncias poliméricas extracelulares (do inglês: *extracellular polymeric substances* – EPS), facilitando o processo de DIET (YE et al., 2018a; MA et al., 2019). De modo geral, o EPS aderido aos materiais condutores pode armazenar substâncias eletroquimicamente ativas contendo grupos funcionais que podem auxiliar na transferência de elétrons extracelulares (por exemplo, piridoxina, flavinas, triptofano, tirosina) (XIAO et al., 2017; WANG et al., 2019a; XU et al., 2019). Isso converge com as observações de Wang et al. (2019) sobre os efeitos da adição de magnetita em biorreatores metanogênicos, a qual estimula o aumento da concentração de piridoxina na composição do EPS, aumentando a atividade metabólica microbiana e facilitando a agregação celular. Dessa forma, microbiomas eletricamente ativos são capazes de produzir um biofilme condutor, independentemente da condutividade do meio aderente (XIAO et al., 2017; MA et al., 2019). Por exemplo, Ma et al (2019), aplicaram diferentes doses externas de EPS (0, 1 e 2 gEPS L⁻¹) como aditivo em lodo anaeróbio alimentado com meio sintético (glicose e nutrientes), relatando um aumento no rendimento de CH₄ de 36,5 % para a dose mais alta de EPS. A análise dessas premissas demonstra a necessidade de garantir que os ensaios projetados com a adição de materiais condutores em sistemas metanogênicos possa revelar de forma simultânea a contribuição do biofilme e do processo de DIET. Portanto, ensaios separados para considerar os efeitos da formação do biofilme e da condutividade do material podem ser uma exigência para ensaios desta natureza.

1.3.9 O papel do biofilme em sistemas metanogênicos baseados na DIET

Para apoiar a discussão da seção 1.3.8, a interação entre microbiomas anaeróbios e sua diferente capacidade de aderir em superfícies inertes precisa ser compreendida. Em primeiro lugar, é necessário pontuar que os microrganismos anaeróbios têm diferentes capacidades de adesão em diferentes meios suporte com diferentes distribuições de microbiomas,

especialmente organismos metanogênicos (SANCHEZ et al., 1994; SHOW; TAY, 1999; HABOUZIT et al., 2011). De acordo com Sanchez et al. (1994), os enriquecimentos de organismos metanogênicos podem ser influenciados pelas propriedades físico-químicas do meio suporte (por exemplo, área específica, rugosidade, porosidade, carga superficial e hidrofobicidade) disponibilizado em reatores anaeróbios com biofilme. Alguns estudos comparativos sugerem que a rugosidade, porosidade e área superficial do meio suporte impactam positivamente a metanogênese; pois aumenta a concentração de biomassa em reatores com biomassa aderida (SHOW; TAY, 1999; PATEL; MADAMWAR, 2000). Por outro lado, Habouzit et al. (2011) avaliaram as propriedades específicas de sete diferentes materiais suporte (polietileno, polipropileno, cloreto de polivinila, acrilonitrila butadieno estireno, policarbonato, vidro borossilicato e aço inoxidável) para adesão de *Archaea* e *Bacteria* e revelaram que a energia de superfície do material (detalhado em 1988 por van Oss; Chaudhury e Good) é um parâmetro mais adequado para determinar a adesão microbiana em comparação com a área específica, a rugosidade e a porosidade. Habouzit et al. (2011) concluíram que energias superficiais mais baixas aumentam a adesão microbiana, estabelecendo o polipropileno e o aço inoxidável como os materiais mais adequados à adesão celular. De forma complementar, o cloreto de polivinila e o policarbonato apresentaram as maiores energias de superfície (menor adesão) e levaram à adesão de mais *Archaea* do que *Bacteria*. Os autores concluíram que a baixa adesão microbiana a esses materiais pode ser compensada pela alta afinidade de *Archaea*, que são responsáveis pela etapa limitante do processo anaeróbio. Todavia, a escolha do material suporte deve beneficiar não apenas os grupos metanogênicos, pois a etapa de metanogênese é diretamente dependente das etapas anteriores de hidrólise e acidogênese.

As propriedades físico-químicas do meio suporte não devem ser tratadas como o único indicador de adesão das células microbianas. Outro aspecto relevante para subsidiar a escolha do meio suporte pode estar associado à carga natural das células microbianas anaeróbias. A dissociação de carboxila e ácido fosfórico na superfície celular microbiana confere um caráter de carga negativa (NOMURA, 2012; UMETSU et al., 2020), influenciando a adesão em superfícies com a mesma característica de carga. Assim, os aspectos intrínsecos envolvendo a adesão celular no material suporte devem ser considerados na escolha de meios condutores para o estabelecimento de sistemas metanogênicos baseados na DIET. A diversidade de

microbiomas em que o aumento da produção de CH_4 *via* DIET foi encontrado, indica que esse processo pode ser um diferencial na partida (*startup*) de reatores anaeróbios metanogênicos.

A influência do meio suporte para o estabelecimento de organismo DIETers difere das concepções e premissas levantadas até o momento nesta seção, pois há interação eletroquímica entre as fases biótica e abiótica. Portanto, para permitir uma compreensão abrangente das interações entre sistemas de biofilme anaeróbio e sistemas metanogênicos baseados na DIET, os efeitos da biomassa aderida usando ensaios em batelada requerem dois tipos de controles: 1) com material não condutor e 2) com biomassa suspensa. A aplicação dessas duas estratégias possibilita minimizar a comparação direta entre um sistema de biomassa aderida com um sistema de biomassa suspensa. Alguns estudos relataram a importância do uso de controle com material não condutor como forma de separar o processo DIET frente ao papel do biofilme. Zhao et al. (2017) realizaram um estudo em batelada mesofílico (37°) alimentado com butanol, suplementado com tecido de carbono condutor e controle com tecido de algodão não condutor. Os autores observaram a influência do biofilme DIET nas variações de pH, pressão parcial de H_2 e equilíbrio metabólico sintrófico entre a fase de acidogênese e a fase de metanogênese. Por outro lado, Dubé e Guiot. (2017) projetaram controles mais eficientes para a identificação do processo DIET frente ao biofilme, propondo sistemas anaeróbios mesofílicos (35°C) para avaliar a influência do biofilme poroso e condutivo do material durante a oxidação de produtos de fermentação primária na presença de três materiais diferentes: material condutor poroso (GAC), material altamente condutor não poroso (aço inoxidável) e controle com um material poroso não condutor (porcelana). Apesar da adsorção ser uma característica dos HPCM, esta variável deve ser analisada do ponto de vista de obstrução do acesso dos organismos ao substrato. Para isso, o balanço de massa pode ser uma ferramenta interessante.

Wang et al. (2020a) utilizaram ensaios mesofílico (35°C) em batelada modificados com sílica como controle não condutivo para avaliar a influência da magnetita no conteúdo de EPS durante a aplicação de doses inibitórias de amônia (estresse amoniacal). Notavelmente, os autores identificaram menor produção de CH_4 e maior conteúdo de EPS em ensaios com sílica do que em ensaios de magnetita sob estresse amoniacal, comprovando que esse estresse forçou a autoproteção do biofilme em meio não condutor e o estímulo sintrófico em meio

condutor. Assim, se a avaliação de sistemas metanogênicos baseados na DIET não distingue o efeito do biofilme, os impactos desse processo podem ser superestimados. Além disso, estudos detalhados ainda são necessários para revelar as estruturas biológicas e moléculas envolvidas no transporte de elétrons pelos processos anaeróbios baseados na DIET. Métodos de transcriptoma, metaproteômicos e isótopos marcados são ferramentas analíticas que podem ser potencialmente aplicadas para identificar vias metabólicas em sistemas metanogênicos baseados na DIET.

1.3.10 Os microrganismos capazes de DIET sob condição de estresse

Os sistemas metanogênicos baseados na DIET tendem a ter menor acréscimo na velocidade de produção de CH₄ em condição termofílica quando comparados à condição mesofílica (YAN et al., 2017; LIN et al., 2018, 2019; RYUE et al., 2019). De acordo com Ryue et al. (2019), sistemas anaeróbios termofílicos oferecem um efeito positivo na velocidade de hidrólise de substratos complexos. Como a hidrólise é muitas vezes a etapa limitante na fermentação de substratos complexos, isso diminui o efeito perceptível dos materiais condutores mediadores da DIET. Além disso, em condições termofílicas, *Methanosarcina* spp. tendem a ser mais abundantes que *Methanosaeta* spp. (DEMIREL; SCHERER, 2008), sendo este último gênero frequentemente relatado como contribuinte para o processo metanogênicos baseados na DIET (ROTARU et al., 2014; BAEK et al., 2017; WANG et al., 2018a). Além disso, é relatado que em condições termofílicas com baixa concentração de acetato e ausência de *Methanosaeta* spp., a oxidação sintrófica do acetato (do inglês: *syntrophic acetate oxidation* - SAO) é favorecida (KARAKASHEV et al., 2006). Provavelmente, nas condições específicas supracitadas, o acoplamento da SAO à DIET tende a beneficiar diretamente a redução do CO₂ a CH₄ por meio da metanogênese hidrogenotrófica. Isso se deve ao fato da oxidação do acetato por meio da DIET tornar esta reação termodinamicamente mais favorável do que a mesma reação por meio da IIET (reação R15; Tabela 1). Conforme mostrado na Tabela 1, a SAO sob dependência de IIET em condição mesofílica e termofílica segue um processo não espontâneo, ao contrário do mesmo processo sob dependência da DIET (Figura 3).

Recentemente, Wang et al. (2020b) indicaram que a SAO acoplado à redução de CO₂ é o caminho dominante em sistema metanogênico baseado na DIET operando com a adição de

material à base de ferro em condição termofílica. Outras evidências foram fornecidas por Shen et al. (2020), os quais apontaram que a adição de material à base de carbono em um sistema metanogênico alimentado com acetato foi responsável por acelerar a SAO em um reator descontínuo termofílico. Além disso, os autores observaram a mesma produção máxima de CH₄ para os ensaios com e sem material condutor, diferindo apenas pela *lag phase* mais curta encontrada no ensaio com material condutor. É importante ressaltar que Shen et al. (2020) utilizaram um lodo mesofílico sem adaptação para seus ensaios direto em condição termofílico, revelando uma possível vantagem no uso de materiais condutores para partida de reatores termofílicos metanogênicos sem inóculo adaptado.

Apenas algumas bactérias foram relatadas na literatura como capazes de realizar a SAO, sendo a maioria relacionada ao sintrofismo com archaea metanogênicas inibidas por amônia livre (NH₃) (MÜLLER et al., 2016; WESTERHOLM; DOLFING; SCHNÜRER, 2019; SHEN et al., 2020; YAN et al., 2020). Embora existam alguns estudos conflitantes sobre a maior sensibilidade entre metanogênicas hidrogenotróficas e acetoclásticas à toxicidade de NH₃, vários estudos convergem para identificar organismos acetoclásticos como os mais sensíveis a altos níveis de NH₃ (DEMIREL; SCHERER, 2008; DE VRIEZE et al., 2012; WESTERHOLM; DOLFING; SCHNÜRER, 2019). Isso justifica o fato da inibição por NH₃ impulsionar o aumento de microrganismos capazes de SAO.

Em linhas gerais, o processo de inibição por excesso de amônia se dá por meio da difusão da molécula de NH₃ na célula devido ao gradiente de concentração através da membrana plasmática do organismo (CAPSON-TOJO et al., 2020). Dentro da célula, a NH₃ compete por prótons (H⁺, K⁺, Na⁺ e Mg²⁺), desequilibra enzimas transportadoras de elétrons (NAD⁺) e acumula-se no meio intracelular na forma de amônio (NH₄⁺) (Yu et al 2021). Por sua vez, o acúmulo de NH₄⁺ afeta diretamente a bomba de prótons, a qual gasta ATP para manter o equilíbrio iônico intracelular. Dessa forma, a redução da atividade metanogênica resulta no acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV), ao passo que o declínio na atividade das bactérias fermentativas não ocorre na mesma proporção. Portanto, o processo de DA pode ser comprometido como um todo a longo prazo em virtude do acúmulo de ácidos e redução do pH. Tendo em vista que a inibição por NH₃ estimula as SAO, recentes estudos têm proposto a adição de materiais condutores como forma de potencializar a SAO por meio do processo de

DIET (CARBALLA; REGUEIRO; LEMA, 2015; MÜLLER et al., 2016; ZHUANG et al., 2018; CAPSON-TOJO et al., 2020; ZHANG et al., 2020a; WANG et al., 2022b). Essa estratégia possibilita a oxidação acetogênicas de AGV superiores, os quais rapidamente entram na via de SAO e são convertidos em CH₄ por meio da rota hidrogenotrófica. Essa sequência de acetogênese, SAO e metanogênese baseada em DIET amortece a queda do pH.

Recentemente, Wang et al. (2020a) operaram reatores em batelada suplementados com magnetita e alimentados com acetato, confirmando que a metanogênese acetoclástica tende a ser dominante sob baixo estresse de NH₃, enquanto a metanogênese hidrogenotrófica domina em altas concentrações de NH₃. Destaques semelhantes do estímulo sintrófico de magnetita em microbiomas anaeróbios sob estresse de NH₃ foram relatados por Lee et al. (2019) e Zhuang et al. (2018). Em linhas gerais, quando o acetato é o substrato principal em meio anaeróbio, a *via* acetoclástica tende a dominar independentemente do sistema metanogênico baseado na DIET, enquanto em condições de alto estresse inibitório a SAO tende a ser acelerada pelo processo DIET, permitindo maior disposição de elétrons para redução de CO₂ a CH₄.

Vale ressaltar que a concentração de NH₃ aumenta com o aumento da temperatura, afetando a inibição em reatores anaeróbios termofílicos (BI et al., 2019). No entanto, os reatores mesofílicos também são fortemente impactados por concentrações excessivas de NH₃ (ZHUANG et al., 2018; LEE et al., 2019). Zhuang et al. (2018), mostraram que em condição mesofílica a magnetita ajudou a controlar a inibição de NH₃, sugerindo o processo de DIET para acelerar a rota de SAO. Lee et al. (2019) comprovaram que a metanogênese é fortemente inibida em condição mesofílica na presença de NH₃ em excesso, revelando que a reversão da inibição só foi possível pela adição de magnetita como estimulante sintrófico. Os autores relataram, ainda, que o processo metanogênicos baseados na DIET em sintrofia com microrganismos capazes de SAO aumenta a capacidade de resistência a níveis mais altos de NH₃.

1.3.11 Influência da DIET no metabolismo das BRS

A DA de substratos ricos em sulfato estimula o crescimento de BRS, que são organismos capazes de reduzir as espécies de sulfato (SO₄⁻²) em sulfeto (HS⁻) (sulfetogênese). Dentro de sistemas anaeróbios, as BRS podem competir com organismos metanogênicos por

substratos comuns (Tabela 1), além de contribuir para o aumento da inibição microbiológica e para o aumento do teor de gás sulfeto de hidrogênio (H_2S), afetando o biogás de forma qualitativa e quantitativa (VISSER et al., 1993; MIZUNO; LI; NOIKE, 1998; CHEN et al., 2014). De acordo com Chen et al. (2014), várias vias bioquímicas anaeróbias são comprometidas em concentrações baixas de H_2S ($>50 \text{ mg-H}_2\text{S L}^{-1}$). Por isso, a razão DQO/SO_4^{2-} é adotada como parâmetro de controle em reatores metanogênicos, sob a concepção estequiométrica de que a razão DQO/SO_4^{2-} abaixo de 0,67 pode causar ruptura no processo metanogênico (VISSER et al., 1993; HU et al., 2015). Por outro lado, alguns estudos mostraram que a presença de materiais condutivos pode aliviar a redução de SO_4^{2-} e, em troca, acelerar o fluxo de elétrons para a via de redução de CO_2 em sistemas metanogênicos baseados em DIET (LI et al., 2017; JIN; ZHAO; ZHANG, 2019; LIU et al., 2019).

Li et al. (2017) foram os primeiros a descrever o comportamento da sulfetogênese no processo metanogênico baseado na DIET sob condição mesofílica em reatores descontínuos e contínuos suplementados com aço inoxidável e alimentados com uma razão DQO/SO_4^{2-} de 1,23. Para o sistema contínuo, os autores relataram que o desempenho do reator anaeróbio de manta de lodo de fluxo ascendente (do inglês: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB) comparado a um controle suplementado com material plástico revelou uma velocidade de produção de CH_4 maior na presença de material condutor (4,5 vezes do que o reator controle) acompanhado por uma remoção de SO_4^{2-} mais lenta ($\sim 9,4\%$ menos que o controle). Para os sistemas em modo batelada, diferentes dosagens de aço inoxidável foram aplicadas, revelando um aumento percentual na produção de CH_4 para doses de 0,2 g (7,5%), 0,5 g (24,5%) e 0,8 g (10,8%) em relação ao controle com biomassa dispersa. Além disso, foi revelado, no ensaio em batelada, que houve uma menor redução de SO_4^{2-} com o aumento das doses de aço inoxidável. Ao considerar esses dois experimentos, Li et al. (2017) concluíram que a adição de aço inoxidável retarda a produção de H_2S , sugerindo que o processo metanogênico baseado na DIET potencializa o fluxo de elétrons para metanogênese em vez de sulfetogênese.

Liu et al. (2019) avaliaram a influência da magnetita na sulfetogênese durante a operação de quatro reatores mesofílicos anaeróbios operados em batelada sequenciais (do inglês: *anaerobic sequencing batch reactor* - ASBR), alimentados com uma razão DQO/SO_4^{2-} de 6,0. Os autores concluíram que o fornecimento de magnetita enriqueceu o sistema

metanogênico baseado na DIET, fortalecendo o desempenho metanogênico em um ambiente contendo SO_4^{-2} , semelhante a um ambiente livre de SO_4^{-2} . Liu et al. (2019) também enfatizaram a possibilidade do teor de ferro da magnetita controlar a formação de H_2S . Aliado à esta última observação, Jung; Baek; Lee, (2020) operaram um reator de mistura contínuo (do inglês: *continuously stirred tank reactor* – CSTR) mesofílico alimentado com uma mistura de soro de queijo e microalgas trituradas com adição contínua de nano-magnetita para avaliar a influência da reação de SO_4^{-2} com o ferro. Os autores observaram uma estreita relação entre o aumento da concentração de enxofre elementar (S^0) e o aumento da dose de magnetita, sem a presença de precipitado de sulfeto de ferro (FeS), sugerindo que o SO_4^{-2} é primeiro reduzido a H_2S e depois oxidado biologicamente a S^0 . Assim, com o aumento da dose de magnetita, a velocidade de produção de H_2S diminuiu, indicando que a magnetita afetou diretamente a produção de H_2S , e não a produção de CH_4 . Esses achados apontam para uma suposta redução bioquímica concomitante de CO_2 em CH_4 e SO_4^{-2} em H_2S acoplado à oxidação de HS^- em S^0 . Os autores propuseram, pela primeira vez, uma associação eletrossintrófica que permite a oxidação de HS^- a S^0 em linha com a *via* hidrogenotrófica. Por fim, todos os achados anteriores apontam para uma redução bioquímica na sulfetogênese em reatores anaeróbios suplementados com materiais metálicos, aumentando a qualidade do biogás, reduzindo o potencial inibitório e diminuindo os custos de tratamento.

1.4 Reatores contínuos de alta taxa e as potencialidades da DIET

Atualmente, existem diferentes configurações de reatores contínuos propostos para o tratamento anaeróbio de substratos e resíduos orgânicos. Contudo, há relatos na literatura que os primeiros registros da aplicação desses sistemas biológicos foram propostos por volta de 1920 após os avanços dos estudos sobre os processos redox em microbiomas anaeróbios (BUSWELL; MUELLER, 1952; MCCARTY; SMITH, 1986). Estes estudos permitiram compreender que a DA poderia ser acelerada a partir do controle de variáveis operacionais em unidades biológicas com grande quantidade de biomassa ativa (VAN LIER et al., 2015, 2016). Entre os anos de 1920 a 1960, o CSTR foi o tipo de reator anaeróbio mais utilizado para o tratamento de águas residuárias (VAN LIER et al., 2016). Apesar do CSTR manter conteúdo de biomassa elevado em seu interior, este reator suporta COV muito baixa (baixa taxa), pois o tempo de retenção celular (TRC) é diretamente atrelado ao TDH. Por tal razão,

os CSTR demandam grandes volumes para garantir o tratamento da matéria orgânica biodegradável (LEITÃO et al., 2006). Entretanto, maiores avanços se deram com o surgimento dos sistemas de alta taxa, os quais, na maioria dos casos, utilizam-se do conceito de biomassa aderida ou auto aderida como estratégia biotecnológica para aumentar o TRC (SPEECE; MCCARTY, 1964; SUIDAN et al., 1994; SHOW; TAY, 1999). A aplicação deste conceito permitiu desvincular o TRC do TDH, possibilitando a manutenção de grandes quantidades de microrganismo, o processamento de grandes COV, e o requerimento de menores áreas para a construção (VOROBYOVA, 2022). No final do século XX, Weiland e Rozzi, (1991) forneceram um estudo que comparava as variáveis operacionais dos principais reatores de alta taxa desenvolvidos e aplicados em escala real até aquela época. Neste estudo, os autores compararam as variáveis operacionais de três configurações de reatores, o UASB, o reator de leito granular expandido (do inglês: *expanded granular sludge bed* - EGSB) e o filtro anaeróbio (FA), destacando a alta capacidade de remoção de DQO como variável comum entre os três tipos de reatores. Em síntese, as potencialidades dos reatores anaeróbios de alta taxa como FA, UASB e EGSB são intensamente estudadas como forma de melhorar o tratamento de águas residuárias (TAUSEEF; ABBASI; ABBASI, 2013).

O reator do tipo filtro anaeróbio (FA) foi um dos precursores para a consolidação do conceito de retenção de biomassa, formação do biofilme e aumento do TRC em sistemas biológicos anaeróbios destinados ao tratamento de águas residuárias (MCCARTY; SMITH, 1986; ESCUDIÉ et al., 2011; KARADAG et al., 2015). Neste tipo de reator, os microrganismos se desenvolvem aderidos à superfície inerte de um meio suporte disposto no interior da unidade reacional, evitando a perda de biomassa ativa pela saída efluente (PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991). No entanto, estes sistemas podem ter sua operação comprometida em virtude do desenvolvimento de caminhos preferencias ou entupimentos por excesso de biomassa aderida (RAJESHWARI et al., 2000). Para evitar tais problemas, alguns estudos evoluíram para o desenvolvimento de sistemas reacionais com leito estruturado ou reatores de membranas (HENZE et al., 2008; MOCKAITIS et al., 2012), os quais permitem uma melhor distribuição da biomassa, mantendo o princípio de meio suporte aderente como agregador de células ativas. O reator anaeróbio de leito estruturado (AnSTBR; do inglês: *Anaerobic Structured Bed Reactor*) representa um sistema anaeróbio de alta taxa intensamente estudado na atualidade. Este sistema será detalhado na seção 1.4.1.

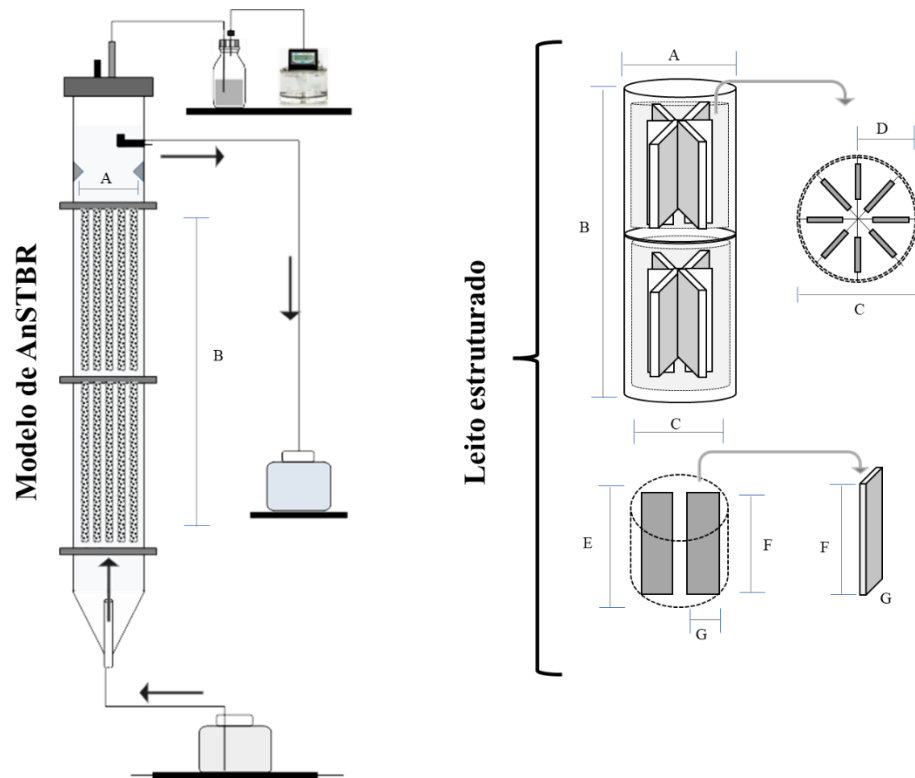
Em uma outra linha de desenho de reatores anaeróbios com controle do TRC estão os com biomassa auto aderida, ou seja, aqueles no qual dispensa a oferta de meios suportes inertes para a adesão microbiana. O reator do tipo UASB é o principal exemplo desse tipo de unidade de tratamento, o qual é capaz de manter concentrações elevadas de biomassa ativa dentro da unidade reacional a partir da granulação das populações microbianas, garantindo manutenção da biomassa (LETTINGA et al., 1980; LETTINGA, 1995). A concepção do reator UASB foi descrita por Lettinga et al. (1980), sendo uma das tecnologias de tratamento anaeróbio de maior amplitude de desenvolvimento em todo o mundo (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). Maiores detalhes sobre as variáveis operacionais dos reatores UASB serão descritas na seção 1.4.2.

De forma resumida, Chong et al. (2012) apontaram as seis principais vantagens dos reatores de alta taxa: 1) alta eficiência de processamento de COV em diferentes temperaturas, 2) flexibilidade quanto o dimensionamento do reator, 3) baixo requisito de espaço em virtude de altas COV aplicadas, 4) baixo consumo de energia quando há o reaproveitamento do biogás, 5) baixa produção de lodo comparado aos sistemas de tratamento aeróbios e 6) baixo requerimento nutricional a depender do tipo de substrato.

1.4.1 AnSTBR

A concepção dos reatores de leito estruturado surgiu como uma abordagem tecnológica capaz de combinar o crescimento de células imobilizadas com o fornecimento de altos volumes operacionais em comparação com os FA de leito empacotado (MOCKAITIS et al., 2012; MOURA; DAMIANOVIC; FORESTI, 2012). A maior vantagem do AnSTBR é a simplicidade de construção (Figura 5), a qual melhora a estabilidade no processamento do material orgânico, além de suportar COV elevada (DE AQUINO; FUESS; PIRES, 2017).

Figura 5 - Esquema simplificado de um sistema do tipo AnSTBR, demonstrando o escoamento ascendente (seta preta), o leito estruturado (B) e o sistemas de medição de biogás (seta cinza).



Fonte: O autor

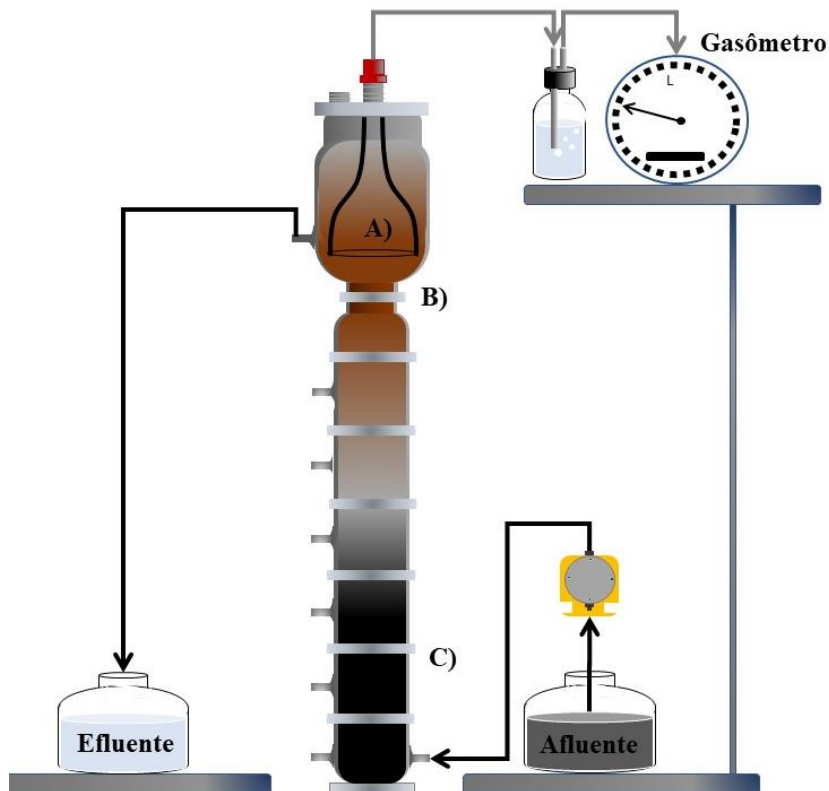
A maioria dos estudos com os reatores de leito estruturados de escoamento ascendente foi desenvolvido por pesquisadores brasileiros, os quais relatam alta eficiência deste sistema para situações distintas, como: produção de hidrogênio (ANZOLA-ROJAS et al., 2015), remoção de nutrientes (MOURA; DAMIANOVIC; FORESTI, 2012), remoção de sulfato (KIYUNA; FUESS; ZAIAT, 2017), produção de ácidos acoplados à produção de hidrogênio (FUESS et al., 2018), e produção de CH_4 (FUESS et al., 2021a).

1.4.2 UASB

A formação de um agregado auto aderido granular anaeróbio é a condição necessária para o bom funcionamento de um reator UASB (RAJESHWARI et al., 2000). Ou seja, a eficiência do reator UASB depende, principalmente, da concentração de biomassa granular

ativa. Por sua vez, a granulação do lodo a ser desenvolvida no fundo e no leito do reator está ligada às condições específicas de COV, controle do teor de sólidos suspensos (SS), nutrição e estabilidade operacional (CHERNICHARO, 2007). Para manter o leito granular suspenso dentro do reator, a velocidade superficial ascensional deve estar abaixo de um limite mínimo de aproximadamente 1 m h^{-1} (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). Em resumo, um reator UASB consiste estruturalmente de um separador trifásico (gás-líquido-sólido), uma entrada afluyente, uma saída efluente e uma saída de gás (Figura 6). De acordo com Lettinga et al. (1980), o separador de sólidos-gás-líquido constitui um componente essencial de um reator UASB. Ainda sobre as peculiaridades estruturais de um reator UASB, Lettinga, (1995) relatou que a lavagem de partículas flutuantes de lodo pode ser recuperada a partir da adoção de defletores, os quais auxiliam o retorno do lodo ao meio reacional.

Figura 6 - Esquema simplificado de um reator UASB, demonstrando o escoamento ascendente (seta preta), o separador trifásico (A), o defletor (B), manta de lodo (C) e o sistemas de medição de biogás (seta cinza).



Fonte: o autor.

A aplicação de reatores UASB é assunto discutido em uma série de estudos de revisão de literatura publicados na atualidade (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020; MOHAN; SWATHI, 2021; NGWENYA; GASZYNSKI; IKUMI, 2022). Isso se deve ao fato desse tipo de reator ser o mais aplicado em escala real para o controle de poluentes diversos em todo o mundo. Entretanto, Chong et al. (2012) apontam alguns desafios operacionais dos reatores UASB, os quais estão em avanço, como: o *startup* suscetível à choque de COV, a dificuldade de controlar as expansões do leito granular, a limitação da COV em virtude do tipo de substrato (altas concentrações de SV), a má formação do grânulo que acarreta em flotação e lavagem, o desempenho baixo em temperaturas baixas, a não remoção de patógenos, a sensibilidade às concentrações elevadas de sulfato e amônia e a necessidade de pós-tratamento.

1.4.3 Reatores contínuos metanogênico baseado em DIET

A primeira investigação do processo metanogênico baseado na DIET em reatores contínuos de alta taxa foi conduzida por Morita et al. (2011), em que os autores identificaram que os agregados microbianos em um reator UASB tratando efluente de cervejaria foram responsáveis por acelerar a oxidação sintrófica do etanol. Após esta contribuição, vários outros estudos foram desenvolvidos com foco na adição de materiais condutores em sistemas metanogênicos contínuos. Zhao et al. (2015) compararam três materiais condutores à base de carbono (biochar, grafite e tecido de carbono) em reatores UASB mesofílicos idênticos (37 °C) alimentados com etanol sob tempo de detenção hidráulica (TDH) decrescente de 1 d para 0,6 d e revelaram três contribuições: 1ª) todos os materiais melhoraram o processo metanogênico baseado na DIET, de modo que a diferença na produção de CH₄ entre o reator de controle e o reator com material condutor aumentou com a diminuição do TDH; 2ª) o tecido de carbono foi o mais eficiente no processo metanogênico baseado na DIET devido ao potencial benefício da retenção de biomassa, e 3ª) o BC pode favorecer um escalonamento mais barato de biorreatores devido ao seu preço acessível comparado aos outros materiais utilizados no estudo. Por fim, Lee; Lee; Park, (2016) operaram um reator de fluxo contínuo suplementado com 1% (v/v) de GAC alimentado com acetato em condições mesofílicas (35°C), mostrando um aumento da velocidade de produção de CH₄ de 1,8 vez em comparação com o reator idêntico sem material condutor.

O escalonamento para reatores contínuos alterados com materiais condutores não se limita à avaliação da metanogênese a partir de substratos simples. Ambuchi et al. (2017) usaram um reator EGSB alterado com nanotubos de carbono de parede múltipla e nanopartículas de óxido de ferro para tratar águas residuárias da produção de açúcar de beterraba sob condição mesofílica (36 °C) com TDH diminuindo de 2 d para 0,5 d. Os autores concluíram que a DIET aumentou as relações sintróficas em TDH mais baixos e aumentou a tratabilidade de um efluente rico em carboidratos. Contudo, os autores levantaram a possibilidade de que ambas as nanopartículas ofereceram toxicidade aos organismos metanogênicos com um aumento contínuo da dose. Wang et al. (2018a) aplicaram três dosagens fixas de magnetita (0,2, 0,4 e 0,6 g) a um experimento semi-contínuo para tratar resíduos sintéticos de petróleo e revelaram que a presença do material condutor recuperou mais alcalinidade do que o controle sem magnetita. Os autores levantaram a hipótese de que a dosagem excessiva (0,6 g) causaria efeito inibitório apenas na metanogênese, mostrando a necessidade de estudar o efeito da dose de materiais condutores em sistemas metanogênicos baseados em DIET.

Ma et al. (2021a) relataram a possibilidade de aumentar a carga orgânica volumétrica (COV) de 1,6 para 25,6 kg-DQO m⁻³ d⁻¹ em reator UASB alimentado com efluente sintético (baseado em glicose e acetato) a partir da suplementação com magnetita. Os autores relataram, também, que a suplementação de magnetita aumentou a conversão de AGVs, acarretando aumento no rendimento de CH₄ de 7–483%. Lei et al. (2019) afirmaram que a suplementação de GAC em um reator UASB mesofílico (33 °C) sob redução de TDH de 9,3 para 1,4 d (aumentando a COV de 5,9 para 36,7 g-DQO L⁻¹ d⁻¹), mostrou-se eficiente no tratamento de lixiviados de incineração, apresentando resistência biológica aos inibidores presentes no substrato. A partir destes resultados, os autores demonstram que a adição de GAC pode tratar o lixiviado da incineração bruta sob alta carga orgânica devido ao enriquecimento de microrganismos DIETers. Em outro estudo, Zhao et al. (2020) revelaram uma estreita afinidade dos microrganismos DIETers com substratos ricos em etanol. Essa hipótese também foi levantada por alguns estudos que propuseram a co-digestão de substratos complexos suplementados com etanol em reatores contínuos (LI et al., 2020; WANG et al., 2020b). De acordo com os dois trabalhos citados anteriormente, a suplementação de etanol

potencializa os mecanismos eletroquímicos em microbiomas anaeróbios, apoiando o processo metanogênico de forma mais robusta em reatores contínuos.

Apesar dos sistemas do tipo CSTR não se enquadrarem como reatores de alta taxa, Johnravindar et al. (2022) revelaram alta capacidade de remoção de DQO destes sistemas em função da presença de BC como propulsor do mecanismo de DIET durante a co-digestão de resíduos de frutas e verduras (do inglês: *fruit and vegetable waste* - FVW) com lodo de esgoto. Na mesma linha de potencializar reatores com o uso do conceito de DIET, Kim et al. (2022) investigaram os efeitos da adição de micropartículas de magnetita no desempenho metanogênico de reatores UASB alimentados com soro de leite e inoculados com lodo floculento. Os autores relataram aumento de até 1,3 vez da produtividade de CH₄, além do desenvolvimento de DIETers dependentes da presença de magnetita. Investigações sobre as potencialidades da DIET foram conduzidas por Zhang et al. (2023), os quais identificaram que a presença de GAC estimulou a secreção de compostos extracelulares (aminoácidos, vitaminas e transportadores de elétrons) que auxiliam a remoção de DQO e a produção de CH₄. Além disso, os autores reforçaram que a presença destas substâncias extracelulares auxiliou o pós-tratamento anaeróbio do efluente de reatores modificados com materiais condutores, levantando evidências sobre o papel da DIET permanecer independente da presença do meio condutor.

Assim, todos os aspectos discutidos nesta seção mostram as oportunidades para a aplicação do processo metanogênico baseado na DIET a outros resíduos produzidos em larga escala e ricos em material carbonáceo. As premissas levantadas até este momento abrem oportunidades para a aplicação do conceito da DIET a reatores contínuos alimentados com resíduos do setor agropecuário, uma das atividades antrópicas que mais gera resíduos e subprodutos em todo o mundo.

1.5 Resíduos alimentares e as possibilidades da DA baseada na DIET

A poluição de ambientes naturais decorrentes das atividades antrópicas é um dos maiores desafios sociais, econômicos e ecológicos da sociedade moderna (FULLER et al., 2022). Além do mais, o aumento da produção de alimentos e a busca por segurança energética, estimulada pelo crescimento populacional, são os principais motores para a

geração de resíduos potencialmente danosos ao meio ambiente (HILOIDHARI et al., 2019). Por exemplo, o setor agroindustrial, vem crescendo de forma acelerada para atender a demanda de produtos e itens alimentícios para a população. Porém, paralelo à geração de alimentos, tem-se a geração de resíduos atrelado à toda cadeia produtiva (AL-OBADI et al., 2022). Segundo Yaashikaa; Senthil Kumar e Varjani, (2022), os resíduos agroindustriais são todos aqueles materiais obtidos como secundários nas áreas agrícolas, industriais, transporte e comércio que estão relacionadas aos processos produtivos e às cadeias produtivas. De acordo com a FAO (do inglês: *Food and Agriculture Organization of the United Nations* - FAO), aproximadamente um terço de todos os alimentos é perdido ou desperdiçado ao longo das cadeias produtivas em todo o mundo (OECD/FAO, 2022). A estimativa de desperdício de alimentos pode chegar a uma geração anual de aproximadamente 931 milhões de toneladas (FORBES et al., 2021).

Além dos problemas ambientais associados à má gestão dos produtos alimentícios no mundo, outros aspectos podem ser atrelados à geração elevada de resíduos, como: desperdício de energia, desperdício nutricional, perda da segurança alimentar e aumento de crises de fome em países subdesenvolvidos (HENZ; PORPINO, 2017; KASZA et al., 2019; TOMA et al., 2020; VÁZQUEZ-ROWE et al., 2020). Uma série de estudos definem a perda e/ou desperdício de alimentos (do inglês: *food waste* - FW) como sendo todos aqueles materiais não utilizados ao longo de todo ciclo de vida dos alimentos (BAIANO, 2014; XU et al., 2018; NAYAK; BHUSHAN, 2019; CHAVAN et al., 2022). A definição de FW engloba uma série de grupos e categorias de resíduos de acordo com a sua origem (KIBLER et al., 2018). Baiano (2014) estimou que, do total de FW gerados no mundo, aproximadamente 26% são gerados na indústria de bebidas, 21% na indústria de laticínios e 14,8% na produção e processamento de frutas/verduras/hortaliças. Os FVW oferecem maior desafio de gerencialmente e controle em virtude da contribuição difusa ao longo da cadeia produtiva. Alguns autores relatam que dentro da cadeia difusa de geração de FVW, os maiores contribuintes são os supermercados, os restaurantes e os mercados atacadistas (AKKAŞ; GAUR, 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2022).

1.5.1 Resíduos de frutas e verduras

Frutas, vegetais e hortaliças são produtos agrícolas altamente perecíveis, causando altos níveis de perda e/ou desperdício em todas as etapas da cadeia produtiva, começando nas áreas cultivadas e se estendendo até o consumidor final. Pensando nisso, a Organização das Nações Unidas (ONU; do inglês: *United Nations* - ONU) declarou o ano de 2021 como o Ano Internacional de Frutas e Legumes, objetivando duas linhas de ações: 1) conscientizar a população mundial quanto aos benefícios do consumo destes itens alimentares e, 2) direcionar a atenção de políticas públicas para redução dos FVW (FAO, 2020).

Os FVW podem ser classificados como todos aqueles materiais oriundos de frutas, verduras e hortaliças que apresentam perdas no campo, no traslado, no consumo ou após a vida útil do produto. Recentes estudos apontam que os maiores volumes de FVW são gerados nos seguintes seguimentos: triagem nas áreas produtivas, transporte terrestre, centrais de distribuição, mercados atacadistas, supermercados, residências particulares e restaurantes (ABADI; MAHDAVIAN; FATTAHI, 2021; AKKAŞ; GAUR, 2022). Os FVW representam uma parcela significativa do total de resíduos agroindustriais gerados no mundo (BRAGUGLIA et al., 2018; MOZHIARASI, 2022). Contudo, o dimensionamento da quantidade de produção mundial ainda enfrenta dificuldades, pois a difusão de geração ainda carece de controle. Em um artigo de revisão, Hoehn et al. (2023) propuseram identificar metodologias de quantificação de FW, incluindo as dificuldades de triagem dos FVW. O objetivo dos autores foi esclarecer a necessidade de desenvolver caminhos alternativos para o desperdício de alimentos no mundo, reduzindo a geração por meio de políticas públicas que potencializem os meios de reaproveitamento. Os países com maior poder agrícola são foco de estudos de mitigação dos FVW. Por exemplo, Silva Junior et al. (2022) produziram um estudo quali-quantitativo da quantidade de FVW gerados em uma central de abastecimento situada no nordeste brasileiro. Os autores apontaram as seguintes observações acerca da situação do controle dos FVW no estudo de caso: a inexistência de tratamento adequado gera perda monetária, o encaminhamento a aterros sanitários diminui a vida útil da unidade e que a quantidade gerada pode beneficiar, em parte, a autossuficiência energética da central de abastecimento.

O Brasil, é um dos maiores produtores agroindustriais do mundo (FORBES et al., 2021; OECD/FAO, 2022), tendo sua base produtiva baseada no cultivo de diferentes tipos de frutas, hortaliças, grãos e verduras distribuídas nas variadas regiões geográficas. De acordo com dados da FAOSTAT (OEACD/FAC, 2022), entre os anos de 2020 e 2021 foram produzidas mais de 2000 milhões de toneladas de frutas e legumes em todo o mundo, das quais mais de 40% corresponderam à contribuição do Brasil. O protagonismo de produção de alimentos do Brasil também o destaca como um dos maiores geradores de resíduos orgânicos atrelados às cadeias de produção de alimentos no mundo. No Brasil, a má gestão dos FVW tem despertado atenção de pesquisas, pois o não reaproveitamento destes resíduos acarretam em problemas sanitários, além da perda de recurso financeiro e energético (EDWIGES et al., 2018b; DE AMARANTE et al., 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2022). Alguns estudos de casos realizados no Brasil, apontaram os aspectos regionais de gestão comercial, prazo de validade e logística de transporte como os principais fatores para a geração de grandes volumes anuais de FVW (DE BRITO NOGUEIRA et al., 2020; DE MORAES et al., 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2022; KOMESU et al., 2023). Os FVW representam um problema ambiental que precisa ser mitigado por meio de alternativas potencialmente atrativas, as quais evitem a geração difusa e a destinação inadequada (O'CONNOR et al., 2022), principalmente nos grandes centros geradores de FVW.

A destinação de grandes quantidades de FVW tem causado significativa poluição ambiental, além de custos financeiros em todo o mundo (XU et al., 2018). Por isso, muitos estudos têm avaliado o reaproveitamento de FVW como forma de agregar valor ao um resíduo rico em minerais e energia (CHAVAN et al., 2022; O'CONNOR et al., 2022; WANG et al., 2023). Em comparação com os métodos tradicionais de eliminação (aterros sanitários ou incineração), a compostagem e a digestão anaeróbia (AD) têm se apresentado como alternativas tecnologia de baixo custo operacional com prognóstico de valoração elevado (MAGAMA; CHIYANZU; MULOPO, 2022).

1.5.2 Desafios do gerenciamento de resíduos de frutas e verduras

Apesar dos FVW apresentarem composição variada (em virtude da origem), estes são comumente enquadrados como altamente biodegradáveis devido ao teor elevado de água e de matéria orgânica. Por exemplo, Magama, Chiyanzu e Mulopo, (2022) apresentaram um estudo

de revisão cruzando dados da literatura que apontam características relevantes sobre a composição de FVW, como teor de umidade acima de 80% e conteúdo de carboidratos acima de 70% (em relação à massa seca). Ou seja, se inclusos em processos biotecnológicos, os FVW são potencialmente promissores à geração de produtos com valor agregado (GANESH; SRIDHAR; VISHALI, 2022). As destinações biotecnológicas mais atrativas para os FVW demandam a praticidade operacional e o baixo custo de implantação, sendo estes os aspectos das técnicas de compostagem e de DA (ESPARZA et al., 2020; GANESH; SRIDHAR; VISHALI, 2022).

A compostagem é um processo no qual o material orgânico é depositado em unidades de decomposição aeróbia controlada, gerando um biocomposto com valor mineral para a agricultura. De acordo com Kibler et al. (2018), o processo de compostagem de FW requer o controle da umidade, acarretando em um consumo de água que pode ser considerado um ponto negativo do processo. Além disso, o gasto energético com a mecanização para o revolvimento das pilhas de compostos adiciona outro ponto negativo deste bioprocessos. Por outro lado, o FVW contém uma grande quantidade de carbono biodegradável com alto potencial para gerar energia por meio da DA (BYUN; HAN, 2021; AGRAWAL; CHAUDHARI; GHOSH, 2022). Resíduos de alimentos oriundos do setor agropecuário são precursores potenciais para a produção de biogás em diferentes tipos de reatores anaeróbios (LUO et al., 2022).

Os CSTRs são frequentemente usados para processar FVW, pois estas unidades podem lidar com resíduos ricos em sólidos orgânicos (OSRW; do inglês: *organic solids rich waste*) em seu estado natural ou após serem moídos (FAGBOHUNGBE et al., 2015). No entanto, os CSTRs são reatores de baixa taxa, ou seja, operados em COV de no máximo $4 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, demandando grandes volumes de reator para garantir uma conversão razoável de matéria orgânica em biogás (relatado na seção 1.4) (HOLL et al., 2022). Por outro lado, os reatores de alta taxa podem ser aplicados à metanização de FVW; desde que alguma técnica de pré-tratamento seja adotada para que a operação atenda às COVs mais elevadas. A necessidade de um pré-tratamento decorre do teor elevado de particulados e sólidos total (ST) presentes nos FVWs, que pode limitar sua monodigestão em reatores de alta taxa (PALMOWSKI; MÜLLER, 2000).

Mozhiarasi (2022) fez um levantamento das principais técnicas de pré-tratamento aplicados para a redução do teor de particulados em diferentes resíduos ricos em sólidos orgânicos (do inglês: *organic solid-rich waste* – OSRWs), incluindo os FVW. Os autores focaram, principalmente, nas técnicas de pré-tratamento mecanizado que buscaram a separação da fase líquida da fase sólida. Os principais pré-tratamentos aplicados aos OSRWs relatados em estudos recentes, são: hidrólise (ácida ou enzimática) (LIANG et al., 2021), pulverização (JIANG et al., 2022), ultrassonicação (MD-SABIANI et al., 2022), maceração (HARTMANN; ANGELIDAKI; AHRING, 2000) e centrifugação (ROMERO et al., 2020). Romero et al. (2020) revelaram que a pré-centrifugação de dejetos suínos produziu uma fração líquida com baixo teor de sólidos (TS < 8%) e alto potencial de biometano em ensaios em batelada, indicando uma premissa de capacidade elevada de degradação do substrato em reatores anaeróbios de alta taxa. Diante do sucesso do pré-tratamento mecânico adotado para a digestão de diferentes OSRWs (MOZHIARASI, 2022), a separação da fração líquida de FVW surge como uma estratégia atraente para potencializar a produção de CH₄ em reatores anaeróbios contínuos de alta taxa.

Segundo Mainardis et al. (2020), os reatores UASB têm capacidade elevada de produzir CH₄ a partir de resíduos líquidos ricos em matéria orgânica. A operação adequada dos reatores UASB depende de variáveis operacionais cruciais, incluindo o tempo de retenção hidráulica (HRT), a COV, a temperatura e a identificação da atividade metanogênica do inóculo (MAGDALENA; GRESES; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, 2020; MALINOWSKY et al., 2021). Apesar da robustez e versatilidade de um reator UASB na digestão de diversos tipos de efluentes líquidos (LEITÃO et al., 2006), este requer uma estratégia de inicialização adequada para substratos complexos desconhecidos (MALINOWSKY et al., al., 2021; MD-SABIANI et al., 2022). Neste sentido, Mohan e Swathi (2021) apontaram que a atividade metanogênica específica máxima (do inglês: *specific methanogenic activity* - SMA) da fonte de inóculo pode ser usada para garantir uma *startup* segura de reatores UASB alimentados com substratos complexos.

De acordo com Mozhiarasi (2022), a possibilidade de gerar uma fração líquida pode garantir a aplicação de FVW em reatores de alta taxa. No entanto, a fração líquida do FVW (FVW_L) é um substrato não especificado na literatura, exigindo um exame cuidadoso do potencial de produção de CH₄ que este resíduo pode fornecer em um reator de alta taxa. As

principais limitações operacionais descritas em estudos com biorreatores de alta taxa alimentados com FVW são: resistência à acidez, alto teor de sólidos totais e equilíbrio nutricional (JI et al., 2017; ESPARZA et al., 2020; AGRAWAL; CHAUDHARI; GHOSH, 2022). Em geral, quase todos os limites operacionais atrelados ao FVW como único substrato podem ser revertidos com o uso de meios condutores, os quais são relatados como maiores aceleradores do processo metanogênico (MARTINS et al., 2018; LEE; LEE, 2019; LU; CHANG; LEE, 2020; KUTLAR; TUNCA; YILMAZEL, 2022; WU et al., 2023).

O mecanismo DIET atrelado à DA de FVW é relatado em diversos estudos de co-digestão. Por exemplo, Ma et al. (2020) utilizaram GAC para estimular o desenvolvimento de DIETers durante a co-digestão de FW com FVW, observando um acréscimo na produção de CH₄ em virtude do sintrofismo que rapidamente reduziu do conteúdo de ácidos acumulados. Por outro lado, Li et al. (2021) revelaram que a co-digestão tripla de resíduo sólido municipal, resíduo de cozinha e FVW é potencializada na presença de magnetita. Os autores ressaltaram que a magnetita acelerou a degradação de AGV, resultando em um rendimento de CH₄ de aproximadamente 32% maior que o controle. Quanto à interferência de ST, Wang et al. (2020e) mudou a proporção de substrato e inóculo para aumentar o teor sólido de 10 a 20% durante a co-digestão anaeróbia de dois OSRWs, confirmando que o rendimento de CH₄ diminui com o aumento do conteúdo de TS. Xu et al. (2022) utilizaram co-digestão dos mesmos OSWW avaliados por Wang et al. (2020e) e revelaram que a adição de BC permitiu manter a estabilidade da DA sob concentração de sólidos crescente, até 15%. Dastyar et al. (2021) analisaram o potencial de GAC em pó na DA da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos ricos em ST, verificando que após um mês de operação, o rendimento de CH₄ foi 17% maior que o do reator controle. Acredita-se que a não uniformidade e o baixo controle dos FVWs cause uma quantificação reduzida em relação ao total de resíduo gerados, forçando a sua aplicação como suplemento em modelos de co-digestão com outros materiais de maior volume adquirido. Portanto, todas as contribuições relatadas anteriormente sobre as potencialidades do mecanismo de DIET aplicado a diferentes OSWRs, podem ser incorporados à monodigestão de FVW.

1.6 Conclusões parciais: hipótese e objetivos

Este capítulo de revisão procurou analisar os potenciais contribuições da literatura que elucidam o processo de DIET, identificando como os processos sintróficos avançados afetam a taxa de produção de CH_4 em reatores de alta taxa. Portanto, a finalização deste capítulo segue uma estrutura de formulação de hipóteses e objetivos a serem avaliados nos capítulos seguintes.

1.6.1 Hipóteses a serem testadas

A hipótese central deste trabalho é que a DIET oferece suporte para controlar as principais barreiras operacionais encontradas em reatores de alta taxa, como o aumento da velocidade de produção de CH_4 e o controle da sobrecarga, as quais são capazes de comprometer as vias bioquímicas centrais do processo. Para isso, cada capítulo desta tese foi separado com a finalidade avaliar as seguintes sub-hipóteses:

- A partida de sistemas do tipo AnSTBR (reator de biofilme) inoculados com baixo conteúdo de lodo e modificados com GAC acelera a estabilização aparente do processo metanogênico devido ao estímulo do desenvolvimento de DIETers (testada no capítulo 2);
- A sobrecarga orgânica em reatores UASB alimentados com FVW_L é dependente das características do substrato, a qual inviabiliza atingir COV superior a $10 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em função do teor elevado de SV (testada no capítulo 3).
- Ensaios em batelada oferecem suporte para a operação de reatores contínuos alimentados com substratos desconhecidos, como é o caso do FVW_L processado em reator UASB (testada no capítulo 3 e no capítulo 4).
- A adição controlada de GAC em reator UASB operado com FVW_L amortece o estresse metabólico em condições de sobrecarga orgânica (testada no capítulo 4).

1.6.2 Objetivos a serem avaliados

O objetivo central desta sessão de revisão foi investigar criticamente os achados científicos que norteiam as principais premissas em torno dos processos sintróficos avançados aplicados à metanogênese em reatores anaeróbios para construir os objetivos dos próximos

capítulos. Portanto, cada capítulo desta tese foi separado com a finalidade de detalhar os seguintes objetivos específicos:

- comparar o efeito de um leito condutor na partida de reatores AnSTBR inoculados com baixa concentração de lodo e alimentados com solução sintética de sacarose (avaliado no capítulo 2);
- avaliar o papel do meio condutor e de um meio não condutor na seleção de organismos eletroativos durante a operação de dois AnSTBR idênticos alimentados com solução sintética de sacarose (avaliado no capítulo 2);
- propor uma metodologia para a inicialização (partida) de reatores UASB alimentados com FVW utilizando dados de reatores em batelada (avaliado no capítulo 3);
- definir as variáveis operacionais durante a operação de dois reatores UASB idênticos alimentados com FVW_L (avaliado no capítulo 3).
- investigar os efeitos de diferentes doses de GAC em reatores metanogênicos em modo batelada alimentados com substrato complexo (avaliado no capítulo 4);
- investigar os efeitos da aplicação da dose ideal de GAC em reatores metanogênicos UASB sob limite de carregamento orgânico alimentado com FVW_L (avaliado no capítulo 4).

CAPÍTULO 2:

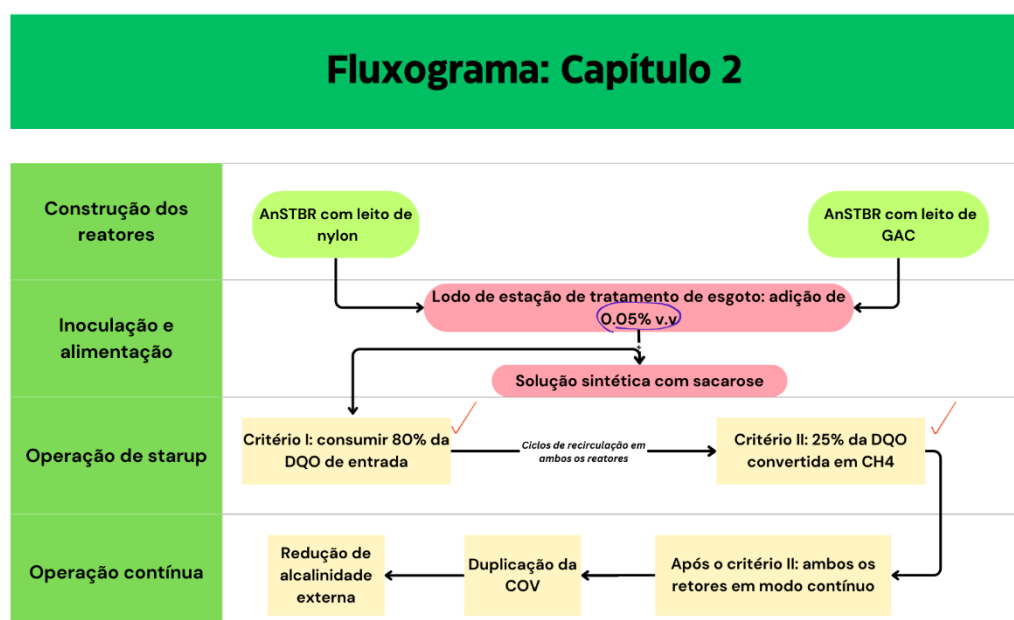
GAC COMO MEIO SUPORTE EM AnSTBR

2. CAPÍTULO 2: GAC COMO MEIO SUPORTE EM AnSTBR

2.1 Suporte científico e metodológico

Este capítulo fundamenta-se na hipótese de que os microrganismos promotores do processo de transferência direta de elétrons interespécies (DIETers) são estimulados na presença de carvão ativado granular (GAC) como meio suporte condutor. A identificação deste fenômeno fica evidente quando uma comunidade microbiana anaeróbia é submetida a estresses metabólicos, seja durante o período de partida com baixa concentração de inóculo ou durante a operação sob grandes acréscimos de carga orgânica volumétrica (COV). Portanto, o objetivo central desse capítulo é avaliar a aplicação de GAC como meio suporte estimulador do desenvolvimento de DIETers em reatores anaeróbios de leito estruturado (AnSTBR) sob condição de estresses operacionais. Para tal objetivo, os ensaios em AnSTBR foram conduzidos em caráter comparativo entre um leito condutor e um leito não condutor. A Figura 7 apresenta o fluxograma da operação dos reatores AnSTBR descrita neste capítulo.

Figura 7 - Fluxograma da operação dos reatores AnSTBR operados no capítulo 2 desta tese.



Fonte: o autor.

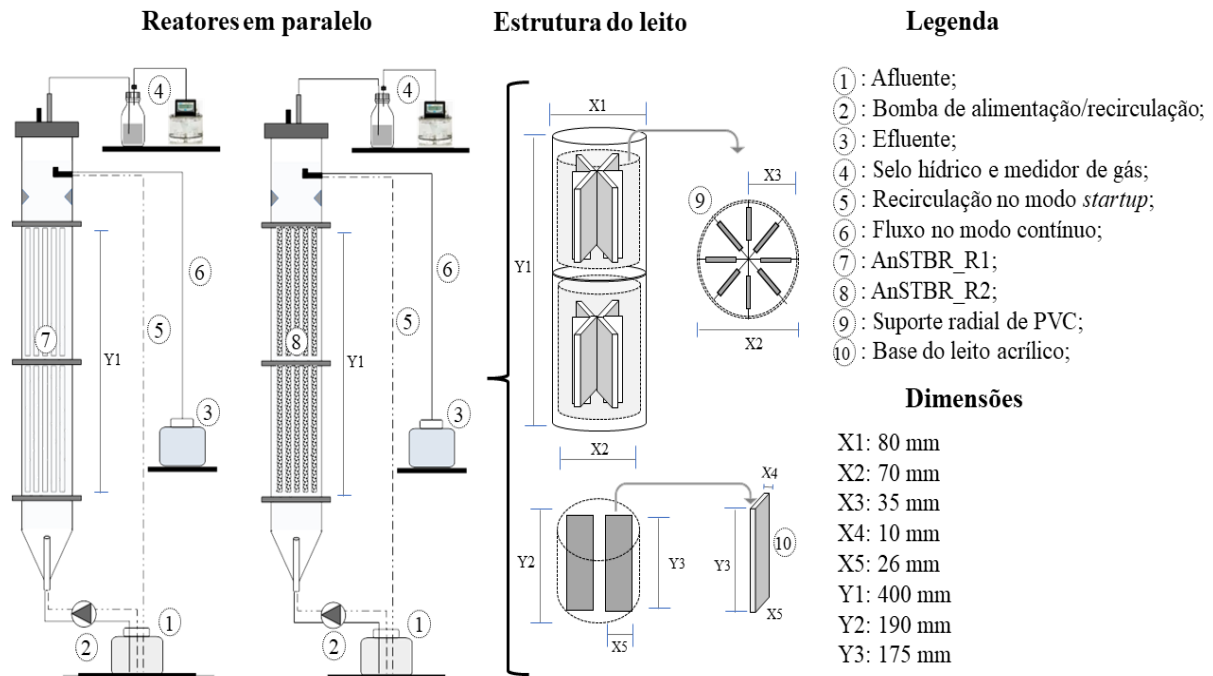
É importante salientar que a estrutura deste capítulo faz parte de um artigo que será submetido à publicação como o seguinte título: *Direct interspecies electron transfer stimulated in anaerobic structured-bed reactors under very low inoculum content.*

2.2 Material e métodos

2.2.1 Montagem dos reatores

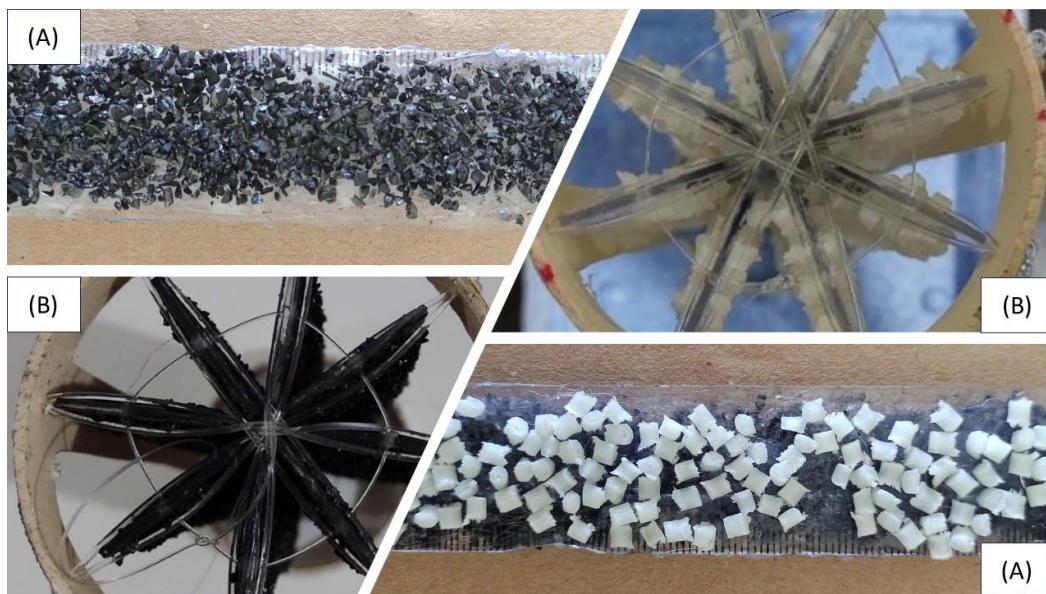
A Figura 8 detalha o arranjo e as características dos dois AnSTBR idênticos operados em paralelo para atender o objetivo específico II e III deste capítulo (seção 2.1). Ambos os reatores foram construídos em acrílico com volume reacional de 2,45 L. O reator AnSTBR (reator R1) foi construído com leito não condutor constituído por nylon, enquanto o reator AnSTBR (reator R2) foi construído com leito condutor constituído por GAC. Ambos os leitos foram estruturados e anexados em lâminas de resina acrílica distribuídas sob armação radial em cano de policloreto de vinila (PVC) (70 mm). No reator R1 foram anexados à base acrílica 210 g de grânulos de nylon com diâmetro de 1,1 - 2,4 mm e densidade média de $1,1 \text{ g cm}^{-3}$. No reator R2 foram anexados à base acrílica um total de 110 g de GAC com diâmetro de 1-2 mm e densidade média de $0,55 \text{ g.cm}^{-3}$. As imagens de todos os materiais utilizados para a montagem dos leitos de ambos os reatores estão na Figura 9. A operação dos reatores foi realizada nas dependências do Laboratório de Processos Biológicos da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – LPB/EESC/USP.

Figura 8 - Arranjo experimental desenvolvido para a operação dos reatores AnSTBR dimensionados para atender o objetivo específico II.



Fonte: o autor.

Figura 9 - Estrutura do leito em lâminas de acrílico (A) fixadas em formato radial (B) nos reatores AnSTBR.



Fonte: o autor.

2.2.2 Tipo de substrato e inóculo

Como inóculo foi utilizado lodo anaeróbio da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da cidade de São Carlos/SP (ETE-Monjolinho). Como substrato foi utilizada solução sintética constituída de sacarose comercial (açúcar demerara, Native), macronutrientes e micronutrientes. A formulação nutricional foi adaptada seguindo as recomendações de Ma et al. (2009) e Romero-Güiza et al. (2016), os quais definem a dose de nutriente em função da DQO afluente (mg.g-DQO^{-1}): NH_4Cl (300); KH_2PO_4 (150); K_2HPO_4 (110); $\text{MgCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (250); KCl (100); $\text{CaCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$ (200); $\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ (10); $\text{AlCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$ (2,01); ZnCl_2 (1,18); $\text{NiCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (1,15); $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}.4\text{H}_2\text{O}$ (2,22); $\text{CoCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (1,28); $\text{MnCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$ (1,61); $\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$ (2,22); H_3BO_3 (0,12); NaSeO_3 (0,89); NaHCO_3 (800) e extrato de levedura (50).

2.2.3 Critérios de operação dos AnSTBR

Ambos os reatores foram inoculados com 0,05% v/v como estratégia de pré-inoculação para identificar o estímulo do desenvolvimento de DIETers metanogênicos em função do tipo de leito presente em cada AnSTBR. A dosagem de bicarbonato de sódio como alcalinidade foi mantida na razão 1 g- NaHCO_3 g- DQO^{-1} até o fim da etapa de partida como estratégia de manutenção do pH na faixa de 7,4 a 6,8 durante o processo acelerado de fermentação primária do substrato. Os reatores foram alimentados em regime de recirculação (bateladas sequenciais) com vazão de alimentação fixa de 2,3 L d^{-1} e com solução sintética contendo 1,750 g- DQO.L^{-1} (massa de DQO igual a 10,5 g- DQO). Para iniciar um novo regime de batelada, foi adotado o critério I, o qual estabeleceu o consumo de 80% da DQO total adicionada (consumo maior que 8,4 g- DQO). O encerramento do período de *startup* se deu a partir da adoção do critério II, em que os reatores só entrariam em modo contínuo (regime permanente) quando a conversão de DQO em metano (CH_4) fosse superior a 25% da DQO de entrada. A adoção destes dois critérios resultou em um total de três bateladas sequenciais (período de *startup*), as quais foram nomeadas de Regime 1, Regime 2 e Regime 3.

Para todo o período de operação de alimentação contínua foi adotado um tempo de detenção hidráulica (TDH) fixo de 3,5 d sob dois acréscimos de carga orgânica volumétrica (COV). O Regime 4 foi iniciado com COV de $0,55 \pm 0,07$ g- $\text{DQO L}^{-1} \text{d}^{-1}$ seguido do Regime 5 com o acréscimo de $1,5 \pm 0,07$ g- $\text{DQO L}^{-1} \text{d}^{-1}$. Durante o Regime 4, os reatores foram

submetidos à uma redução na quantidade externa de bicarbonato de sódio (alcalinidade), passando de 1,0 g-NaHCO₃ g-DQO⁻¹ para 0,75 g-NaHCO₃ g-DQO⁻¹. Esta relação de alcalinizante foi mantida durante os 15 primeiros dias de operação do Regime 5 (Regime 5.a) e posteriormente foi reduzida para 0,5 g-NaHCO₃ g-DQO⁻¹ (Regime 5.b).

2.2.4 Monitoramento

Os reatores foram monitorados diariamente a partir das determinações físico-químicas de DQO, sólidos voláteis (SV), pH, alcalinidade e carboidratos (DUBOIS et al., 1956; APHA, 2005). A alcalinidade intermediária (referente ao tamponamento dos ácidos graxos voláteis (AGV) presente na amostra) e a alcalinidade parcial (referente ao tamponamento do bicarbonato na amostra) foram mensuradas de acordo com Ripley; Boyd e Converse, (1986). O volume total de biogás foi medindo em gasômetro Ritter e analisado em cromatografia a gás (*Shimadzu*-modelo GC 2014) acoplado com detector de condutividade térmica e coluna HPPLQTQ (30 m x 0,53 mm) para determinação dos teores de CH₄, dióxido de carbono (CO₂), hidrogênio (H₂) e sulfeto (H₂S).

2.2.5 Cálculos e análises

Para os dois critérios descritos na seção 2.2.3, os reatores foram monitorados de acordo com as variáveis operacionais: COV (equação 1), vazão de CH₄ (Q_{CH₄}) (equação 2), eficiência de remoção de DQO efluente (E%) (equação 3) e quociente de recuperação de DQO em CH₄ no biogás (q_{CH₄}) (equação 4). Um teste T foi aplicado para avaliar a comparação de médias para as variáveis obtidas em ambos os reatores sob nível de significância de 95% (valores de p>0,05 para igualdade de médias).

$$\text{COV} = Q \cdot \left(\frac{S_i}{V_r} \right) \quad 1$$

$$Q_{\text{CH}_4} = \%_{\text{CH}_4} \frac{Q_{\text{gas}}}{(273.15/(273.15+T))} \quad 2$$

$$E_{\%} = \frac{(S_i - S_e)}{(S_i)} \quad 3$$

$$q_{CH_4} = \frac{Q_{CH_4}}{COV \cdot V_r \cdot (F)} \quad 4$$

nas quais, COV é a carga orgânica volumétrica em g-COD L⁻¹d⁻¹; Q é a vazão do afluente em L d⁻¹; Si é a DQO afluente em g-COD L⁻¹; V_r é o volume do reator em L; %_{CH₄} é o teor de metano no biogás em %; Q_{gás} é a vazão de biogás em L d⁻¹; E% é eficiência de remoção de DQO em %; S_e é a DQO efluente em g-COD L⁻¹; q_{CH₄} é o quociente de conversão de DQO no biogás em %; Q_{CH₄} é a vazão de metano em L_{CH₄} d⁻¹; T é a temperatura de operação em °C; e F é o coeficiente de conversão de DQO em metano sob condição padrão de temperatura e pressão (do inglês: *standart temperature and pressure* STP) igual a 0,350 L_{CH₄} g-COD⁻¹.

2.2.6 Coleta de lodo e análise microbiológica

As amostras do leito (R_{1L} e R_{2L}) e fundo (R_{1F} e R_{2F}) de ambos os reatores foram coletadas ao final dos períodos de incubação para analisar as comunidades microbianas envolvidas no processo DIET, bem como entender suas interações nos reatores, incluindo a semente do inóculo utilizado. Uma amostra de 50 mL de cada zona de análise (leito do reator I (R_{1L}), leito do reator II (R_{2L}), fundo reator I (R_{1F}) e fundo do reator II (R_{1F})), foi retirada e armazenada a -20 °C. As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 9000 rpm por 10 min para obtenção dos pellets celulares. Os pellets celulares foram lavados com tampão fosfato e centrifugados nas mesmas condições assim como descrito por Zhao et al., (2015). As condições descritas nas seções 2.2.7 e 2.2.8 foram estruturadas seguindo as recomendações de Bolyen et al (2019).

2.2.7 Sequenciamento

O kit FastDNA SPIN para solo (MP Biomedicals, Irvine, CA) foi usado para extração de DNA com aproximadamente 0,5 g de cada amostra de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade e a qualidade do DNA genômico extraído foram determinadas usando um espectrofotômetro NanoDrop (NanoDrop Technologies e eletroforese em gel em 1,8% de agarose). O DNA extraído foi armazenado a -20°C até os usos posteriores definidos para a análise. A biblioteca foi preparada com primers para a região V4 do 16S rRNA (~ 300 pb, amplificado com primers 515F x 806R). Os amplicons das bactérias foram

sequenciados pela plataforma Illumina (Novaseq6000 PE 250). Sequência dos primers 515F 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3' e 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'.

2.2.8 Análise dos dados

Os dados da sequência foram processados e analisados com QIIME2 (do inglês: *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* - QIIME2; versão 2022.2 (<https://qiime2.org/>)). Inicialmente, durante as etapas de demultiplexação e corte, as leituras de baixa qualidade foram removidas, como leituras até Q30, leituras com comprimento insatisfatório e quimeras foram removidas com *plugging dada2* (<https://benjjneb.github.io/dada2/>). As leituras limpas foram usadas na definição da variante de sequência Amplicon (do inglês: *Amplicon Sequence Variant* - ASV). Para medir as taxas presentes nas amostras, foi utilizado um modelo preditor da região V4 (SILVA 138,99% OTUs da região de sequências 515F/806R). A taxonomia foi atribuída às OTUs usando o banco de dados de referência SILVA 138. Gráficos de calor (*heatmaps*) e gráficos de barras (*barplots*) de abundância relativa de OTUs foram gerados no *software* Origin 22 por meio de códigos desenvolvidos pela empresa ByMyCell Inova Simples Ltda.

A curva de rarefação foi feita usando QIIME2. A diversidade alfa foi calculada aplicando diferentes métricas. Os índices de Shannon, Simpson e Fisher que representam a diversidade de espécies foram calculados. Os índices Chao1 e ACE representando a riqueza de espécies foram calculados. Para avaliar a similaridade da microbiota de diferentes grupos, a diversidade beta foi relatada usando distâncias UniFrac ponderadas e não ponderadas. O teste de análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) foi empregado por meio do teste de Adonis, para avaliar diferenças de grupos de diversidade beta.

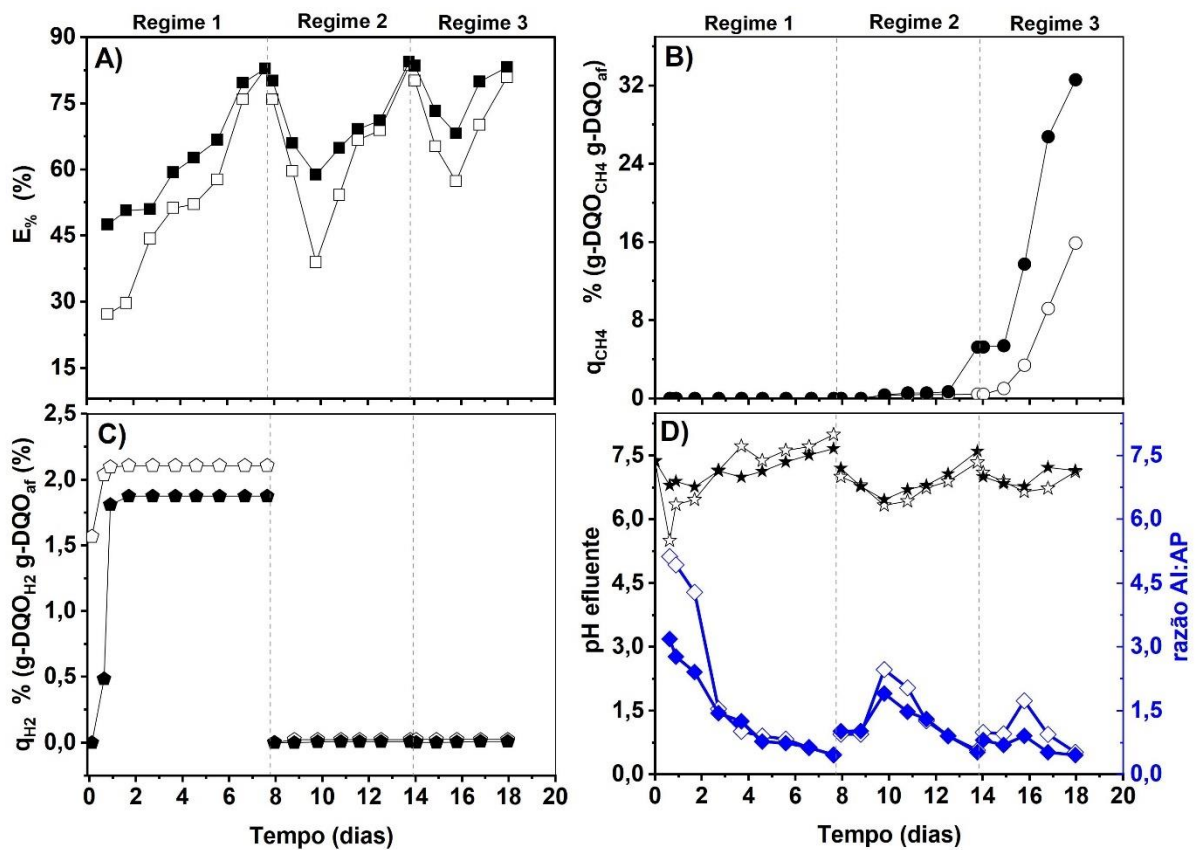
2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Operação dos AnSTBR em batelada.

Durante o período de *startup*, ambos os reatores tiveram comportamento similares quanto a degradação da DQO e conversão desta em CH₄ (medido pelo q_{CH₄}) ao longo de cada regime de realimentação. Os reatores demandaram um total de três regimes de realimentação

em modo batelada para atingirem os dois critérios pré-definidos para o período de *startup* do processo metanogênico com baixa concentração de inóculo (seção 2.2.3) (Figura 10; A e B).

Figura 10 – Comparação dos resultados dos critérios operacionais para as três bateladas sequenciais definidas para o período de *startup* do R1 com leito de nylon (marcador sem preenchimento) e R2 com leito de GAC (marcador com preenchimento preto): remoção de DQO (A), percentual de conversão de DQO em CH_4 (B), percentual de conversão de DQO em H_2 (C) e pH e capacidade tampão do sistema (D).



Fonte: o autor.

Ao longo de cada regime de batelada, os reatores mostraram redução do tempo para consumir 80% da DQO adicionada (critério I), denotando rápida adaptação dos microrganismos às condições operacionais estabelecidas. Contudo, na última fase (Regime 3), o reator R2 teve conversão da DQO em CH_4 de aproximadamente 27% superior ao reator R1

(Figura 10; B). Este comportamento reforça a hipótese de que os microrganismos eletrogênicos presentes no inóculo foram estimulados no reator R2 devido à presença de GAC (seção 2.3.3). Afirmção similar foi estabelecida por Barua; Zakaria e Dhar, (2018), os quais forneceram evidências de que o uso de material condutor à base de carbono aumentou a velocidade de produção de CH_4 em até 6,7 vezes a partir da oxidação de ácido propanoico e ácido *n*-butírico em reator anaeróbico. Zhao et al. (2022) investigaram o efeito de GAC durante a metanogênese de substrato rico em carboidrato, revelando um acréscimo na produção de CH_4 de aproximadamente 12 vezes quando comparado ao controle sem material condutor. Em suma, a presença de GAC em sistemas metanogênicos acelera o processo de hidrólise e acidogênese, gerando produtos de acidificação hidrolisados que facilitam a metanogênese (WU et al., 2022).

O conteúdo reduzido de inóculo gerou um processo inicial acidogênico visível em ambos os reatores, acarretando a queda do pH seguida da produção nula de CH_4 durante o Regime 1. Contudo, o reator R1 apresentou queda de pH mais acentuada do que o reator R2 (Figura 10, D), demonstrando que o reator R2 favoreceu o desenvolvimento de uma microbiota em adaptação ao processo DIET. De acordo com Lei et al. (2019), a suplementação de GAC em reatores metanogênicos aumenta a resistência microbiana a ataque de ácidos. Além disso, a suplementação de GAC em reatores anaeróbios fornece alcalinidade aos ácidos de fermentação primária devido a interações bioeletroquímicas com grupos funcionais naturalmente presentes em materiais de carbono de alta porosidade (do inglês: *high porosity carbon materials* - HPCM) (ALTAMIRANO-CORONA; ANAYA-REZA; DURÁN-MORENO, 2021; ZHURAVLEVA et al., 2022). Por sua vez, o baixo conteúdo de inóculo aliado a uma baixa relação carbono/nitrogênio na solução nutritiva (5:1) favoreceu o crescimento de organismos acidogênicos, estimulando o processo de acetogênese com produção nula de CH_4 durante o Regime I em ambos os reatores. De acordo com Liu et al. (2008), a disposição alta de nitrogênio tende a favorecer o crescimento microbiano acidogênico. Além disso, a alta disponibilidade de substrato para baixas concentrações de inóculo acelera a etapa de acidogênese, aumentando a relação AI:AP.

A produção de H_2 foi observada em ambos os reatores em virtude da rápida acidogênese (Figura 10, D), sendo maior para o reator R1. Alguns estudos indicam que a suplementação de materiais condutores à base de carbono em reatores metanogênicos aumenta a resistência

microbiana ao ataque ácido com redução simultânea do teor de H₂ devido à estimulação do mecanismo sintrófico da DIET (ZHAO et al., 2021, 2022).

2.3.2 Comportamento dos AnSTBR em modo contínuo

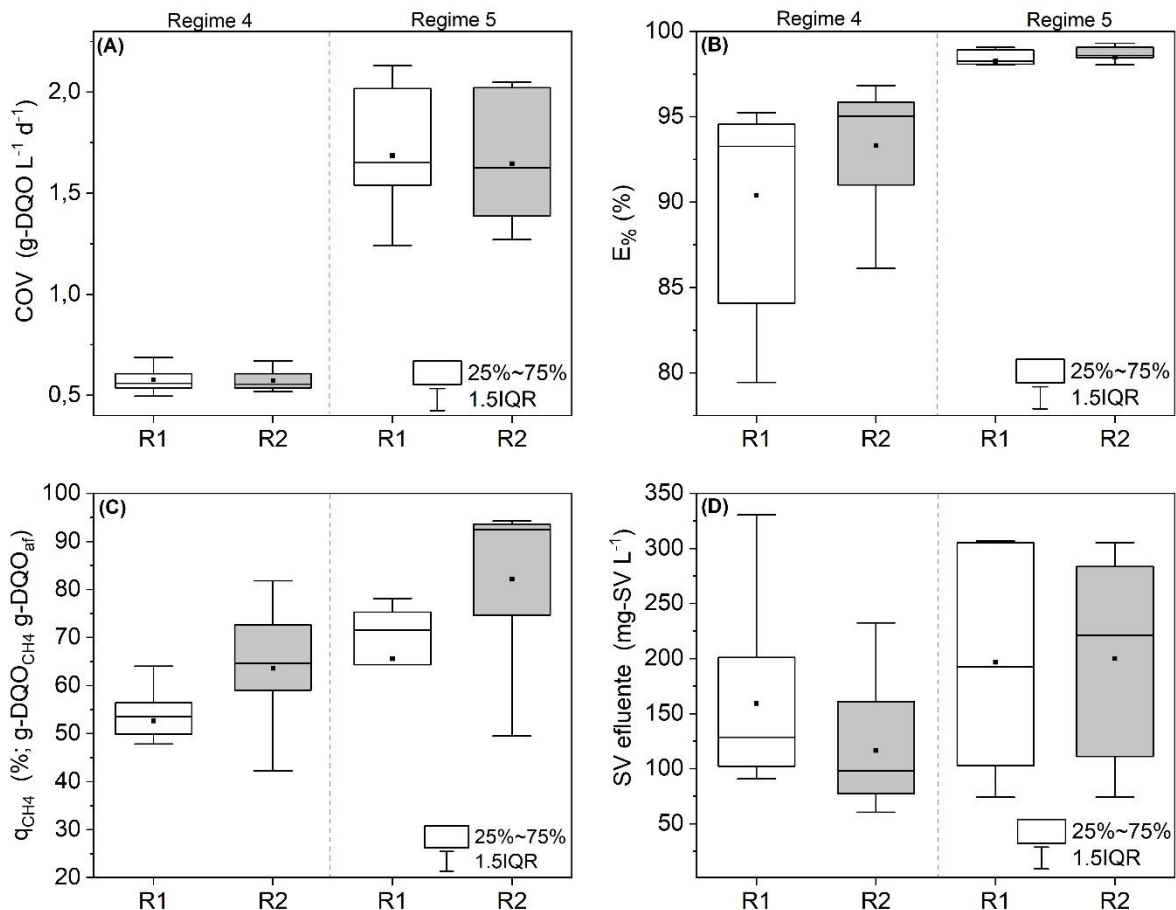
Os reatores não sofreram estresse metabólico com a transição para o modo de alimentação contínua (Tabela 2). Isso se deve à manutenção da mesma DQO afluente aplicada no período de partida (1,750 g-DQO L⁻¹), além de uma COV baixa (Regime 4). É importante ressaltar que ambos os reatores apresentaram comportamento similares quanto a degradação do substrato (Figura-Anexo- A). Porém, durante o Regime 4, o reator R2 apresentou maior percentual de remoção de DQO (E%) e maiores o quociente de conversão de DQO em CH₄ no biogás (q_{CH4}) do que o reator R1 (Figura 11, A e B).

Tabela 2 - Resumo das variáveis respostas adquiridas com a operação contínua dos reatores AnSTBR: carga orgânica volumétrica (COV), percentual de remoção de DQO efluente (E%), quociente de conversão de DQO em CH₄ no biogás (q_{CH4}), sólidos voláteis no efluente (SV), pH efluente e razão alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI:AP).

	COV	q _{CH4}	E%	SV	pH	AI:AP
	g DQO L ⁻³ d ⁻¹	%	%	g-SV L ⁻¹	-	-
Regime 4						
R1	0,58±0,07	52,6±10,9	90,3±5,3	159,1±69,1	7,4±0,25	0,37±0,11
R2	0,57±0,07	63,6±11,9	93,3±3,4	109,8±39,9	7,6±0,28	0,35±0,07
F-valor p*	0,95	0,71	0,08	0,028	0,67	0,12
T-valor p**	0,71	0,008	0,04	0,012	0,02	0,70
Regime 5						
R1	1,61±0,51	0,65±0,16	98,2±0,7	196,4±97,8	7,7±0,15	0,30±0,06
R2	1,62±0,60	0,81±0,18	98,4±0,9	191,4±92,3	7,8±0,27	0,31±0,04
F-valor p*	0,64	0,70	0,68	0,88	0,10	0,24
T-valor p**	0,96	0,09	0,55	0,90	0,36	0,56

Nota: (*) valor de p para variâncias, (**) valor de p para médias.

Figura 11 – *Box-plot* comparativo das variáveis respostas avaliadas durante a operação em modo contínuo dos reatores R1 e R2: (A) COV, (B) remoção de DQO; (C) conversão de DQO em CH₄ e (D) concentração de SSV no efluente.



Fonte: o autor.

Após o aumento de COV para $1,5 \pm 0,07$ g DQO L⁻³ d⁻¹ (Regime 5), ambos os reatores apresentaram quedas similares no rendimento de CH₄. Porém, o reator R2 apresentou q_{CH₄} em torno de 18% superior ao R1. Corroborando com este estudo, Lee et al. (2016) operaram reator de escoamento contínuo alimentado com acetato, suplementado com 1% (v/v) de GAC em condição mesofílica (35 °C), revelando uma velocidade de produção de CH₄ de 1,8 vez superior ao reator controle sem adição de GAC.

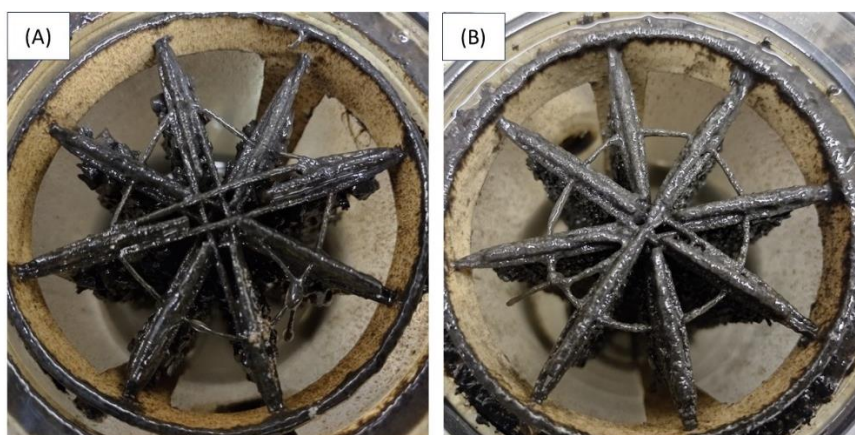
Após estabilidade do Regime 5 (E_%>80%), a suplementação externa de alcalinidade afluenta foi reduzida para uma razão de 0,5 g-NaHCO₃ g-DQO⁻¹. Esta redução foi adotada como forma de gerar estresse metabólico, estimulando o acúmulo de ácidos (Regime 5.b). De

acordo com alguns estudos (ZHAO et al., 2017; MARTINS et al., 2018; XU et al., 2019; FENG et al., 2021; ZHU et al., 2022), o estresse oriundo do acúmulo de ácidos (por excesso de substrato ou da falta de tamponamento adequado) estimula o desenvolvimento de DIETers em sistemas metanogênicos suplementados com materiais condutores. Porém, a redução de alcalinidade não afetou os rendimentos de produção de CH_4 em ambos os reatores no período adotado. Isso ocorreu devido ao fato dessa variável depender de um período maior de operação seguida de reduções sequenciais da alcalinidade externa. De acordo com Lee et al. (2022), a presença de GAC reatores anaeróbios alimentados com glicose demanda menor alcalinidade residual em função da equidistância entre a velocidade da fermentação primária e da metanogênese. Portanto, por mais que haja um vasto suporte na literatura os resultados obtidos com a operação do reator R2, ainda é necessário a confirmação por meio de técnicas de biologia molecular para que se possa afirmar que a presença de meios condutores em reatores anaeróbios estimula diretamente o crescimento de microrganismos adaptados ao processo DIET.

2.3.3 Análise biomolecular

A Figura 12 apresenta como a biomassa ficou aderida aos meios suportes estruturados em ambos os reatores.

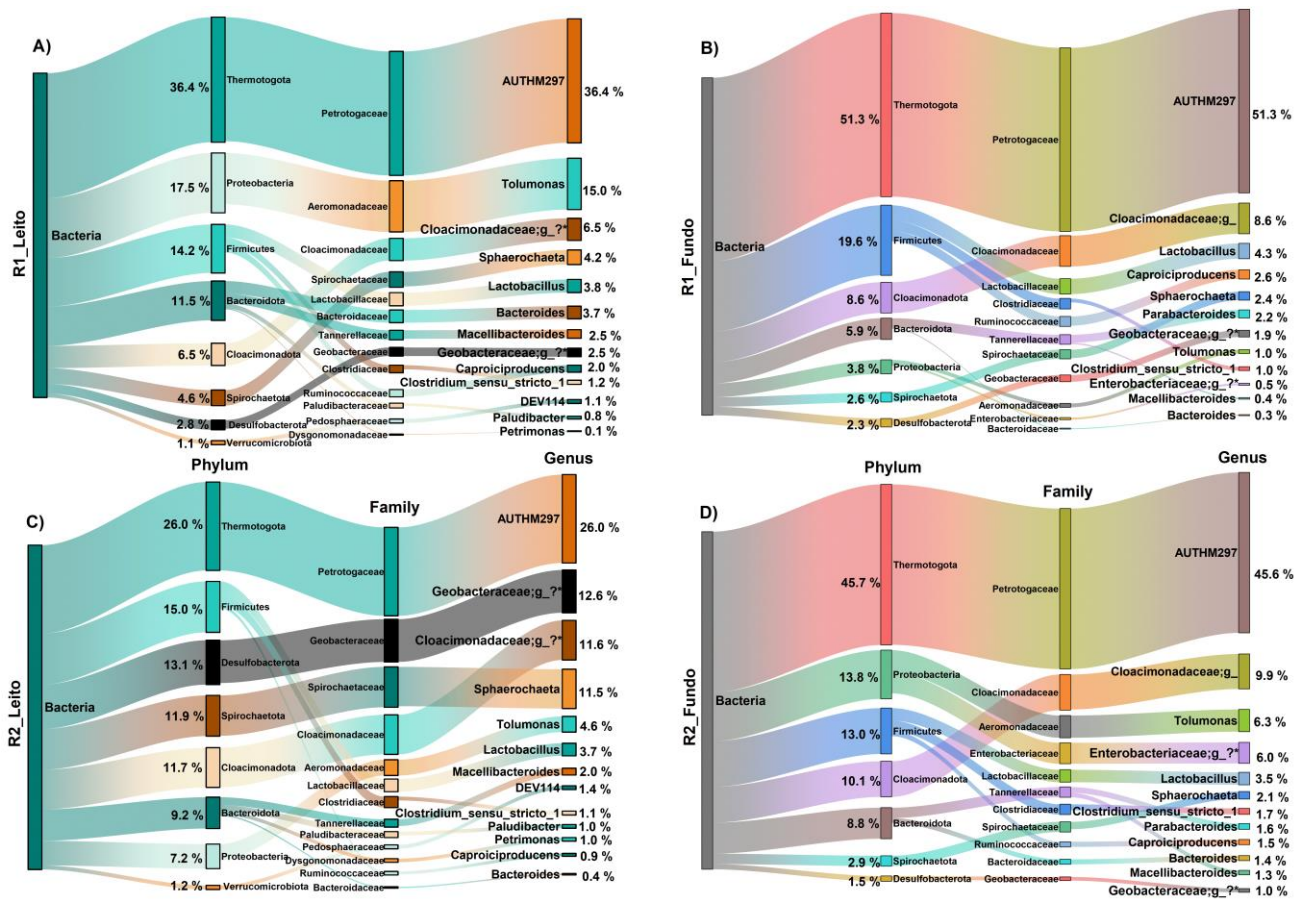
Figura 12 - Conteúdo anexo às estruturas de nylon (A) e de GAC (B) após operação em modo contínuo.



Fonte: o autor.

Tanto a biomassa do leito quanto a biomassa do fundo dos reatores foram retiradas e analisadas com as técnicas de biologia molecular descritas na seção 2.2.3 e na seção 2.2.4. Apenas 13 e 12 gêneros de Bactérias com mais de 1% de expressividade (frequência relativa) foram encontrados em amostras de lodo para os pares comparados entre leito e fundo dos reatores, respectivamente (Figura 13).

Figura 13- Diagrama de Sankey de abundância relativa (ordem crescente) para filo, família e gênero mais dominantes para a biomassa do AnSTBR1 construído com nylon (R1) e AnSTBR2 construído com GAC (R2). Os valores das 13 maiores abundâncias relativas para as amostras do leito dos reatores R1 (A)) e R2 (C)) foram comparados em nível de filo, família e gênero (>1%). Os valores das 12 maiores abundâncias relativas para as amostras do fundo dos reatores R1 (B)) e R2 (D)) foram comparados em nível de filo, família e gênero (>1%).



Nota: os gêneros Cloacimonadaceae:g_?*, Geobacteraceae:g_?* e Enterobacteriaceae:g_?* são os não identificados pela técnica de biologia molecular adotada.

Foi observada uma abundância superior do gênero *AUTHM297*, identificado para todas as amostras de lodo de ambos os reatores. Este gênero é relatado como o principal responsável pela degradação de macromoléculas em reatores anaeróbios (LIU et al., 2020a). Portanto, uma maior abundância relativa de *AUTHM297* na base de ambos os AnSTBR indica que a hidrólise foi mais predominante na biomassa não aderida. Embora estudos recentes tenham relatado abundância de *AUTHM297* em sistemas baseados em processos bioeletroquímicos, esse gênero não está associado à DIET de forma direta (WANG et al., 2021; MOU et al., 2022). Por exemplo, Mou et al., (2022) relataram que a necessidade de hidrólise do substrato estimulou a abundância de *AUTHM297* no fundo de um reator UASB operado com GAC auto flutuante. Em geral, as reações de hidrólise e fermentação primária tendem a ser mais proeminentes na zona alimentada do tipo AnSTBR (FUESS et al., 2021b).

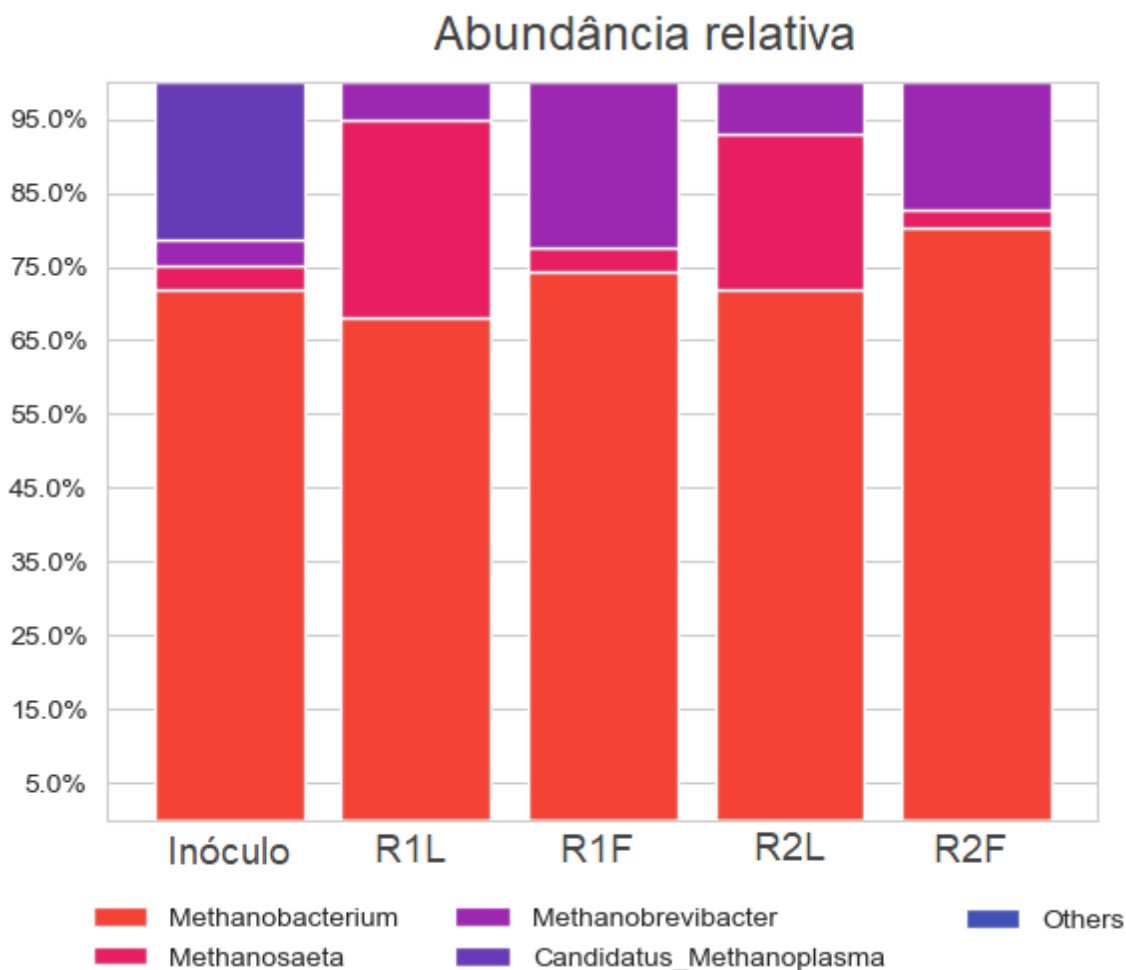
A abundância relativa de organismos adaptados à DIET foi maior no reator R2 com leito de GAC. A presença de GAC estimulou o desenvolvimento de organismos DIETers, enriquecendo os organismos pertencentes às famílias Geobacteraceae (gêneros não identificados) e Spirochaetaceae (gênero *Sphaerochaeta*). Organismos pertencentes à família Geobacteraceae são caracterizados por produzirem uma grande quantidade de citocromos (maiores responsáveis pela expressão do transporte indireto de elétrons em organismos DIETers) (METHÉ et al., 2003). O gênero *Geobacter* pertencente à família Geobacteraceae, por exemplo, engloba os principais organismos eletroativos relacionados à realização da DIET em microbiomas anaeróbios (CASTELLANO-HINOJOSA et al., 2022; LOVLEY, 2022; PAQUETE et al., 2022). Recentemente, Zhang et al. (2022) identificaram que organismos pertencentes ao gênero *Geobacter* foram estimulados em um reator UASB de escala de laboratório alterado com GAC e alimentado com glicose. Além disso, os autores relataram que os organismos deste gênero desempenharam papel crucial como eletrogênicos em simbiose com organismo eletrotrofos metanogênicos do reator UASB suplementado com GAC.

Recentemente, a família Spirochaetaceae foi apontada como um agrupamento de organismos estreitamente envolvidos na via metabólica de SAO em sinergia com hidrogenotrofos metanogênicos (WANG et al., 2022a). De maneira mais específica, o gênero *Sphaerochaeta* pertencente à família Spirochaetaceae é conhecido por ter organismos

DIETers (FENG et al., 2021). Este gênero foi mais abundante no leito do R2 do que no leito do R1. Esta observação indica, também, que este gênero poderia dar uma certa contribuição para a metanogênese assistida por DIET devido à capacidade de compartilhar elétrons por meio da própria formação de *e-pili* condutiva (FENG et al., 2021). Organismos pertencentes à família *Cloaminaceaceae* são relatados como acetogênicos que atuam em sintrofia com organismos metanogênicos (MUÑOZ-PÁEZ; BUITRÓN, 2022), mas não estão associados ao processo DIET. Outros gêneros expressivos foram encontrados nas amostras R1_L e R2_L, como *Tolomonas* e *Lactobaculus*, os quais não são relatados na literatura como DIETers. A maioria dos achados apontam que os organismos pertencentes a estes dois últimos gêneros são fermentadores de açúcar e estão associados à produção de substâncias exopoliméricas (EPS) em sistemas anaeróbios (YADAV et al., 2022).

A presença de GAC no leito estruturado do reator R2 influenciou o desenvolvimento de diferentes comunidades de arqueais. A Figura 14 compara a abundância relativa dos quatro principais gêneros de organismo produtor de CH₄ encontrados no inóculo e nos diferentes compartimentos de ambos os reatores.

Figura 14 – Abundância relativa para o total de gêneros de arqueas encontrados nas amostras de inóculo, leite e fundo dos reatores AnSTBR.

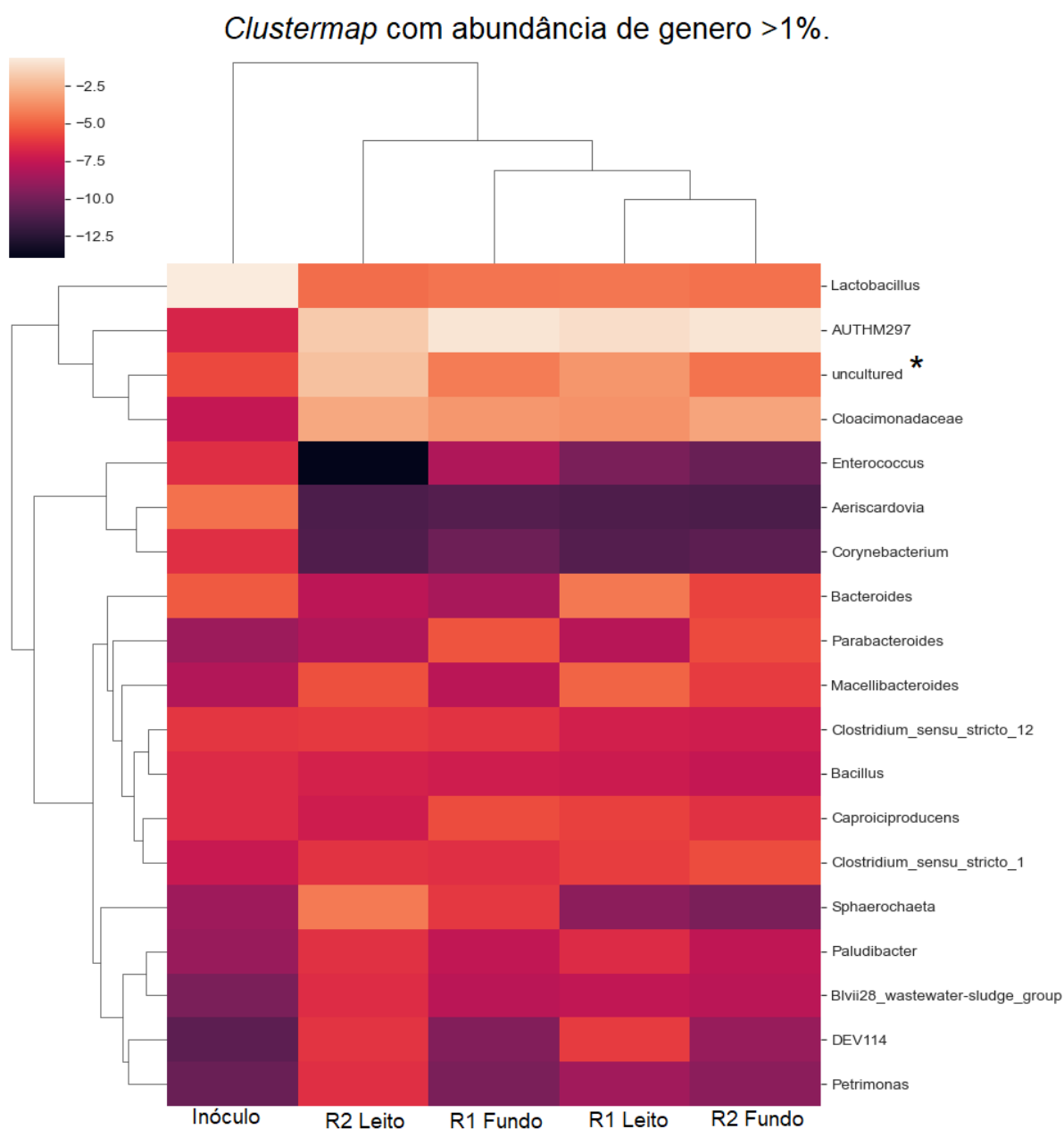


Há relatos de que os organismos metanogênicos eletrotróficos envolvidos no mecanismo da DIET pertencem aos gêneros *Methanosarcina* sp., *Methanosaeta* sp. e *Methanobacterium* sp (ZHENG et al., 2020; SU et al., 2023). Contudo, existe um grande número de microrganismos inexplorados envolvidos no processo da DIET (SU et al., 2023). A comparação entre as amostras do leite e do fundo de ambos os reatores mostra que o gênero *Methanobacterium* foi dominante, tendo maior abundância relativa para as amostras comparadas do leite e do fundo do reator R2. Ou seja, a presença de GAC no reator R2 afetou

o desenvolvimento deste gênero hidrogenotrófico. É importante ressaltar que organismos pertencentes ao gênero *Methanobacterium* são importantes eletrotrofos atuantes no mecanismo de DIET em reatores anaeróbios suplementados com materiais condutores (ZHENG et al., 2020; SAIF et al., 2022; NI et al., 2023). Segundo Yuan et al. (2018), alguns organismos pertencentes ao gênero *Methanobacterium* são capazes de aceitar elétrons diretamente de bactérias sintróficas como organismos pertencentes à família Geobacteraceae. Por exemplo, Zheng et al. (2020) atestaram que o consórcio entre espécies do gênero *Methanobacterium* e espécies do gênero *Geobacter* interagem diretamente dentro do mecanismo de DIET, no qual organismo eletrogênicos (caso dos pertencentes ao gênero *Geobacter*) trocam elétrons com os eletrotrofos (caso dos pertencentes ao gênero *Methanobacterium*), acelerando o processo metanogênico. Para consolidar o sintrofismo identificado por Zheng et al. (2020), de albuquerque et al. (2022) relataram que o desenvolvimento de organismos pertencentes ao gênero *Methanobacterium* é estimulado em reatores metanogênicos modificados com tecido de carbono.

Pela primeira vez, Ni et al. (2023), identificaram o aumento da abundância relativa de *AUTHM297*, *Methanobacterium* e *Geobacter* após a adição de BC modificado com ferro em reator anaeróbio. Este achado se assemelha à comparação entre o leito do reator R1 com o leito do reator R2, em cujo leito três gêneros foram dominantes. A abundância de Arqueas eletrotrofos em detrimento de outros metanogênicos estimulou a degradação mais rápida de AGVs em sintrofia com bactérias eletrogênicas no leito do reator R2. Dessa forma, pode-se inferir que o leito composto por GAC promoveu vias metabólicas autorregulatórias sintróficas mais versáteis devido ao maior desenvolvimento de DIETers. Este comportamento se tornou evidente devido à baixa concentração de inóculo como estratégia para estimular o desenvolvimento de microrganismos adaptados às condições de condutividade do leito de ambos os reatores. Ou seja, o estresse metabólico exerceu um efeito seletivo de organismos presentes no inóculo, estimulando microbiomas diferentes entre leito e fundo de ambos os reatores (Figura 15).

Figura 15 – Mapa de cluster para todos os gêneros com abundância relativa superior a 1% entre as cinco amostras analisadas para: o inóculo, o leite do AnSTBR1 (R1 leite), o leite do AnSTBR2 (R2 leite), o fundo do AnSTBR 1 (R1 fundo) e o fundo do AnSTBR2 (R2 fundo).



Nota: * gênero não identificado pertencente à família Geobacteraceae.

Estudos recentes relatam que a presença de uma microbiota adaptada ao mecanismo DIET em microbiomas anaeróbios é crucial para o desempenho de mecanismos sintróficos

avancados em reatores metanogênicos (Meng et al., 2022). Por exemplo, Zhu et al. (2022) relataram que os organismos eletrotróficos do tipo DIETers foram enriquecidos com a presença de BC em reator anaeróbio alimentado com FW. Os autores apresentaram resultados que sugerem que o acoplamento da fermentação do tipo etanol foi fortalecido por meio do desenvolvimento de DIETers estimulados diante dos choques de COV elevadas. Em estudo recente, Yuan et al. (2023) apontaram que o estímulo de enzimas envolvidas no mecanismo de DIET é uma das maiores características do desenvolvimento estimulado de organismo adaptados ao processo de troca direta de elétrons para o aumento das velocidade de metanogênese.

2.4 Conclusões parciais

A presença de GAC no leito do AnSTBR2 aumentou a velocidade de produção de CH₄ durante o período de *startup* com baixa concentração de inóculo, forçando o desenvolvimento de uma microbiota diferentes da encontrada para o AnSTBR1 com leito de nylon. A presença de uma microbiota adaptada ao processo DIET foi determinante para o desempenho dos processos sintróficos avançados, sendo o estresse metabólico fator estimulador da dominância de organismos DIETers em meio condutor. A microbiota eletrogênica e eletrotrófica foram mais abundantes no reator AnSTBR com leito de GAC (R2_L), evidenciando a sintrofia entre estes grupos durante o aumento da velocidade de digestão anaeróbia.

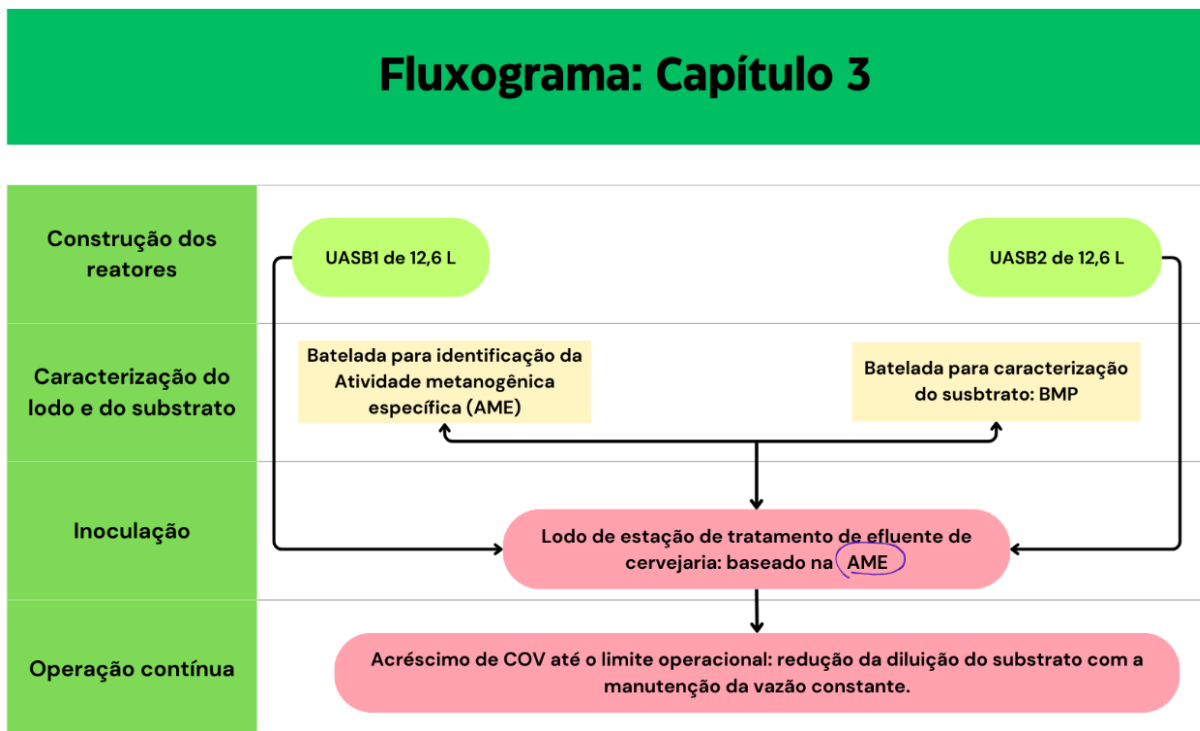
CAPÍTULO 3:
APLICAÇÃO DE FVW_L EM REATOR UASB

3. CAPÍTULO 3: APLICAÇÃO DE FVW_L EM REATOR UASB

3.1 Suporte científico e metodológico

Esta seção fundamenta-se na hipótese de que existe um limite de COV suportado para um reator UASB alimentado com FVW_L e, que a partida do reator se baseia na atividade metanogênica do inóculo. A Figura 16 apresenta o fluxograma da operação dos reatores UASB descrita neste capítulo.

Figura 16 - Fluxograma da operação dos reatores UASB operados no capítulo 3 desta tese.



Fonte: o autor

É importante salientar que a estrutura deste capítulo faz parte do seguinte artigo publicado:

Cavalcante, W.A.; Menezes, C.A.; Silva Júnior, F.C.G.; Gehring, T.A.; Leitão, R.C.; Zaiat, M. *From start-up to maximum loading: An approach for methane production in upflow*

anaerobic sludge blanket reactor fed with the liquid fraction of fruit and vegetable waste. Journal of Environmental Management, v. 335, p. 117578, 2023.

3.2 Material e método

3.2.1 Preparo do substrato

O FVW gerado na Central Atacadista de Horticultura do Estado do Ceará (CEASA-Maracanaú) foi padronizado de acordo com a metodologia proposta por Silva Júnior et al. (2022). Os autores propuseram a formulação de FVW composta por 19 componentes dentre frutas, legumes e hortaliças majoritariamente gerados na unidade CEASA-Maracanaú (representando mais de 80% do total de resíduos orgânicos gerados na unidade). Após a coleta, todo o material passou pela etapa de pré-tratamento mecânico, a qual consistiu na trituração em máquina forrageira, centrifugação em centrífuga de sexto (150 RPM) e prensagem em prensa *expeller* horizontal (Figura 17 e Figura-Anexo- C). Após o processo de pré-tratamento do FVW, duas linhas de substratos foram geradas (Figura-Anexo- D): a fração sólida (FVW_S) com teor de sólidos entre 15-20% e a fração líquida (FVW_L) com as características físico-químicas apresentadas na Tabela 3. O FVW_L foi utilizado para os ensaios de biometanização tratados neste estudo.

Figura 17 -Fluxo do processamento mecânico para a obtenção da fração líquida do resíduo de frutas e verduras (FVWL).



Fonte: o autor

Tabela 3 - Caracterização físico-química principal da fração líquida de resíduos de frutas e verduras (FVWL) realizada por Silva Júnior et al. (2022) e aplicada nesta pesquisa.

Variáveis		Minerais	
Umidade (%)	91,7±0,3	Potássio (g kg ⁻¹)	22,7±0,9
ST (g-ST kg ⁻¹)	90,2±7,8	Fósforos (g kg ⁻¹)	2,8±0,04
SV (g-SV kg ⁻¹)	81,2±7,1	Cálcio (g kg ⁻¹)	2,6±0,1
DQO (g-DQO kg ⁻¹)	137,1±16,7	Magnésio (g kg ⁻¹)	1,6±0,03
Carboidrato (g kg ⁻¹)	55,2±10	Enxofre (g kg ⁻¹)	1,5±0,05
Gordura (mg kg ⁻¹)	0,26±0,1	Sódio (g kg ⁻¹)	0,8±0,02
Proteína (mg kg ⁻¹)	1,7±0,1	Iron (g kg ⁻¹)	0,7±0,02
AGV (mg kg ⁻¹)	21±4,3	Cobre (mg kg ⁻¹)	9,7±0,3
DQO/SV (g-DQO g-SV ⁻¹)	1,68±0,3	Zinco (mg kg ⁻¹)	81,3±1,9
pH	4,4±0,3	Manganês (mg kg ⁻¹)	36,4±1,3

Nota: sólidos totais (ST); sólidos voláteis (SV); demanda química de oxigênio (DQO); ácidos graxos voláteis como acetato (AGV).

3.2.2 Montagem dos ensaios em batelada

Os ensaios de potencial de produção de metano (do inglês: *biomethane potential*-BMP) e a atividade metanogênica específica (do inglês: *specific methane activity*-SMA) foram realizados em um respirômetro anaeróbio (respirômetro Micro-Oxymax, Columbus Instruments), o qual monitorava automaticamente a produção volumétrica e a composição do biogás (concentração de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂)) (Figura 18).

Figura 18 - Respirômetro Micro-Oxymax com 40 canais utilizados para o monitoramento dos ensaios em batelada.



Fonte: o autor

Todos os ensaios em batelada foram realizados em triplicata em frascos Schott com volume reacional de 0,2 L (Figura 19). Cada frasco foi preenchido com inóculo (5,0 g-SV L⁻¹ de lodo), substrato (2,5 g-DQO L⁻¹) e tampão externo (2,5 g-NaHCO₃ L⁻¹). Os ensaios foram realizados em dois grupos: I) ensaio contendo glicose e solução nutritiva adaptado por Yan e Tay (1997) e II) ensaio contendo FVW_L sem adição de nutrientes. Além disso, dois frascos contendo apenas o inóculo foram usados como controle para avaliar a produção endógena de CH₄ do lodo. Todos os ensaios foram mantidos sob temperatura constante (35 °C) e agitação constante (120 rpm). Todos os frascos foram purgados com gás nitrogênio (N₂) por 5 min, selados e conectados ao respirômetro anaeróbio.

Figura 19 – Frascos Schott e aparatos (tampas de rosca, *O-ring* e tampo superior em aço inox) para a acoplagem hermética no respirômetro.



Fonte: o autor

Os resultados de BMP e da SMA foram avaliados com base na equação 5 e equação 6, respectivamente. Lodo flocculento de um reator UASB que tratava efluente de cervejaria ($24,5 \text{ g-SV L}^{-1}$) foi utilizado como inóculo.

$$\text{BMP} = \frac{V_{mT} - V_{mC}}{S_0 \cdot V_{r_b}} \quad (5)$$

$$\text{SMA} = \frac{1}{SV \cdot V_{r_b} \cdot F} \cdot \frac{d(V_m)}{d(t)} \quad (6)$$

nas quais, BMP é o potencial de produção de biometano normalizado ($\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g-DQO}^{-1}$), V_{mT} é o volume de CH_4 do ensaio com substrato (NmL_{CH_4}), V_{mC} é o volume de CH_4 do controle (NmL_{CH_4}), S_0 é a concentração inicial do substrato (g-DQO L^{-1}), SMA é a atividade metanogênica específica máxima ($\text{g-DQO}_{\text{CH}_4} \text{g-SV d}^{-1}$), SV é a concentração de sólidos voláteis totais do lodo (g-SV L^{-1}), V_{m} é o volume cumulativo de CH_4 (NmL_{CH_4}) no tempo (t ; dias), F é o coeficiente de conversão de DQO para CH_4 sob condição padrão de temperatura e pressão (do inglês: *standard temperature and pressure* - STP) ($0,350 \text{ L}_{\text{CH}_4} \text{g-DQO}^{-1}$) e V_{rb} é o volume reacional (L).

3.2.3 Modelagem dos ensaios em batelada

As produções de CH_4 dos ensaios alimentados com glicose e com FVWL foram comparadas por meio do ajuste de Gompertz modificado (equação 7) (GADHAMSHETTY et al., 2010) e do modelo cinético de primeira ordem (equação 8) (LI et al., 2018). Os dados adquiridos nos ensaios em batelada foram ajustados usando a função não linear disponível no *software* Origin 9.1 (Origin Lab Corporation, MA, EUA). A velocidade de degradação do substrato foi calculada com base no modelo cinética de primeira ordem implementado por Vavilin et al. (2008) (equação 9).

$$M_{(t)} = M_0 \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m \cdot e}{M_0} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (7)$$

$$B_{(t)} = B_0 \cdot \{1 - e^{-k_h \cdot t}\} \quad (8)$$

$$r_h = k_h \cdot S_0 \quad (9)$$

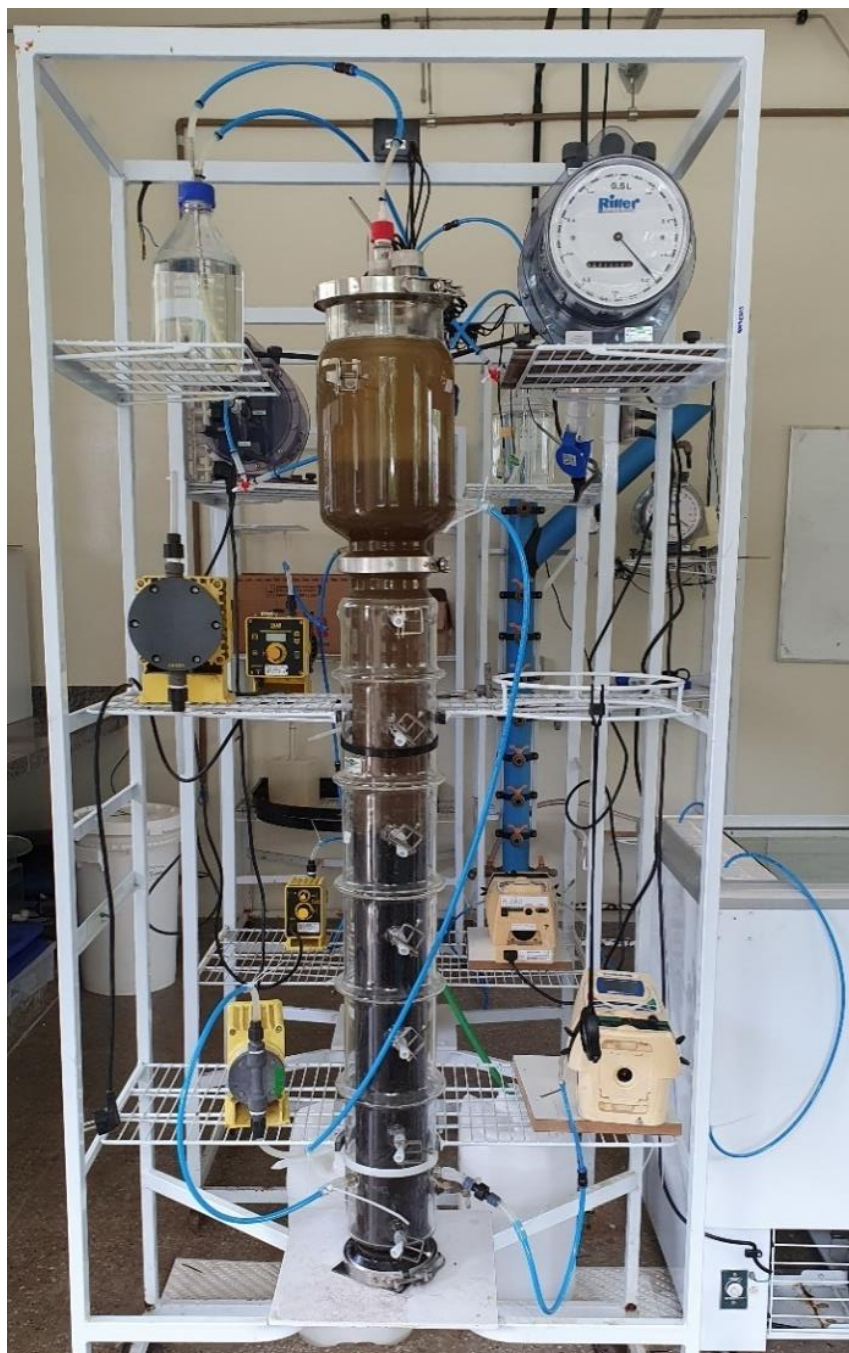
nas quais, $M_{(t)}$ é a produção acumulada de metano normalizado (NmL_{CH_4}), M_0 é o potencial máximo de produção de metano (NmL_{CH_4}), R_m é a velocidade máxima de produção de metano ($\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{d}^{-1}$), λ é a fase *lag* (d), t é o tempo (d), $B_{(t)}$ é a produção acumulada de metano normalizado por massa de DQO adicionada ($\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g-DQO}^{-1}$), B_0 é a produção final de metano por massa de DQO adicionada ($\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g-DQO}^{-1}$), k_h é o coeficiente de degradação

de primeira ordem (d^{-1}), r_h é a velocidade de degradação do substrato ($g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$) e S_0 é a concentração inicial do substrato ($g\text{-DQO L}^{-1}$).

3.2.4 Descrição dos ensaios em reatores UASB

A digestão do FVW_L foi realizada em dois reatores UASB idênticos construídos em vidro borossilicato com volume de 12,6 L, diâmetro de 0,10 m e altura de 1,35 m (Figura 20). Ambos os reatores foram operados em paralelo por 240 dias sob as mesmas condições operacionais de temperatura ($31\pm 4^\circ\text{C}$), alimentação (FVW_L diluído), tampão externo (0,30 a 0,70 $g\text{-NaHCO}_3$ por $g\text{-DQO}$ afluente) e tempo de detenção hidráulica (TDH) fixo (~ 3 d). Como estratégia operacional, a carga orgânica volumétrica (COV) foi aumentada em cinco estágios: I ($1,8 g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$), II ($3,3 g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$), III ($5,5 g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$), IV ($7,5 g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$) e V ($10 g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$).

Figura 20: Fotografia do reator UASB utilizado. As descrições e o dimensionamento do reator encontram-se na Figura-Anexo- B.



Fonte: o autor

3.2.5 Estratégia de inoculação

Para a partida dos reatores UASB, uma concentração de 10 g-SV L⁻¹ de inóculo foi definida. A concentração de SV foi fixada para identificar a capacidade de processamento da massa de inóculo inserida no reator. Esta estratégia foi baseada em procedimentos apresentados na literatura, na qual recomenda-se preencher os reatores UASB com até 1/3 de lodo (v:v) (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). Com esta estratégia de inoculação, as variáveis de operação dos reatores podem ser vinculadas às informações adquiridas nos ensaios em batelada. Portanto, para o estágio I, a COV de partida dos reatores (COV₀) foi estimada com base na SMA encontrada para o lodo de inóculo (equação 10) (MOHAN; SWATHI, 2021), que por sua vez foi previamente amortecida (coeficiente de amortecimento - C_a<1 aplicado ao valor da SMA) para minimizar a carga orgânica específica (COE) inicial. Para manter a aplicação adequada da SMA durante o dimensionamento da COV₀, a razão alimento:microrganismo (do inglês: *Food to microorganism* F/M) nos reatores UASB foi a mesma, inicialmente definida nos ensaios em batelada (1:2). Essa estratégia garantiu uma DQO afluente de 5 g-DQO L⁻¹ para uma concentração de lodo de 10 g-SV L⁻¹ para a partidas de ambos os reatores UASB. Então, para encontrar a vazão dos reatores (equação 11), a COV foi igualada à COV₀ (equações 10 e 12). Após a aplicação da COV₀, a determinação da COV e da COE operacional seguiu a equação 12 e a equação 13, respectivamente.

$$COV_0 = (SMA \cdot C_a) \cdot (SV) \quad (10)$$

$$Q = COV_0 \cdot \left(\frac{V_r}{S_i} \right) \quad (11)$$

$$COV = Q \cdot \left(\frac{S_i}{V_r} \right) \quad (12)$$

$$COE = COV \cdot \left(\frac{1}{SV} \right) \quad (13)$$

nas quais, COV₀ é a carga orgânica volumétrica inicial (g-DQO L⁻¹ d⁻¹), SMA é a atividade metanogênica específica máxima encontrada no ensaio em batelada (g-DQO_{CH4} g-SV d⁻¹), SV é a concentração de sólidos voláteis de lodo definida para o reator (g-SV L⁻¹), C_a é o valor do

coeficiente de amortecimento ($C_a < 1$), Q é a vazão de alimentação ($L d^{-1}$), COV é a carga orgânica volumétrica ($g-DQO L^{-1} d^{-1}$), S_i é a DQO afluente ($g-DQO L^{-1}$), V_r é o volume do reator (L) e COE é a carga orgânica específica em função da concentração de sólidos voláteis do lodo ($g-DQO g-SV^{-1} d^{-1}$).

Ao final da operação (estágio V), o lodo de ambos os reatores UASB foi amostrado para determinar a SMA (equação 6) e o BMP (equação 5), bem como para a determinação das variáveis cinéticas operacionais da condição final (equação 7 a 9). Esta nova série de ensaios em batelada seguiu as descrições operacionais descritas na seção 3.2.2 e 3.2.3.

3.2.6 Monitoramento

As variáveis de monitoramento, DQO, sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), pH e alcalinidade foram mensuradas seguindo os métodos descritos em APHA, (2005). A vazão de gás dos reatores foi quantificada por meio de um medidor de gás do tipo tambor (Ritter Apparatebau GmbH & Co. KG., Bochum, Alemanha – TG-0,5). As concentrações de CH_4 , CO_2 e N_2 foram quantificadas por cromatografia gasosa (C2V-200 micro-GC; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). As variáveis de monitoramento operacional descritas na Tabela 4 foram aplicadas ao período total de operação, bem como ao período definido como quase estacionário (método descrito na seção 3.2.7).

Tabela 4 - Variáveis operacionais monitoradas durante cada período de operação dos reatores UASB alimentados com FVWL.

Variável resposta	Unit	Equação (*)	Número
$R_{DQO/SV}$ – razão substrato	g-DQO g-SV ⁻¹	$R_{DQO/SV} = \frac{S_i}{SV_i}$	(14)
Q_{CH_4} – vazão de CH ₄	L _{CH₄} d ⁻¹	$Q_{CH_4} = \%_{CH_4} \frac{Q_{gás}}{(273.15/(273.15+T))}$	(15)
MY_{DQO} – rendimento de CH ₄ por DQO	L _{CH₄} g-DQO _{add} ⁻¹	$MY_{DQO} = \frac{Q_{CH_4}}{Q \cdot (S_i)}$	(16)
MY_{SV} – rendimento de CH ₄ por SV	L _{CH₄} g-SV ⁻¹	$MY_{SV} = MY_{DQO} \cdot R_{DQO/SV}$	(17)
V_{CH_4} – Produção volumétrica de CH ₄	L _{CH₄} L ⁻¹ d ⁻¹	$V_{CH_4} = \frac{Q_{CH_4}}{V_r \cdot Q_{CH_4}}$	(18)
q_{CH_4} – quociente de conversão de DQO _{CH₄}	%, g-DQO _{CH₄} g-DQO ⁻¹	$q_{CH_4} = \frac{Q_{CH_4}}{COV \cdot V_r \cdot (F)}$	(19)

(*) descrição dos parâmetros da equação: S_i é a concentração de DQO afluente em g-DQO L⁻¹; SV_i é a concentração de sólidos voláteis afluente em g-SV L⁻¹; Q é a vazão de alimentação em L d⁻¹; V_r é o volume do reator em L; $\%_{CH_4}$ é o teor de metano no biogás em %; $Q_{gás}$ é a vazão de biogás em L d⁻¹; T é a temperatura de operação em °C; COV é a carga orgânica volumétrica em g-DQO L⁻¹ d⁻¹ e F é o coeficiente de conversão de DQO para metano em STP (0,350 L_{CH₄} g-DQO⁻¹).

3.2.7 Análise estatística e critérios operacionais

Após o período de partida (estágio I), o aumento da COV em ambos os reatores UASB foi conduzido até atingir uma condição de estado quase estacionário, durante o qual o coeficiente de variação ($CV_{10\%}$) da recuperação diária de CH₄ em DQO adicionada (q_{CH_4}) foi menor que 10% durante um período de pelo menos 15 dias (VENKITESHWARAN et al., 2016). O quociente de conversão de DQO_{CH₄} reflete a eficiência de aproveitamento energético do substrato em CH₄, servindo como variável operacional para mensurar a degradabilidade do substrato nos reatores. Um teste *t-student* foi aplicado para avaliar a comparação de médias para as variáveis de resposta obtidas em ambos os reatores sob nível de significância de 95% (valores de $p > 0,05$ para igualdade de médias).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 BMP do FVW_L

A Tabela 5 resume as principais variáveis encontradas para os ensaios em batelada alimentados com glicose e com FVW_L. O valor de BMP_{/SV} (calculado com base na massa SV do substrato adicionado) do FVW_L foi de aproximadamente 472 NmL_{CH₄} g-SV⁻¹. Esse valor é comparável aos maiores valores de BMP encontrados por Edwiges et al. (2018a) para diferentes composições de FVW digeridos em ensaios em batelada com lodo pré-adaptado. Comparativamente menor que o resultado de BMP encontrado para o FVW_L, Savoo e Mudhoo, (2018) relataram BMP máxima de 271 NmL_{CH₄} g-SV⁻¹ para resíduos vegetais pré-tratados com irradiação por micro-ondas (objetivando a redução do teor de particulados). Em outra comparação, o BMP oferecido pelo FVW_L foi 2,3 vezes maior do que o relatado por De Amarante et al. (2022), os quais encontraram BMP de 200 NmL_{CH₄} g-SV⁻¹ para ensaios em batelada com FVW não pré-tratado.

Tabela 5 - Resumo das variáveis respostas ajustadas para o ensaio em batelada alimentado com glicose e FVW_L.

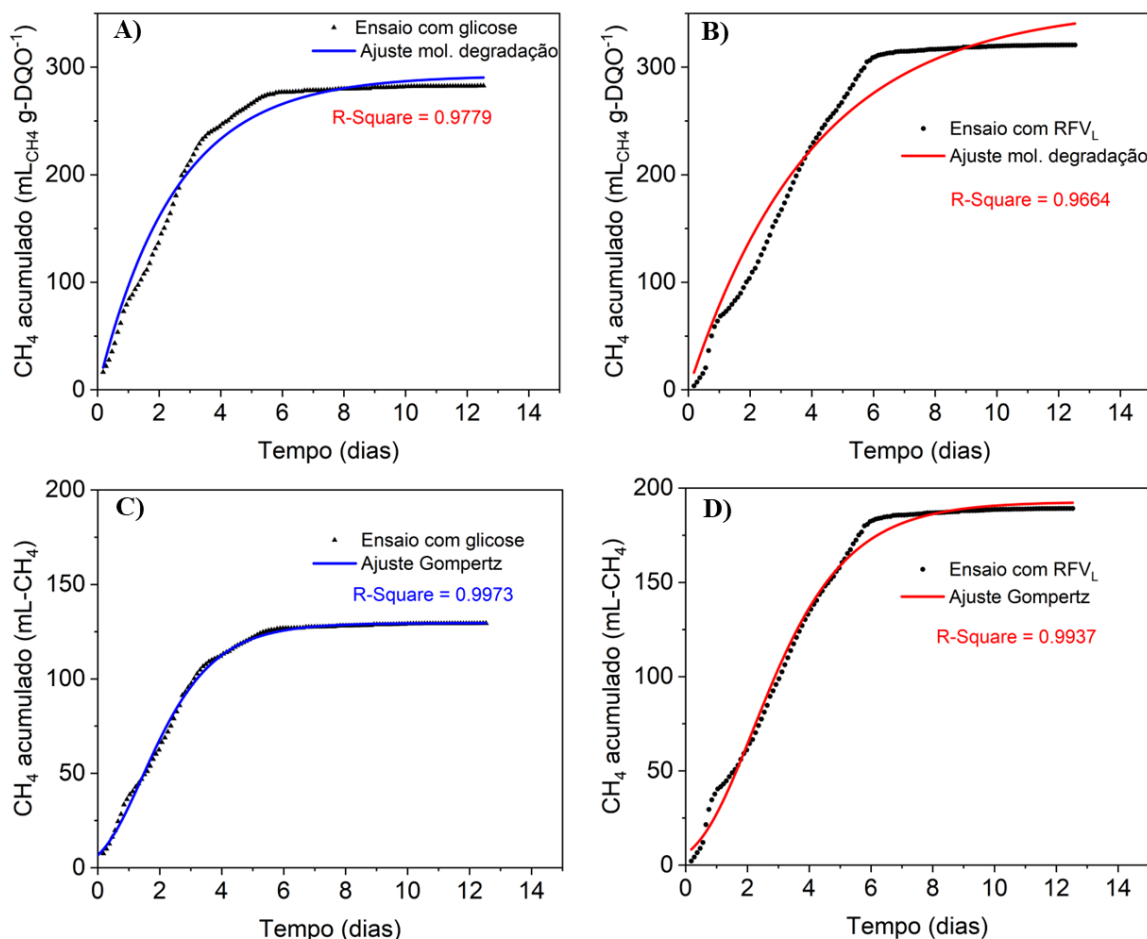
Ensaio	BMP	BMP _{/SV}	M ₀	R _m	λ	B ₀	k _h	r _h
	mL _{CH₄} g-DQO ⁻¹	mL _{CH₄} g-SV ⁻¹	mL _{CH₄}	mL _{CH₄} d ⁻¹	d	mL _{CH₄} g-DQO ⁻¹	d ⁻¹	g-DQO L ⁻¹ d ⁻¹
Glicose	-	-	130	36	0.1	283	0.75	1.8
FVW _L	319	472	193	41	0.4	327	0.57	1.6

Nota: BMP é o potencial de biometano, BMP_{/SV} é o potencial de biometano em função da concentração de sólido volátil total do substrato (relação DQO:SV de 1,48 g-DQO g-SV⁻¹), M₀ é a produção máxima de CH₄, R_m é a velocidade de produção máxima de CH₄, B₀ é a produção final de CH₄ por DQO adicionada, k_h é o coeficiente de degradação de primeira ordem e r_h é a velocidade de degradação do substrato.

De acordo com Vavilin et al. (2008), a constante k_h para FVW_L digeridos com inóculo de lodo de cervejaria tende a ser elevada (>0,5 d⁻¹), revelando que este tipo de substrato pode ser degradado em um período inferior a uma semana. Contudo, estimativas de k_h inferiores a 0,5 d⁻¹ são relatadas para diferentes composições de FVW na literatura (VAVILIN et al., 2008; BROWNE; ALLEN; MURPHY, 2013). Por exemplo, Mozhiarasi; Weichgrebe e

Srinivasan (2020), relataram k_h de 0,15 e 0,19 d^{-1} para a digestão anaeróbia de vegetais extrusados e resíduos de frutas, respectivamente. Na mesma linha, Shanthi et al. (2018) estimaram valores de k_h de 0,19 d^{-1} e 0,12 d^{-1} para ensaios em batelada realizados com FVW previamente desintegrado por liquefação sônica e ultrassônica, respectivamente. Todos os achados apresentados anteriormente permitem uma comparação positiva acerca do potencial de metanização oferecido pela FVW_L com inóculo adaptado a resíduos de cervejaria (Tabela 5). Além disso, o desempenho elevado da degradação do FVW_L pode ser comparado, de forma equivalente, com os valores da cinética da degradação de DQO e produção de CH₄ do ensaio com glicose (Tabela 5). Por outro lado, as diferenças nos valores de ajuste encontrados para as variáveis M_0 , R_m e B_0 do ensaio com FVW_L e do ensaio com açúcar podem ser explicados pela rápida metanização de substâncias fermentadas naturalmente presentes neste tipo de substrato (Tabela 3) (Figura 21).

Figura 21 - Ajuste cinéticos baseados no modelo de degradação (A e B) e em Gompertz (C e D) para os dois grupos de ensaios realizados com glicose e FVWL.

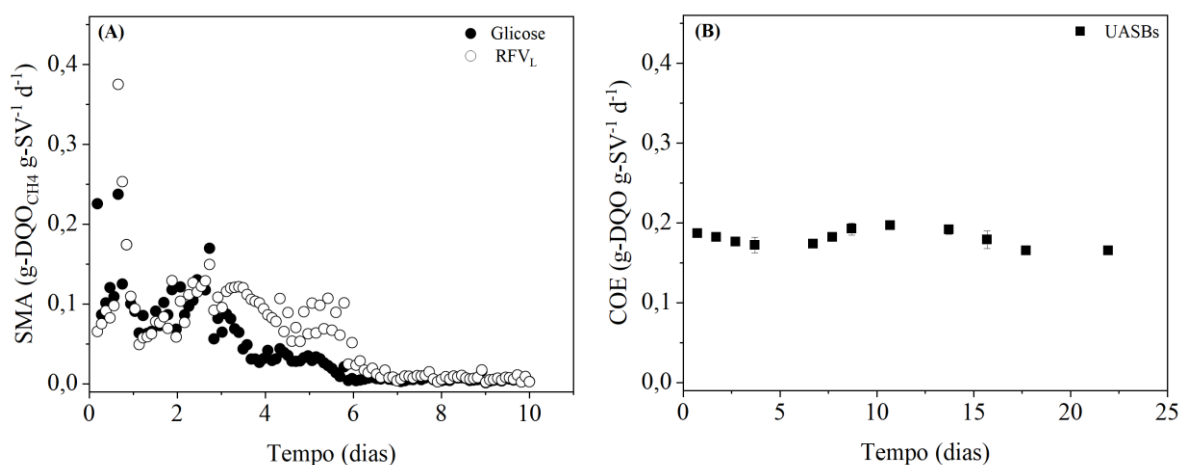


3.3.2 Aplicação da SMA para a partida dos reatores UASB

Os valores da SMA do ensaio em batelada com glicose ($0,237 \text{ g-DQO}_{\text{CH}_4} \text{ g-SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e do ensaio em batelada com FVWL ($0,375 \text{ g-DQO}_{\text{CH}_4} \text{ g-SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) foram diferentes. Ambos os valores de SMA são consistentes com os relatados na literatura para lodo anaeróbio ativo (HUSSAIN; DUBEY, 2017), indicando que o lodo de cervejaria é uma fonte de inóculo promissora para a degradação de FVWL. Tais resultados reforçam o uso de lodo de cervejaria para a partida de reatores contínuos alimentados com FVW. Por outro lado, os valores de SMA encontrados para o ensaio FVWL foram mais dispersos do que os do ensaio com glicose (Figura 22), mostrando um pico isolado no início do processo de degradação. Este pico se

deve à presença de AGV prontamente disponível no FVW_L . Consequentemente, este comportamento deve ser levado em consideração quando o valor de SMA for aplicado para o dimensionamento de outras variáveis operacionais atreladas ao lodo.

Figura 22 - SMA para ensaio com açúcar (glicose) e ensaio com FVW_L (A) em paralelo com valores médios para COE para o período de inicialização em reatores UASB (B).



O uso da SMA para estimar a COV_0 em reator UASB é recomendado por estudos recentes (GONZALEZ-TINEO et al., 2020; MOHAN e SWATHI, 2021). No entanto, para evitar distúrbios metabólicos e incertezas devido à transferência de massa (comportamento cinético) entre o ensaio em batelada e o experimento contínuo, é aconselhável manter a COE abaixo da SMA máxima do lodo de inóculo. Portanto, para encontrar uma COV_0 minimizada, um C_a de 0,5 foi aplicado à SMA encontrada para o ensaio contendo FVW_L com lodo floculento de cervejaria (C_a de 0,8 equivalente à SMA do ensaio com glicose). Um estudo de revisão enfatizou a importância do uso de um C_a variando de 0,6 a 0,8 à SMA aplicada para o dimensionamento adequado da COV_0 em reatores UASB alimentados com substratos complexos (MOHAN e SWATHI, 2021). A aplicação destes conceitos possibilitou encontrar uma COV_0 de $1,8 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Esta COV_0 foi fixada para a partida de ambos os reatores UASB alimentados com FVW_L , mantendo uma COE equivalente à SMA amortecida (Figura 22). Isso resultou em um TDH de cerca de 3 d, o qual foi mantido durante toda a operação dos reatores UASB. A COV_0 baixa em ambos os reatores UASB aliado à alta biodegradabilidade

do FVW_L garantiu um período de partida curto (22 d) (Figura 22) em comparação com alguns estudos (AMORIM et al., 2018; GANESH et al., 2014). Por exemplo, Amorim et al. (2018) identificaram um período de partida de 27 dias durante a operação de um reator UASB alimentado com resíduo de mandioca sob COV_0 de $1,5 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Para a metanização de FVW, Ganesh et al. (2014) propuseram uma COV_0 mais elevadas ($5,8 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) durante a operação de reatores contínuos alimentados com FVW pré-acidificado, revelando que a estratégia de acidificação reduziu significativamente o período de adaptação (15 d) comparado com a monodigestão (78 d).

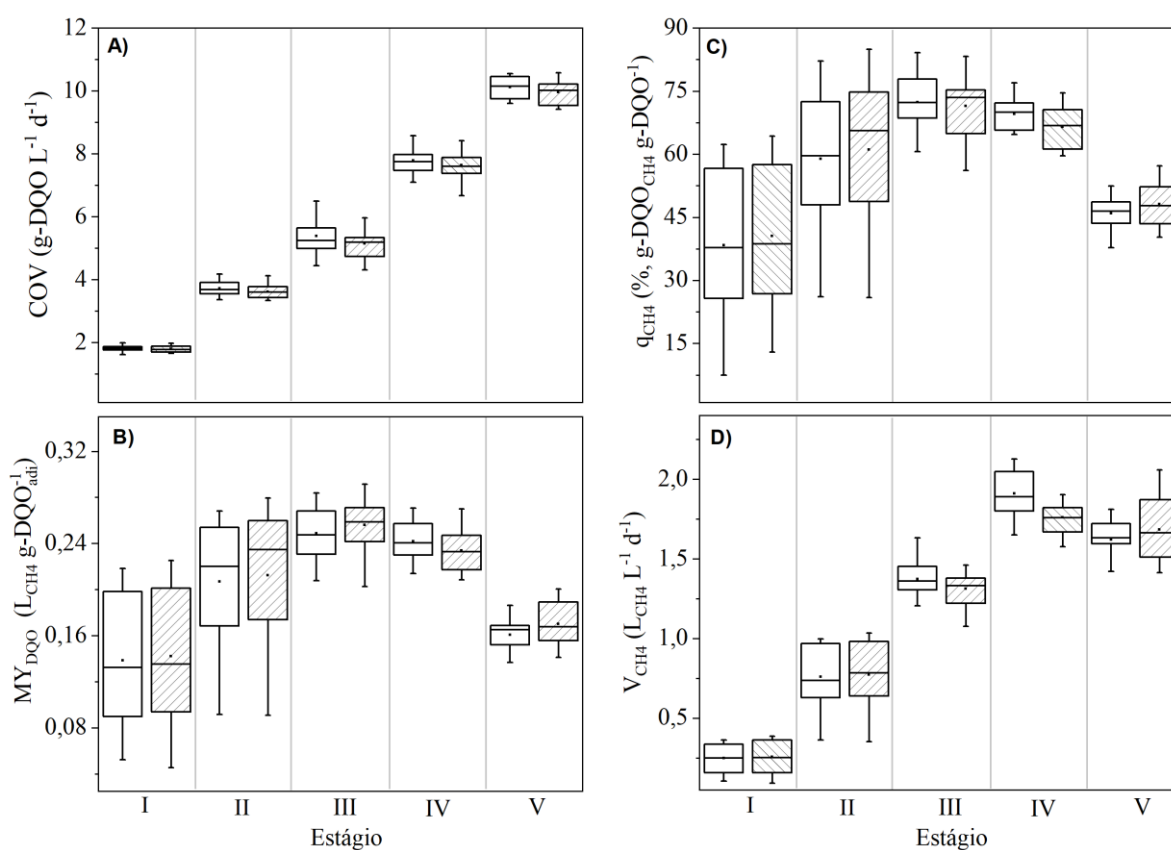
Aplicações bem-sucedidas de variáveis operacionais de ensaio de SMA para a partida de reator UASB são descritas na literatura (VADLANI; RAMACHANDRAN, 2008; HUSSAIN e DUBEY, 2017; GONZALEZ-TINEO et al., 2020). No entanto, a maioria dos estudos propõe a estimativa de COV_0 por meio dos dados de SMA extraídos de ensaio em batelada com acetato ou com H_2/CO_2 . Porém, a SMA baseada nesses substratos expressa apenas a capacidade do lodo para metanogênese acetoclástica e hidrogenotrófica, ignorando o processo sintrófico de acetogênese e acidogênese que precede a metanogênese. Assim, para o uso de SMA em partida de reatores contínuos com substratos complexos, recomenda-se realizar ensaios de SMA com glicose em paralelo com ensaios usando o substrato (critério de comparação). Vale ressaltar que a condução de ensaios com SMA do substrato não exclui os realizados com acetato ou com H_2/CO_2 , podendo estes serem realizados em concomitância para uma análise de potencial metanogênico mais ampla. De acordo com dados relatados por Yan et al. (1997), ensaio de SMA alimentados com monossacarídeos e dissacarídeos permite um melhor diagnóstico da estimativa da atividade acidogênica e metanogênica de um lodo. Portanto, a comparação dos resultados de SMA com glicose com os resultados de SMA realizados com substrato complexo permite inferir um C_a mais preciso para o dimensionamento de COV_0 , evitando distúrbios operacionais e agressivos (sobrecarga) durante o período de partida.

3.3.3 Desempenho da operação dos reatores UASB

A Figura 23 apresenta os dados em box-plot para os dois reatores UASB operados em paralelo, incluindo o período de partida. As quatro elevações de COV aplicada em ambos os reatores não apresentou diferença significativa para todas as etapas operacionais, resultando

em um p -valor $> 0,05$ (Figura 23;A). Diante desse comportamento, os resultados das variáveis operacionais obtidos em ambos os reatores podem ser comparados diretamente. Portanto, conforme apresentado na Figura 23, não houve diferença significativa nos valores de MY_{DQO} , q_{CH_4} e V_{CH_4} identificados em ambos os reatores (p -valor $> 0,05$), garantindo a reprodutibilidade do experimento com o FVW_L .

Figura 23 - Apresentação dos dados em box-plot para COV (A), MY (B), q_{CH_4} (C) e V_{CH_4} (D) de ambos os reatores UASB operados em paralelo para os cinco estágios (dados operacionais diários na Figura-Anexo- E).



Dentre todos os estágios operacionais, o estágio II proporcionou a maior dispersão para os valores de MY_{DQO} (Figura 23; B) e q_{CH_4} (Figura 23; C). Isso se deve ao choque de COV administrado após o período de partida, o qual causou uma queda na produção de CH_4 durante os primeiros dias de operação do estágio II (Figura-Anexo- E). Todavia, é possível observar

que houve uma duplicação da COV_0 de 1,8 para 3,6 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ do estágio I para o estágio II. De acordo com Musa et al. (2018), o aumento rápido da COV em reator UASB tende a reduzir a produção de CH₄ nos primeiros dias de operação. Portanto, para uma análise mais consistente das variáveis operacionais adquiridas nos reatores UASB (admitindo não haver diferença significativa entre eles), todas as variáveis de resposta foram interpretadas em cada estado quase-estacionário para todos os estágios (Tabela 6), sendo a média dos dois reatores.

Tabela 6 - Média e coeficiente de variação (CV₁₀ em parênteses) das variáveis de respostas obtidas em ambos os reatores UASB para as etapas operacionais em regime quase estacionário

Variável	unidade	operação em estágio quase estacionário			
		II	III	IV	V
COV	g-DQO L ⁻¹ d ⁻¹	3,7 (7,7)	5,4 (9,1)	7,7 (3,5)	10,2 (1,8)
COV ^(a)	g-SV L ⁻¹ d ⁻¹	2,5 (10)	3,4 (14)	4,0 (11)	7,2 (10)
AI:AP	-	0,22 (4,5)	0,23 (8,6)	0,24 (9,1)	0,60 (20,2)
V _{CH4}	L _{CH4} L ⁻¹ d ⁻¹	1,0 (1,7)	1,5 (4,1)	1,89 (4,8)	1,8 (11,2)
MY _{DQO}	L _{CH4} g-DQO _{add} ⁻¹	0,256 (4,6)	0,257 (9,5)	0,240 (5,0)	0,177 (10,1)
MY _{/SV} ^(a)	L _{CH4} g-SV _{ad} ⁻¹	0,401 (6,0)	0,421 (6,9)	0,448 (8,1)	0,251 (9,3)
q _{CH4}	%, g-DQO _{CH4} g-DQO ⁻¹	76,6 (8,5)	78,6 (7,1)	70,1 (4,2)	50,4 (10,1)

Nota: carga orgânica volumétrica (COV); razão alcalinidade intermediária pela parcial (AI:AP); produção volumétrica de CH₄ (V_{CH4}); rendimento de CH₄ (MY); quociente de conversão de DQO_{CH4} (q_{CH4}); (a) variável de resposta em massa de SV no afluente FVW_L.

Os resultados obtidos em estado quase estacionário para os estágios II, III e IV mostraram médias de MY_{DQO} e MY_{/SV} de 0,251 L_{CH4} g-DQO⁻¹ e de 0,420 L_{CH4} g-SV⁻¹, respectivamente (Tabela 6). Em um CSTR alimentado com FVW oriundo de mercado atacadista, Edwiges et al. (2018b) relataram valores médios de MY_{/SV} de 0,285 L_{CH4} g-SV⁻¹, o que é 30% inferior aos valores encontrados para os três primeiros estágios de operação em estado quase estacionário dos reatores UASB alimentados com FVW_L. De acordo com Shen et al. (2013), a aplicação de uma COV baixa (<2,0 g-SV L⁻¹ d⁻¹) em um reator anaeróbio de

mistura completa (CSTR) de estágio único alimentado com FVW garantiu o maior desempenho de produção de CH_4 . No entanto, Arhoun et al. (2019) processou FVW oriundo de mercado atacadista em um CSTR com TDH de 20 d e COV máxima de $\sim 4,8 \text{ g-SV L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, relatando V_{CH_4} de $\sim 2,0 \text{ L}_{\text{CH}_4} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Embora os autores justifiquem os elevados rendimentos em virtude do alto grau de mistura utilizado no sistema, as variáveis de respostas ainda são inferiores às encontradas para as mesmas condições aplicadas aos reatores UASB alimentados com FVW_L (Tabela 6), incluindo o baixo TDH (3 d). Edwiges et al. (2018b) operaram um CSTR com COV de $3,0 \text{ g-SV L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, encontrando uma V_{CH_4} 22% menor ($1,55 \text{ L}_{\text{CH}_4} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) do que a encontrada para os reatores UASB alimentados com FVW_L. Portanto, o FVW_L produzido neste estudo garantiu o aumento da COV para níveis superiores aos aplicados em CSTR (variando de 1,0 a $5,0 \text{ g-SV L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) (FAGBOHUNGBE et al., 2015).

O aumento da COV para $7,2 \text{ g-SV L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($\sim 10 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) causou instabilidade na digestão do FVW_L em relação às etapas anteriores (Figura 23 e Figura-Anexo- E). Durante o estágio V, a alcalinidade intermediária (AI - alcalinidade ácida) aumentou para níveis em que a razão entre a alcalinidade parcial (AP - alcalinidade do bicarbonato) indicava acúmulo de ácidos (AI:AP > 0,5) (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986). Vários estudos mostram acúmulo de ácido com base na análise da razão IA:PA em reatores anaeróbios operados com FVW, indicando instabilidades para razões IA:PA superiores a 0,5 (EDWIGES et al., 2018b; ARHOUN et al., 2019; MOZHIARASI; WEICHHGREBE; SRINIVASAN, 2020). Apesar do aumento da adição externa de alcalinidade de 0,3 para $0,7 \text{ g-NaHCO}_3 \text{ g-DQO}^{-1}$, o desequilíbrio operacional e acúmulo de ácidos não foi revertido no estágio V. Além disso, o q_{CH_4} diminuiu 26% em relação às etapas anteriores (Tabela 6), indicando instabilidades da digestão anaeróbia devido a uma possível condição de sobrecarga. Vale ressaltar que a adição demasiada de NaHCO_3 em função da DQO adicionada pode gerar acúmulo de sais no sistema, acarretando outro problema de natureza metabólica (excesso de sais). Por esta razão, amostras de ambos os reatores foram coletadas para análise de viabilidade do lodo de acordo com as descrições operacionais nas seções 3.2.2 e 3.2.3.

3.3.4 Limitações operacionais

A concentração de SV do lodo extraído de ambos os reatores, no estágio V, foi de $16,1 \pm 0,2 \text{ g-SV L}^{-1}$, resultando em uma COE de aproximadamente $0,620 \text{ g-DQO g-SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. A

COE foi 26% maior que a SMA encontrada para o lodo dos reatores UASB alimentados com FVWL (0,400 g-DQO_{CH4} g-SV⁻¹ d⁻¹). A comparação direta entre a COE e a SMA revela que a COV aplicado no estágio V superou a capacidade do lodo de processar o FVWL. A Tabela 7 apresenta outras variáveis operacionais relacionadas ao lodo extraído dos reatores UASB durante o estágio V.

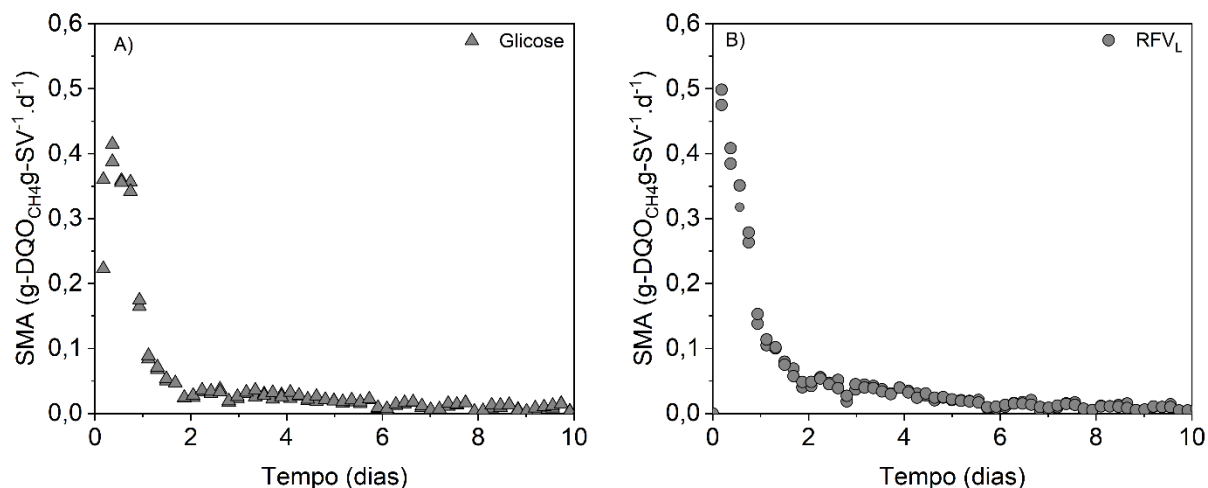
Tabela 7 - Resumo das variáveis operacionais encontradas para o lodo do reator UASB alimentado com glicose e com FVWL (equação 1 a 5).

	SMA	BMP	BMP _{/SV}	M ₀	R _m	B ₀	k _h	r _h
Alimento	g-DQO _{CH4} kg- SV ⁻¹ d ⁻¹	mL _{CH4} g- DQO ⁻¹	mL _{CH4} g- SV ⁻¹	mL _{CH4}	mL _{CH4} d ⁻¹	mL _{CH4} g- DQO ⁻¹	d ⁻¹	g-DQO L ⁻¹ d ⁻¹
Glucose	0,400	-	-	105,9	189,0	230,4	1,5	3,6
FVWL	0,490	280,0	470,3	131,9	118,6	273,0	1,1	2,8

Nota: Nota: SMA é a atividade específica do metano, BMP é o potencial do biometano, BMP_{/SV} é o potencial CH₄ em função do sólido volátil total do substrato (relação DQO:SV de 1,68 g-DQO g-SV⁻¹), M₀ é a produção máxima de CH₄, R_m é a velocidade máxima de produção de CH₄, B₀ é a produção final de CH₄ por DQO adicionada, k_h é o coeficiente de degradação de primeira ordem e r_h é a velocidade de degradação do substrato.

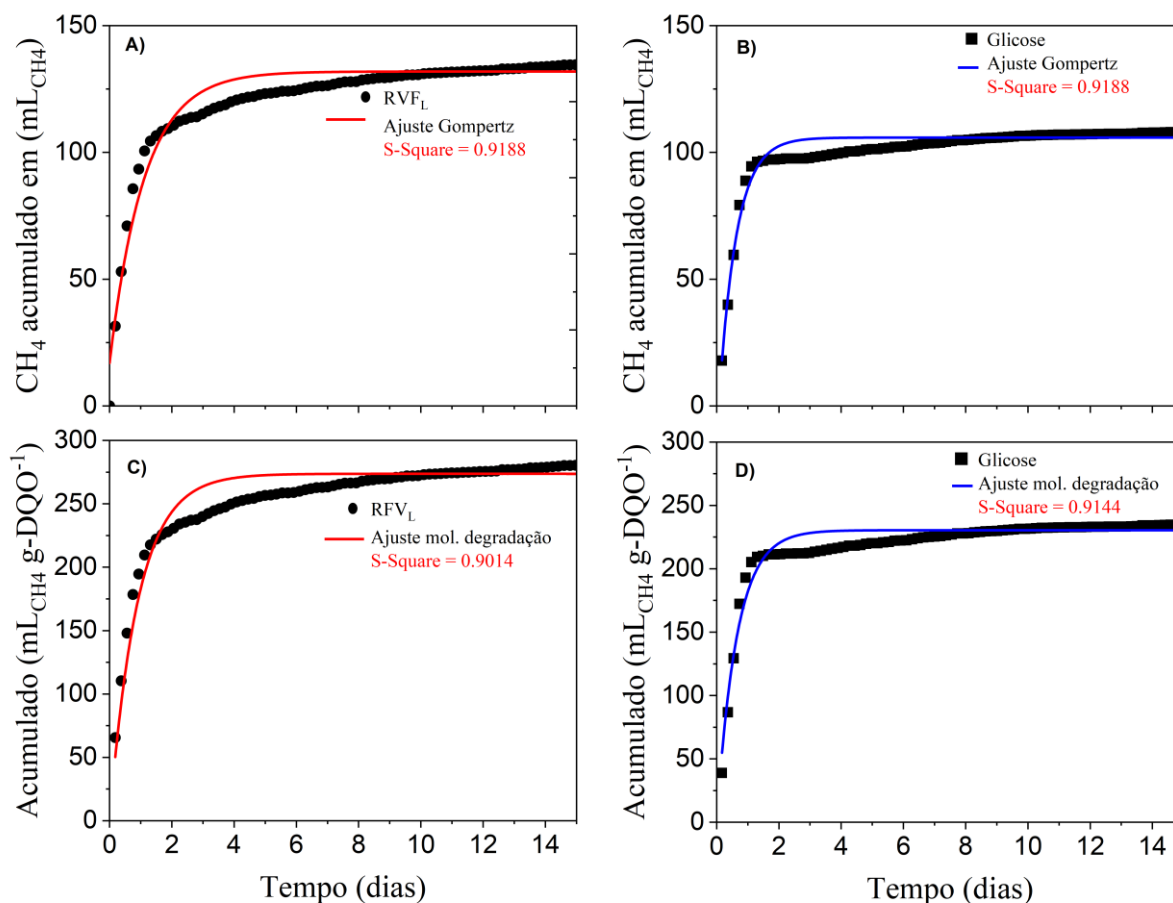
Quando os dados da Tabela 5 são comparados aos dados da Tabela 7, pode-se observar diferenças consistentes nas variáveis ajustadas entre os ensaios em batelada com inóculo e os ensaios em batelada com lodo adaptado (extraído dos reatores UASB ao fim do estágio V). O valor máximo para a SMA dos ensaios alimentados com glicose e alimentados com FVWL com lodo extraído dos reatores UASB foram 31 % e 30 % maiores do que os dos ensaios como inóculo, respectivamente (Figura 24 vs Figura 22). Estes valores revelam que o lodo aumentou sua atividade metanogênica em proporções equivalentes para ambos os substratos analisados.

Figura 24 - Atividade metanogênica específica (SMA) com lodo dos reatores UASBs operados até o estágio V usando como substrato: glicose (A) e FVW_L (B).



Uma perspectiva mais ampla sobre o aumento da SMA ao longo da operação foi apresentada por Vadlani e Ramachandran, (2008), os quais observaram aumento proporcional da SMA com o aumento da COV. Os autores operaram um reator UASB alimentado com glicose e relataram o aumento na SMA de 0,07 para 0,21 g-DQO_{CH4} g-SV⁻¹ d⁻¹ durante uma COV operacional próxima a 11 g-DQO L⁻¹ d⁻¹. Embora o estágio V apresente aspectos limitantes mostrados pela diminuição do MY_{DQO} e pela queda do q_{CH4}, a capacidade elevada de degradação do lodo dos reatores UASB pode ser atestada pelo aumento na velocidade de degradação (r) e pelo valor de R_m encontrado para o ensaio com FVW_L em comparação com o mesmo ensaio usando lodo do inóculo (Figura 25 vs Figura 21). Por outro lado, a V_{CH4} em condição operacional de estado quase estacionário manteve-se estável entre os estágios IV e V (Tabela 5), denotando uma possível limitação do lodo quanto a produção de CH₄ em COV entre 7,7 e 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹.

Figura 25 - Ajuste cinéticos baseados em Gompertz (A e B) e degradação (C e D) para os dois grupos de ensaios realizados com FVWL e açúcar (glicose) para o lodo extraído dos reatores UASBs.



Para identificar a COV máxima admissível no reator UASB, é necessário aplicar um C_a igual a 1 à equação 10. Com isso, os reatores UASB seriam capazes de processar uma COV teórica de aproximadamente $8,0 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Provavelmente, esta é a capacidade máxima de carregamento admitida para os reatores UASB inoculados com lodo floculento e alimentado com FVWL sob TDH de ~ 3 d. Há muitas evidências na literatura que apoiam as suposições de que o lodo floculento mantém velocidades de processamento de material carbonáceo mais baixas. Por exemplo, em reatores UASB, a biomassa floculenta tende a suportar menor COV com pior desempenho de tratamento em comparação com a biomassa granular (GHANGREKAR; ASOLEKAR; JOSHI, 2005; WANG et al., 2019b, 2020d). Além

disso, o aumento do teor de sólidos tende a interferir nos processos de hidrólise (YI et al., 2014), estimulando a flotação e lavagem de lodo não granular sob condição de COV elevada (SABRY, 2008; YI et al., 2014).

3.3.5 Desafios e perspectivas para o processo FVW em reator UASB

Os reatores UASB operados neste trabalho foram alimentados com FVW_L, que apresentou razão DQO para SV ($R_{DQO/SV}$) entre 1,46 e 1,99 g-DQO g-SV⁻¹. Ou seja, diferenças na origem ou composição do FVW podem levar à geração de substratos com maior ou menor massa de DQO por massa de SV, não seguindo uma estequiometria equivalente. Segundo Angelidaki et al. (2011), o tipo e a origem da biomassa podem apresentar diferentes valores de $R_{DQO/SV}$ decorrente da sua composição majoritária ($SV_{lipídeos} > SV_{proteína} > SV_{carboidrato}$). Além disso, o parâmetro termogravimétrico de medição de sólidos voláteis oferece instabilidade em seu procedimento analítico, principalmente devido à presença de substâncias voláteis como ácidos e solventes que são perdidas durante a etapa de desidratação (ANGELIDAKI et al., 2009). Contudo, o FVW_L gerado neste estudo permitiu a análise com base na DQO, facilitando um melhor monitoramento da operação dos reatores UASB. Vale ressaltar que a DQO é uma variável estequiométrica que elimina a necessidade de usar a concentração SV como uma variável operacional. No entanto, a maioria dos trabalhos publicados baseiam-se na concentração de SV afluente como variável de referência. Isso se deve à dificuldade de acesso a DQO em resíduos com teor de particulados elevado.

3.4 Conclusões parciais

3.4.1 Conclusões parciais

O FVW_L forneceu alto potencial de metanização revelado por um BMP de $\sim 0,320 \text{ L}_{CH_4} \text{ g-DQO}^{-1}$ ($\sim 0,470 \text{ L}_{CH_4} \text{ g-SV}^{-1}$). Ensaio em batelada com FVW_L forneceram suporte para entender o processo de metanização nos reatores UASB. Com isso, a partida do reator UASB baseado em SMA permitiu um rápido desempenho de degradação do FVW_L. O reator UASB pôde ser operado com sucesso até um aumento de COV próximo de $8,0 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ com V_{CH_4} próximo a $2,0 \text{ m}^3\text{-CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. O alto potencial de metanização do FVW_L em um reator de alta taxa complementa com sucesso parte do tratamento do FVW. Por fim, a estratégia de

separação de fases adotada neste estudo fornece informações sobre a capacidade de digestão de volumes maiores de FVW, possibilitando, ainda, redimensionar o bioprocessamento de FVW em duas linhas de disposição diferentes: i) compostagem ou metanização de resíduos sólidos em digestores anaeróbios secos e ii) digestão da fração líquida em um reator anaeróbio convencional de alta taxa.

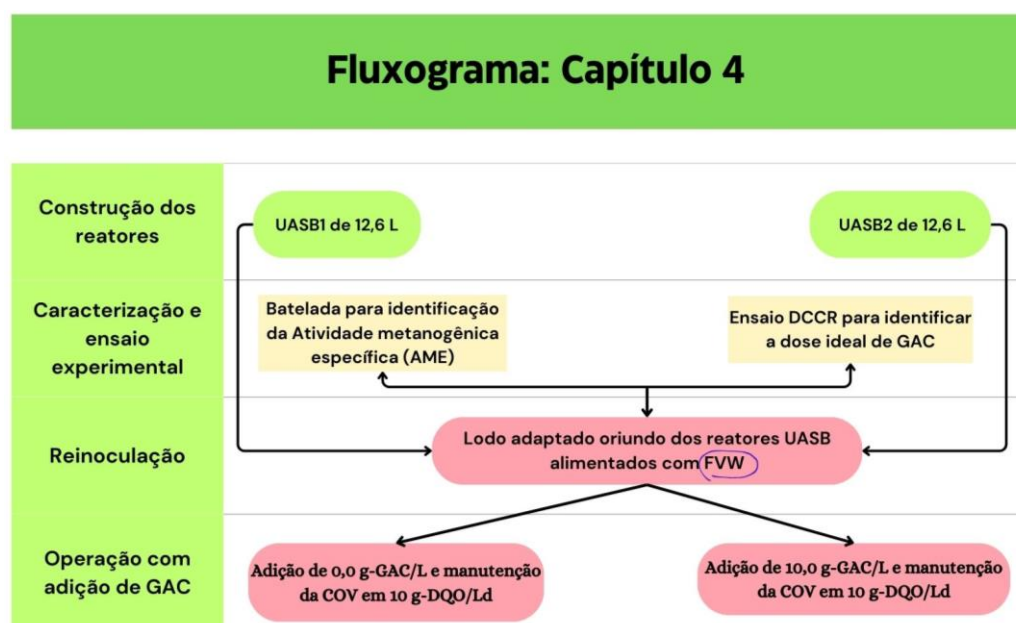
CAPÍTULO 4:
CARVÃO ATIVADO GRANULAR (GAC) EM REATOR UASB
ALIMENTADO COM A FRAÇÃO LÍQUIDA DE RESÍDUOS DE
FRUTAS E VERDURAS (FVWL)

4. CAPÍTULO 4: GAC EM REATOR UASB ALIMENTADO COM FVW_L

4.1 Suporte científico e metodológico

Nesta seção assumiu-se a hipótese de que há uma dose ideal de GAC (do inglês: *Granular Activated Carbon*- GAC) (administrada em um dos reatores UASB) capaz de amortecer o estresse operacional da carga orgânica volumétrica (COV) limite encontrada com a fração líquida do FVW_L (do inglês: *Fruit and Vegetable Waste* - FVW) (10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹). Os detalhes operacionais estão descritos na seção 4.2.3. Além disso, aponta-se a sub-hipótese de que o aumento da produção de metano (CH₄) em reatores metanogênicos conduzidos com o princípio do mecanismo de DIET (do inglês: *Direct Interspecies Electron Transfer* – DIET) depende da dose de material condutor e da relação alimento microrganismos (F/M) definida em ensaio em batelada. Portanto, este capítulo tratará dos aspectos metodológicos administrados após o período de estresse metabólico (sobrecarga) identificado no capítulo 3 (seção 3). A Figura 26 apresenta o fluxograma da operação dos reatores UASB descrita neste capítulo.

Figura 26 -Fluxograma da operação dos reatores UASB operados no capítulo 3 desta tese



Fonte: o autor

É importante salientar que a estrutura deste capítulo faz parte de um artigo que será submetido à publicação com o seguinte título: *Outstanding reinforcement of DIET in UASB reactor operating with fruit and vegetable waste for reversal of metabolic stress under overload condition.*

4.2 Material e método

4.2.1 Reatores UASB

A digestão do FVW_L foi realizada em dois reatores UASB (do inglês: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB) idênticos construídos em vidro borossilicato com volume de 12,6 L, diâmetro de 0,10 m e altura de 1,35 m (Figura 20). Ambos os reatores foram operados em paralelo por 240 dias sob as mesmas condições operacionais de temperatura (31±4°C), alimentação (FVW_L diluído), bicarbonato de sódio (NaHCO₃) como tampão externo (0,30 0,70 g-NaHCO₃ por g-DQO afluente) e tempo de detenção hidráulica (TDH) (~3 d). A COV foi aumentada nos estágios: I (1,8 g-DQO L⁻¹ d⁻¹), II (3,3 g-DQO L⁻¹ d⁻¹), III (5,5 g-DQO L⁻¹ d⁻¹), IV (7,5 g-DQO L⁻¹ d⁻¹) e V (10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹). Após os 240 dias de operação, os reatores UASB passaram por análise do perfil vertical de lodo (seção 4.2.3). Em seguida, foi adotado uma pausa de 5 dias para amostragem e reinoculação. Neste período de pausa, todo o conteúdo de ambos os reatores foi transferido para um único recipiente para a coleta de amostras homogêneas. Após a mistura, amostras de lodo foram removidas para os ensaios em batelada objetivados em identificar a dosagem de GAC ideal para a degradação do FVW_L com o lodo adaptado ao substrato.

4.2.2 Montagem dos ensaios em batelada

Os ensaios de produção de CH₄ com FVW_L sob diferentes doses de GAC foram realizados em um respirômetro anaeróbio (detalhes operacionais na seção 3.2.2). Os ensaios foram conduzidos em triplicata sob condição constante de: temperatura (30°C), agitação (120 RPM), concentração de FVW_L (2,5 g-DQO L⁻¹) e volume reacional (0,2 L). O

experimento foi realizado de acordo com o planejamento experimental do tipo Delineamento do Composto Central Rotacional (DCCR) com duas variáveis (2^n ; $n=2$, $\pm \alpha 1,41$), sendo oito ensaios e três repetições no ponto central expandido por 4 ensaios axiais codificados por α , totalizando 33 ensaios (Tabela 8).

Tabela 8 - Descrição das componentes dimensionadas para os ensaios DCCR em função das variáveis dependentes: concentração de GAC e a relação F/M (do inglês: *food to microorganism ratio* – F/M).

Ensaio	Codificação das variáveis				Arranjo
	X	[GAC]	Y	F/M	
A	+1	17,1	-1	0,51	+1 / -1
B	+1	17,1	+1	1,49	+1 / +1
C	-1	2,9	-1	0,51	-1 / -1
D	-1	2,9	+1	1,49	-1 / +1
E	+1,414	20	0	1	+1,414 / 0
F	-1,414	0	0	1	-1,414 / 0
G	0	10	+1,414	1,7	0 / +1,414
H	0	10	-1,414	0,3	0 / -1,414
I	0	10	0	1	0 / 0
J	0	10	0	1	0 / 0
K	0	17,1	0	1	0 / 0

A variável dependente (MY_{DQO} em $mL_{CH_4} g-DQO^{-1}$) obtida entre a interação das variáveis dependentes definidas como razão F/M e concentração de GAC ($g L^{-1}$) foram analisadas por meio do Método de Superfície de Resposta (MSR). O cálculo da precisão dos dados experimentais foi ajustado com a inclusão dos resultados obtidos nas repetições no ponto central definido no modelo DCCR. Os efeitos das interações das duas variáveis para o MY_{DQO} foram avaliados conforme a hipótese nula com grau de liberdade de 95%. O coeficiente de regressão (R^2) foi utilizado para avaliar o nível de ajuste do model. As

variáveis dependentes e independentes foram plotadas de acordo com a equação quadrática polinomial (Equação 20):

$$Z = \beta_0 + \beta_1X + \beta_2Y + \beta_3X^2 + \beta_4Y^2 + \beta_5XY \quad (20)$$

na qual, Z é o rendimento de metano por massa de DQO adicionada (variável dependente), X e Y são as variáveis independentes (GAC e F/M), β_0 é a constante, β_1 e β_2 são coeficientes lineares, β_3 e β_4 são coeficientes quadráticos e β_5 é o coeficiente de interação. A análise de variância (ANOVA), a plotagem de superfícies de resposta e a plotagem bidimensional (2D) do contorno experimental foram realizadas usando o software STATISTICA 9.0.

A validação do modelo foi feita por meio da montagem de um experimento com a dose de GAC ideal para uma razão F/M de 0.5. Os ensaios foram conduzidos em triplicata sob condição constante de: temperatura (30°C), agitação (120 RPM), DQO (2,5 g-DQO L⁻¹) e volume reacional (0,2 L). Admitiu-se ainda uma duplicata sem a adição de GAC como controle positivo.

4.2.3 Operação dos reatores UASB: adição de GAC

Após o período de pausa na operação dos reatores UASB, o lodo de ambos os reatores foi misturado e separado em partes iguais para a reinoculação dos reatores UASB. A COV em ambos os reatores foi mantida em 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹, mantendo-se as condições operacionais do estágio V. Porém, um dos reatores recebeu a dosagem de GAC ideal definida de acordo com o resultado do planejamento experimental descrito na seção 4.2.2. O GAC utilizado tinha diâmetro de 1-2 mm e densidade média de 0,55 g cm⁻³. O período de operação dos reatores UASB sob as condições definidas no estágio V foi denominado de estágio VI. A COV de 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ foi fixada até a obtenção de uma resposta de estado quase estacionário, seguindo os critérios definidos na seção 3.2.7. Após esta etapa, a COV foi reduzida para 7,7 g-DQO L⁻¹ d⁻¹, uma vez que esta COV foi identificada como aproximadamente ideal para a degradação do FVW_L em reatores UASB com lodo floculento.

4.2.4 Monitoramento, cálculos e análises

O monitorado de ambos os reatores seguiu as mesmas descrições definidas no item 3.2.6, incluindo as variáveis adquiridas por meio das equações da Tabela 4. Para a inserção do GAC nos sistemas anaeróbios foi necessário a lavagem em água deionizada de acordo com o descrito por Jin et al. (2022).

O perfil de sólidos em ambos os reatores UASB foi realizado com o auxílio de uma seringa de 60 mL, a qual foi acoplada a cada um dos 5 pontos de coleta dispostos verticalmente (P1, P2, P3, P4 e P5), incluindo uma amostra da base (P0) e outra do separador ao topo do reator UASB (P6). A amostragem decorreu-se no sentido descendente e contrário ao fluxo de alimentação. Durante a coleta, a bomba de alimentação foi mantida ligada para não interferir na expansão do leito floculento dos reatores UASB. Após a coleta, as amostras passaram por análise de sólidos para identificar o conteúdo de biomassa ativa no sistema.

As variáveis de monitoramento, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), pH e alcalinidade foram mensuradas seguindo os métodos descritos em APHA, (2005). O fluxo de gás foi quantificado por meio de um medidor de gás do tipo tambor (Ritter Apparatebau GmbH & Co. KG., Bochum, Alemanha – TG-0,5). As concentrações de CH₄, dióxido de carbono (CO₂) e nitrogênio (N₂) foram quantificadas por cromatografia gasosa (C2V-200 micro-GC; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA).

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Pré-operação dos reatores UASB

Foi identificado que os reatores UASB tinham em seu volume reacional um total de biomassa de aproximadamente 130 g-SV ($16,1 \pm 0,2$ g-SV L⁻¹). De acordo com a Tabela 9, o perfil de sólidos dos reatores revelou que ambos não apresentaram diferenças estatísticas quanto ao conteúdo de biomassa ao nível de significância de 95% (p-valor >0,05), ratificando os dados discutidos no capítulo 3 desta tese.

Tabela 9 – Análise da equidade do perfil de sólidos voláteis dos reatores UASB operados até o estágio V (após a operação descrita no capítulo 3).

Amostra	UASB 1 (g-SV L ⁻¹)	UASB2 (g-SV L ⁻¹)	Test-F (p-valor)*	Test-T (p-valor)**
P0-base	20.940	21.182		
P1	18.931	22.336		
P2	19.311	18.734		
P3	18.041	18.065	0,895	0,466
P4	19.351	20.073		
P5	18.196	19.907		
P6-Topo	17.924	19.348		
Média	132.67	139.64		

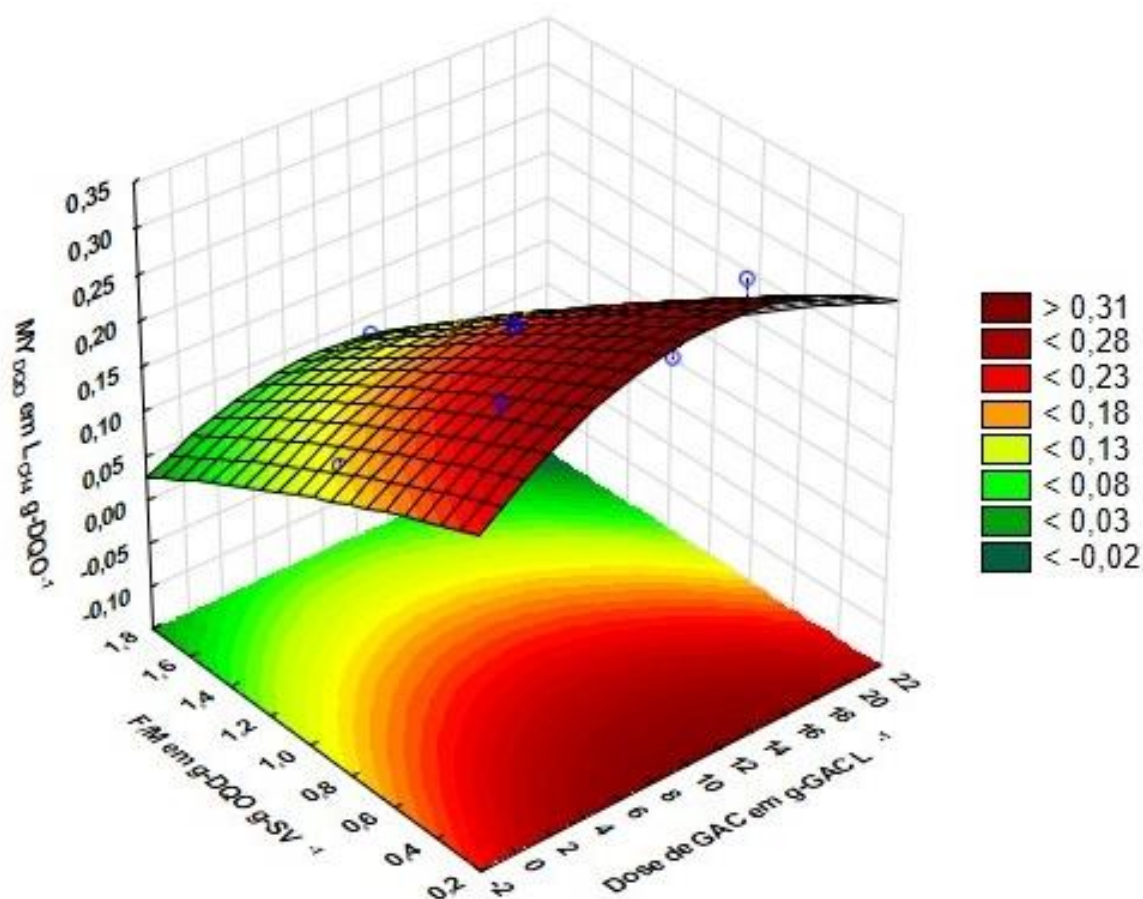
Nota: (*) teste da igualdade de variância entre as distribuições de dados, (**) teste de igualdade de média entre as distribuições de dados.

Após a mistura dos lodos de ambos os reatores UASB e análise das variáveis atreladas à biomassa flocculenta, foi identificada uma carga orgânica específica (COE) de aproximadamente 0,620 g-DQO g-SV⁻¹ d⁻¹ e uma SMA (do inglês: *Specific Methanogenic Activity* - SMA) de 0,400 g-DQO_{CH₄} g-SV⁻¹ d⁻¹ para FVW_L. Em seguida, os reatores foram re-inoculados com as mesmas quantidades de inóculo, admitindo as mesmas condições operacionais de alimentação do estágio V (COV de 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ e DQO afluente de 30 g-DQO L⁻¹). Esta etapa foi chamada de estágio VI, no qual manteve-se a condição de sobrecarga em ambos os reatores. A operação dos reatores UASB sob condição de estresse foi detalhada na seção do capítulo 3, acolhendo as informações do ensaio de DCCR (seção 4.3.2) sobre a dose ideal de material condutor a ser adicionada no reator UASB.

4.3.2 O planejamento experimental

Os dados do planejamento experimental que relaciona a variável dependente MY_{DQO} às variáveis independentes dose de GAC e razão F/M são apresentados no gráfico de superfícies resposta da Figura 27.

Figura 27 - Gráfico de superfície resposta para o MY_{DQO} em função da concentração de GAC e da relação F/M para os ensaios DCCR alimentados com FVW_L (após a operação descrita no capítulo 3).



De acordo com a análise ANOVA, a plotagem de superfície de resposta da Figura 27 resultou na Equação 21, a qual apresentou um R^2 de 0,962. De acordo com a Equação 21, as predições de MY_{DQO} máxima para F/M variando entre 0,2 e 1,0 g-DQO g-SV⁻¹ admite doses de GAC entre 11,6 e 9,8 g-GAC L⁻¹ (Tabela 10). Por sua vez, a calibração do modelo admitindo um ensaio com 11 g-GAC L⁻¹ e razão F/M igual a 0,5 DQO g-SV⁻¹ não apresentou diferença estatística entre si e, tampouco com o previsto pela equação 22 (p-valor <0,5). Ou seja, com nível de confiança de 95%, é possível afirmar que o modelo foi adequado para a previsão da MY_{DQO} máxima em função da dose de GAC com o lodo anaeróbio proveniente dos reatores UASB operados por 240 dias com FVW_L .

$$Z = 0,2652 + 0,0138X - 0,0953Y - 0,00057X^2 - 0,0146Y^2 + 0,00254XY \quad (21)$$

Tabela 10 – Previsão/predição da MY_{DQO} máxima (variável Z) em função da dose ideal de GAC (variável Y) e da razão F/M de acordo com a Equação 21, incluindo a verificação/calibração com a duplicada sem adição de GAC e uma triplicata admitindo a adição ideal de GAC.

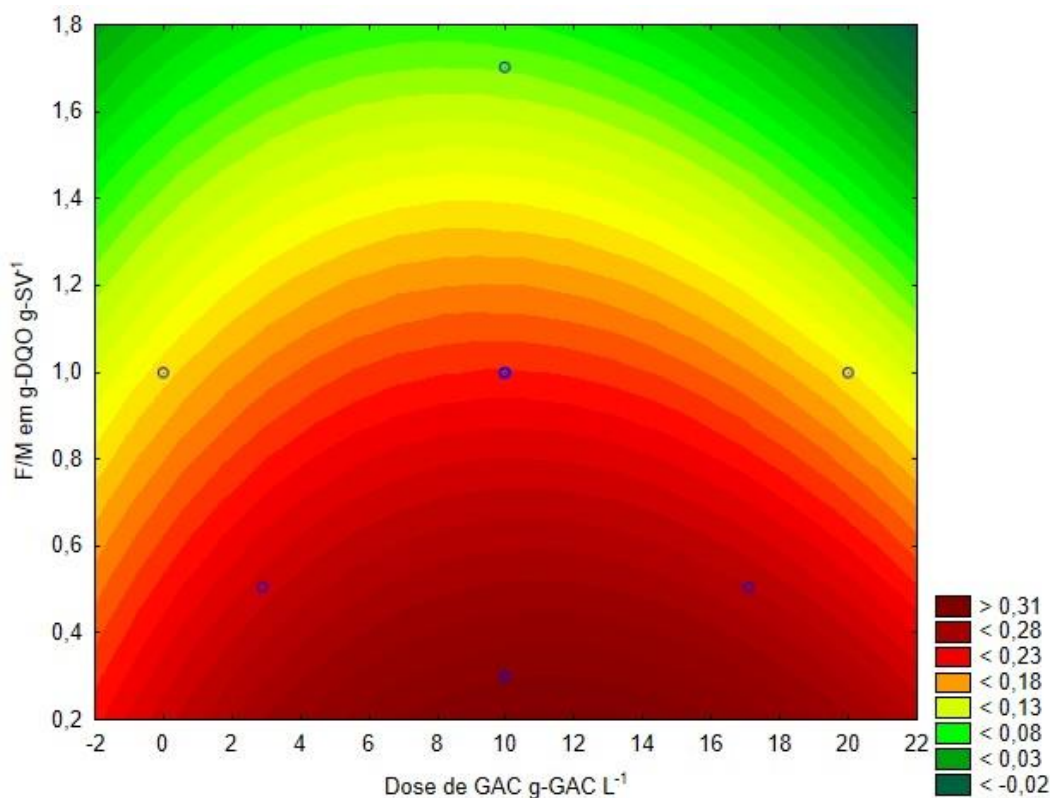
Condição *	Y (g-DQO g-SV ⁻¹)	X (g-GAC L ⁻¹)	Z ** (mL _{CH4} g-DQO ⁻¹)	Z*** (mL _{CH4} g-DQO ⁻¹)
Predição 1	0,2	11,60	0,323	-
Predição 2	0,4	11,15	0,296	-
Predição 4	0,6	10,71	0,268	-
Predição 5	0,8	10,27	0,240	-
Predição 6	1,0	9,83	0,211	-
Calibração C1	0,5	0	0,213	0,225
Calibração C2	0,5	0	0,213	0,218
Calibração 1	0,5	11,0	0,282	0,279
Calibração 2	0,5	11,0	0,282	0,286
Calibração 3	0,5	11,0	0,282	0,271

Nota: *dados seguem distribuição normal; **dados adquiridos por meio da equação 21, ***dados reais adquiridos por meio dos ensaios de calibração.

A análise da Figura 28 revela que o aumento da razão F/M reduziu o MY_{DQO} para os ensaios em bateladas com FVW_L sob DQO fixa em 2,5 g-DQO L⁻¹. Este comportamento é previsível em decorrência da diminuição das velocidades do processo de degradação sob baixo conteúdo de biomassa (ALZATE et al., 2012; HOLLIGER et al., 2016). Por outro lado, a presença de GAC traz efeitos positivos para a MY_{DQO} em razões F/M maiores e entre doses de 8 a 12 g-GAC L⁻¹, revelando que o material condutor foi capaz de acelerar os processos sintróficos quando o estresse metabólico estimulou o processo de DIET. O estímulo dos processos de DIET em condições mais estressantes foram relatados por Kang et al. (2019). Os

autores relataram que a diminuição da concentração do inóculo em reatores suplementados com GAC resultaram em velocidades de produção de CH_4 maiores, além de estimular organismo DIETers. Outros tipos de HCPM (do inglês: *High Porosity Carbon Materials* - HCPM) são relatados na literatura como estimuladores do processo de DIET em condições de sobrecarga alimentar. Por exemplo, Wang et al. (2020b) relataram que a presença de biochar (BC) impediu o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) sob altas razões F/M em reatores anaeróbios alimentados com FW (do inglês: *food waste* -FW).

Figura 28 - Gráfico de resposta 2D para o MY_{DQO} em função da concentração de GAC e da relação F/M para os ensaios DCCR alimentados com FWW_L (após a operação descrita no capítulo 3).



Por outro lado, em razões F/M menores, o processo de DIET é dispensado ou imperceptível em virtude do baixo estresse metabólico. Ou seja, à medida que se diminui a razão F/M, a dose de material condutor pode ser desnecessária. Naturalmente, o grande

número de microrganismo em relação a baixa quantidade de alimento leva os sistemas anaeróbios a terem velocidades maiores para o processamento de biomassas (PELLERA; GIDARAKOS, 2016). Por exemplo, Zhao et al. (2022) aplicaram resíduo rico em carboidratos como único substrato em reatores batelada variando a dose de GAC (0, 10, 20 e 50 g L⁻¹) e a relação F/M (2:1, 1:1 e 1:2). De acordo com os resultados apresentados pelos autores, quanto menor a relação F/M menor o efeito da dose de material condutor em comparação ao controle (sem material). Por outro lado, os ensaios com relações F/M de 1:1 e 2:1 tiveram produção de CH₄ inibida em comparação com o controle. Porém, neste último caso, os ensaios com dose de GAC de 20 g L⁻¹ e 50 g L⁻¹ aliviaram a inibição. Ou seja, o uso de GAC é mais indicado para condições de distúrbios metabólicos oriundo do excesso de substrato em relação à concentração de biomassa. Wu et al. (2022) relataram acréscimo de aproximadamente 14% na produção de CH₄ durante a digestão de lodo ativo com a adição de GAC em diferentes doses. De forma resumida, Chen et al. (2023) relataram dois aspectos sobre a presença de BC em reatores anaeróbios alimentados com glicose: 1º) que em razões F/M baixas, a produção de CH₄ podem ser atribuídas à transferência de massa promovida pela eficiência de transferência de elétrons sem grande apoio do material condutor e, 2º) que em uma alta razão F/M, a adição de BC garante a resiliência dos processos anaeróbios devido a termodinâmica da metanogênese sintrófica *via* DIET.

Neste estudo foi observado que as doses superiores a 12 g-GAC L⁻¹ não mantiveram o efeito estimulante para o aumento da MY_{DQO}. Isso ocorre devido à capacidade elevada do GAC em adsorver material carbonáceo, incluindo o substrato e os organismos. Ao contrário de alguns estudos que relatam a inibição do processo anaeróbio em virtude da sobredose de GAC (ZHAO et al., 2022), neste estudo a adsorção é atribuída como variável que dificulta o acesso do substrato pelos organismos a curto prazo. Por exemplo, Cui et al. (2021) aplicaram diferentes doses de BC (3 g L⁻¹, 6 g L⁻¹, 12 g L⁻¹, 25 g L⁻¹ e 50 g L⁻¹) para a degradação de FW em reatores batelada e identificaram a dose de 25 g L⁻¹ como a mais adequada para o processo (MY_{DQO} > 250 mL_{CH₄} g-SV⁻¹). Porém, os autores não relacionam a *lag phase* e a dose de BC como forma de analisar a interferência da adsorção. Contudo, ao fazer esta análise, é possível identificar um aumento do período de *lag phase* diretamente proporcionado à dose administrada de BC, principalmente para a dose de 50 g L⁻¹. Resultado similar foi apontado por Zhao et al. (2022), os quais supuseram que a alta dosagem de GAC (>50 g L⁻¹) pode

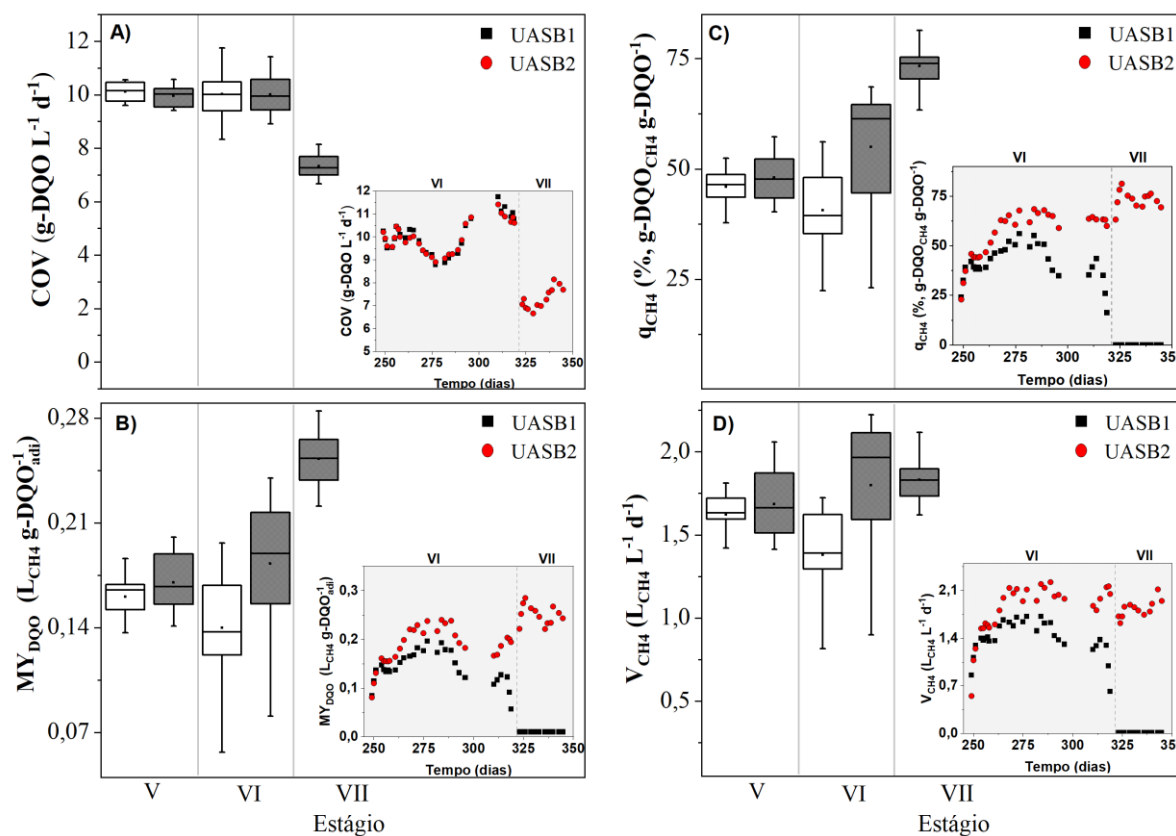
aumentar a adsorção do substrato, comprometendo a operação a curto prazo. Por outro lado, no estudo conduzido por Cui et al. (2021), o aumento da *lag phase* não afetou a fase de degradação de matéria orgânica (avaliada como DQO), demonstrando que a adsorção não inviabiliza a disponibilidade do substrato ao microrganismo. Contudo, a complexidade de compostos presentes nos resíduos de FVW pode revelar atrasos no processo de degradação, mas não a inviabilidade de degradação ou inibição por excesso de material condutor dosados nos sistemas anaeróbios.

4.3.3 Aspectos operacionais dos reatores UASB

A intenção desta etapa foi verificar a redução dos processos inibitórios na presença de GAC em um dos reatores UASB operados em paralelo (detalhamento descrito no capítulo 3 desta tese) e alimentados com FVW_L. Portanto, para definir a quantidade ideal de GAC a ser administrada em um dos reatores UASB, os dados adquiridos no planejamento experimental (seção 4.3.2) foram relacionados às variáveis operacionais da biomassa inoculada no reator UASB (seção 4.3.1). Com isso, foi adicionado ao reator UASB2 uma quantidade de aproximadamente 10 g-GAC L⁻¹. Vale ressaltar que a dose ideal de GAC administrada se assemelha à dose ideal recomendada por Chen et al. (2023) que apesar de terem utilizado o BC como meio condutor, as propriedades deste HCPM são similares ao GAC. Em linhas comparativas, Chen et al. (2023) avaliaram diferentes doses de BC sob diferentes razões F/M, identificando que a faixa ideal de material condutor é de 10 g L⁻¹.

A Figura 29 apresenta os dados em box-plot para os reatores UASB1 (sem material condutor) e UASB2 (suplementado com 10 g-GAC L⁻¹) operados em paralelo, incluindo o estágio V, o qual foi operado com as mesmas condições de COV. A manutenção da COV de 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ em ambos os reatores não apresentou diferença significativa para todas as etapas operacionais (um p-valor>0,05), permitindo a comparação entre os reatores (Figura 29; A). Porém, conforme apresentado na Figura 29, os valores de MY_{DQO}, q_{CH4} e V_{CH4} identificados em ambos os reatores foram significativamente diferentes (p-valor<0,05). Os resultados das variáveis operacionais obtidas revelam que o reator UASB2 controlou os processos inibitórios de sobrecarga observados no estágio V (Figura-Anexo- F). Por outro lado, o reator UASB1 não suportou o estresse metabólico, apresentando falhas operacionais (Figura 29 e Tabela 11).

Figura 29 - Apresentação dos dados em *box-plot* para COV (A), MY (B), q_{CH_4} (C) e V_{CH_4} (D) para os estágios V, VI e VII. Box em branco para o reator UASB1 (sem adição de GAC) e box em cinza para o reator UASB2 (com adição de GAC) (dados operacionais diários dos estágios VI e VII dentro de cada box de apresentação).



O reinício da operação no estágio VI com COV de 10 g-DQO L⁻¹ d⁻¹ gerou um efeito adaptativo em ambos os reatores. A grande dispersão dos dados das variáveis operacionais centrais evidencia este comportamento (Figura 29). Por outro lado, a COV foi a mesma em ambos os reatores, permitindo a comparação dos últimos 20 dias de operação no estágio VI e VII (Tabela 11). Esta comparação ao final da operação possibilita uma análise mais concisa das variáveis operacionais adquiridas. De acordo com a Tabela 11, ao final da operação do estágio VI, o reator UASB1 apresentou sinais de estresse extremo, com médias de V_{CH_4} e q_{CH_4} muito baixas. A comparação destas duas variáveis entre os reatores revela diferenças

superiores a 50%. De acordo com Bouallagui et al. (2005), uma das principais limitações da digestão anaeróbia do FVW é a rápida hidrólise e acidogênese, acarretando no acúmulo de ácidos e estresse da atividade metanogênica. Este fenômeno foi observado com maior intensidade nos valores de AI/AP do reator UASB1, o qual manteve média superior à faixa ideal ($AI/AP < 0,5$) recomendada na literatura (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986) (Tabela 11).

Tabela 11 - Média e coeficiente de variação (CV; indicado em parênteses) das variáveis operacionais adquiridas em ambos os reatores UASB (UASB 1 sem adição de GAC e UASB2 com adição de GAC) para as etapas operacionais em seus regimes quase estacionários ou equivalentes comparativos.

		UASB1*	UASB2	UASB1	UASB2
		VI	VI	VII	VII
COV	$g\text{-DQO L}^{-1} d^{-1}$	10,0 (0,8)	10,0 (0,6)	-	7,5 (3,5)
COV ^(a)	$g\text{-SV L}^{-1} d^{-1}$	7,15 (4,1)	7,19 (3,9)	-	3,9 (4,5)
AI/AP	-	1,13 (57)	0,45 (31)	-	0,32 (20)
V _{CH₄}	$L_{CH_4} L^{-1} d^{-1}$	1,12 (28,1)	2,1 (6,9)	-	1,95 (3,1)
MY _{DQO}	$L_{CH_4} g\text{-DQO}_{add}^{-1}$	0,101 (27,5)	0,200 (7,3)	-	0,245 (2,8)
q _{CH₄}	$\%, g\text{-DQO}_{CH_4} g\text{-DQO}^{-1}$	32,1 (34,3)	63,2 (2,7)	-	73,3 (3,7)

Nota: * média do mesmo período dito estacionário do reator UASB2. COV é a carga orgânica volumétrica; AI:AP é a razão alcalinidade intermediária pela parcial; V_{CH₄} é a produção volumétrica de CH₄; MY_{DQO} é o rendimento de CH₄ por massa de DQO; q_{CH₄} é o quociente de conversão de DQO em CH₄ no biogás; (a) variável de resposta em massa de SV no afluente FVW_L.

De acordo com os dados apresentados na Figura 29 é possível observar que os valores de MY_{DQO} obtidos no estágio V e no estágio VI para o reator UASB1 manteve-se em queda. Em contrapartida, a mesma análise comparativa dos dois estágios para o reator UASB2 teve acréscimo médio de MY_{DQO} de aproximadamente 15%. Ou seja, a dose de GAC administrada no reator UASB2 elevou as velocidades de produção de CH₄. Vários estudos em escala de laboratório relatam a adição de HCPM (em doses variando de 1 a 50 g L⁻¹) em digestores

anaeróbios, principalmente GAC e BC (Tabela 12). Vale ressaltar que estudos que avaliam o comportamento dos mecanismos de DIET em reatores contínuos são escassos na literatura, ao contrário dos estudos em bateada.

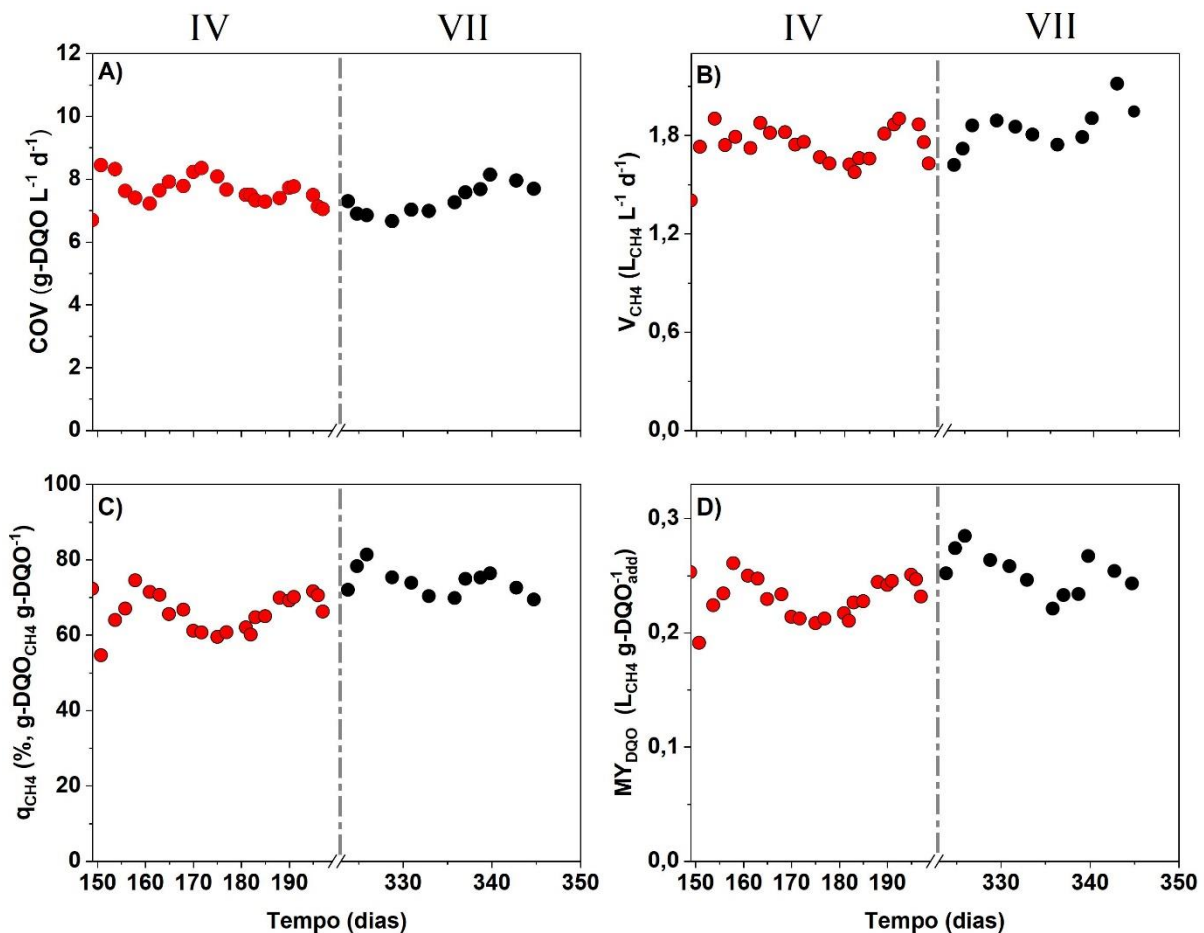
Tabela 12 - Resumo das condições operacionais de estudos com reatores contínuos operados com HCPM dos últimos três anos.

Substrato	Reator	Condutor	Dose	Contribuição	Ref.
FW+Esterco	CSTR	GAC	12	aceleração da <i>start-up</i> durante a co-digestão de FW e esterco de galinha.	(ZHANG et al., 2020b)
FW	CSTR	GAC	20	aceleração da etapa de hidrólise e da metanogênese.	(JOHNRAVINDAR et al., 2020)
Esgoto sintético	UASB	GAC	25	separação nas zonas de reação, aumentando a atividade metanogênica devido o contato entre o GAC e o lodo.	(YU et al., 2021)
FW	UASB	BC	15	Redução da acidificação, aumentando a degradação da DQO solúvel em 2,5 vezes.	(JOHNRAVINDAR et al., 2022)
Lixiviado de resíduos sólidos	UASB	GAC	75	facilitou o tratamento eficiente em COVs superior a 36 g-DQO L ⁻¹ d ⁻¹ .	(DE ALBUQUERQUE et al., 2022)
Esterco de ovelha	CSTR	GAC	10	mudanças na comunidade de archaea, representando um aumento de 32% na produção de biogás.	(KALANTZIS et al., 2023)
Carboidratos	UASB	GAC	25	estimulou a seleção de organismos eletrogênicos adaptados ao DIET.	(ZHANG et al., 2023)
FVW _L	UASB	GAC	10	Aumento da degradação da matéria orgânica (como DQO) com maior controle do excesso de ácidos acumulados em COV de 10 g-DQO L ⁻¹ d ⁻¹ .	Este estudo

Com a desativação do reator UASB1, o estágio VII (COV de 7,7 g-DQO L⁻¹ d⁻¹) foi monitorado com a operação apenas do reator UASB2. A intenção desta operação foi verificar se o GAC exerce efeito positivo na produção de CH₄ dentro da faixa ideal de COV, a qual foi delimitada na seção 3.3.4 do capítulo 3. Além disso, os dados da operação do estágio VII servem para comparação com os dados adquiridos no estágio IV apresentado no capítulo 3.

Figura 30, as COV e as variáveis resposta não apresentaram diferenças estatísticas significativas ao nível de confiança de 95% (Tabela 6 e Tabela 11). Ou seja, dentro da faixa de COV ideal, o GAC tem efeito inexpressivo. Dessa forma, o mecanismo de DIET tende a ter maior destaque quando o sistema se encontra sob estresse, condicionando a ativação dos caminhos de autorregulação sintrófica avançada. Isso fica mais evidente quando o lodo é adaptado ao substrato, admitindo poucas mudanças nos caminhos metabólicos preexistentes. Contudo, vale resguardar que a equivalência de COV do estágio IV com o estágio VII pode não representar uma comparação fiel das variáveis resposta, pois a microbiota de ambos os reatores nos estágios pode ter diferenças significativas.

Figura 30 - Apresentação dos dados operacionais diários para COV (A), V_{CH_4} (B), q_{CH_4} (C) e MY_{COD} (D) do reator UASB2 operados no estágio IV (sem GAC em vermelho) e VII (com GAC em preto).



Kalantzis et al. (2023) utilizaram uma dose 5 g-GAC L⁻¹ em uma unidade integrada em escala piloto contendo um digestor anaeróbio (180 L) e um biorreator aeróbio de membrana submersa (1600 L) conectados em série para o tratamento de efluentes agroindustriais. Os autores relataram um aumento de 32% na produção de CH₄ após a adição de GAC, identificando uma relação diretamente proporcional ao aumento de organismos metanogênicos associados ao processo de DIET. Li et al. (2022) modelaram uma contribuição em torno de 35% para a produção de CH₄ pelo modelo ADM1 (do inglês: *anaerobic digestion*

model nº 1- ADM1) utilizando FW com altos teores de sólidos na presença de GAC. Este estudo elucidou os fenômenos do mecanismo de DIET, oferecendo maior segurança metodológica para a aplicação de materiais condutores durante a degradação de FW com teores elevados de sólidos. Ou seja, os teores de sólidos do FVWL devem ser considerados como variável que interfere na produção de biogás.

Yi et al. (2014) classificaram as tecnologias de digestão anaeróbia em três tipos principais de acordo com o teor de sólidos: úmido convencional ($ST < 10\%$), semi-seco ($10 < ST < 20\%$) e seco ($> 20\%$). Diante desta classificação, os autores propuseram um estudo com FW sob diferentes percentuais de ST (5%, 15% e 20%) em reatores anaeróbios para concluir que o teor de sólidos pode modificar a microbiota anaeróbia e afetar diretamente a produção de CH_4 . De fato, muitos estudos evidenciam que a eficiência da produção de biogás de FWs depende do teor de sólidos totais, podendo esta característica ser fator crucial na modificação das comunidades microbianas durante o processo de DA (DAI et al., 2013; YI et al., 2014). Forster-Carneiro; Pérez; e Romero, (2008) mostraram que a produção de biogás e CH_4 diminui com o aumento do teor de sólidos totais acima de 20%, classificando como digestão seca os processos de digestão anaeróbia de FW com teores de sólidos acima deste valor.

O FVWL aplicado aos reatores UASB apresentava concentração de ST em torno de 9%, revelando que este resíduo pode ter contribuído com o decréscimo da produção de CH_4 no reator UASB1. Por outro lado, a presença de GAC no reator UASB2 apresentou aspectos operacionais positivos à produção de biogás e degradação do FVWL. O mecanismo de DIET é reconhecido como adequado à reversão de estresse metabólicos de resíduos ricos em particulados e com teores elevados de sólidos (SUN et al., 2020; CUI et al., 2021; KIM et al., 2022; MOU et al., 2022). Por exemplo, Sun et al. (2020) mostraram que a velocidade de conversão de AGVs em CH_4 foi aumentada com a adição de GAC em reatores anaeróbios alimentados com substrato rico em particulados (lodo de esgoto), revelando rendimentos acima de 120%. Cui et al. (2021) relataram que a presença de BC em reatores anaeróbios melhorou o processo de digestão FW com alto teor de sólidos.

Recentes descobertas levantam dúvidas sobre o processo de granulação em reatores UASB ser estimulado pela presença de materiais condutores (MA et al., 2021b; KIM et al.,

2022). Ma et al. (2021b) sugeriram que a magnetita induziu o desenvolvimento de parceiros sintróficos DIETers organizados em grânulos durante a degradação de resíduo sintético rico em sais. Na contramão do achado de Ma et al. (2021b), Kim et al. (2022) investigaram os efeitos da adição de micropartículas de magnetita na granulação de lodo floculento em reatores UASB alimentados com soro de leite e apontaram que a magnetita estimulou o desenvolvimento de DIETers, porém não estimulou a granulação. Contudo, as diferenças de substratos, fonte de inóculo e condições operacionais podem interferir no processo de granulação, inviabilizando a comparação de ambos os estudos quando ao efeito de granulação dos meios condutores. É necessário pontuar que os organismos podem crescer aderidos às partículas menores dos materiais condutores adicionados, mostrando um comportamento de biofilme granular. Assim como ocorrido no reator UASB2, as partículas menores de GAC foram envolvidas por uma camada de biofilme, garantindo a manutenção da biomassa devido ao aumento da densidade do GAC encapsulado (Figura-Anexo- G). Vale ressaltar que o GAC oferece área superficial com alto potencial de adsorver organismos, garantindo maiores crescimentos aderidos. Porém, Jiang et al. (2023) apontam desvantagens do potencial de adsorção do GAC. Os autores revelaram que o rendimento de produção de CH₄ do hidrolisado de lodo foi inibido em 13,3% após a adição de GAC em virtude do predomínio da adsorção não seletiva do tipo de carvão ativado utilizado pelos autores.

A discussão acerca dos efeitos da adsorção do GAC podem ser explorados a partir da análise da sequência de estudos de um grupo de pesquisadores chineses que publicaram três trabalhos em sequência usando os mesmos substratos (óleo, graxa e gordura (OGG)) (HE et al., 2021, 2022; XU et al., 2023). No primeiro estudo, He et al. (2021) justificaram a presença de GAC como o acelerador do processo metanogênico da co-digestão de OGG com lodo ativo, atingindo um aumento da produtividade de CH₄ superior a 15% (utilizando uma dose de 10 g-GAC L⁻¹). No estudo mais recente do grupo, foi recomendada a pré-mistura do inóculo com o meio condutor (GAC) como estratégia para melhorar a produção de CH₄ durante a digestão de resíduos com teores elevados de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) (XU et al., 2023). Ou seja, de acordo com os autores, a capacidade de adsorção do GAC pode dificultar o acesso, a curto prazo, dos microrganismos ao substrato primariamente adsorvido nos poros.

4.4 Conclusões parciais

4.4.1 Conclusões

A adição de GAC como material condutor em sistemas em batelada com FVW_L garantiu melhoria no rendimento de produção e CH_4 sob os seguintes aspectos: I) dose ideal de GAC em torno de $11,0 \text{ g-GAC L}^{-1}$ para as razões F/M superiores a 0,5; II) a dose ideal de GAC garantiu aumento de 21% para a MY_{DQO} comparada ao controle sem a presença de material condutor e; III) o excesso de GAC (dose maiores que $11,0 \text{ g-GAC L}^{-1}$) supostamente reduziu o aumento da produção de CH_4 em virtude da adsorção.

A aplicação de uma dose de $10, \text{ g-GAC L}^{-1}$ em um dos reatores metanogênicos UASB sob limite de carregamento orgânico com FVW_L garantiu a manutenção da COV de $10 \text{ g-DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ com MY_{DQO} de $0,200 \text{ mL}_{CH_4} \text{ g-DQO}^{-1}$ para o reator UASB2 suplementado com GAC. O reator UASB1, sem a adição de GAC, apresentou MY_{DQO} 50% menor. Ou seja, sem a presença de material condutor, o reator UASB1 não suportou a manutenção da COV, indicando queda na produção de biogás em virtude da sobrecarga de ácidos não controlada pelos processos sintróficos naturalmente estabelecidos. Este comportamento fortalece a aplicação do mecanismo de DIET para acelerar a degradação de FW, incluindo o FVW .

CONCLUSÕES FINAIS E PRÓXIMOS AVANÇOS CIENTÍFICOS:

5. CONCLUSÕES FINAIS E PRÓXIMOS AVANÇOS CIENTÍFICOS

5.1 Conclusões

Com base nas premissas levantadas no capítulo 1 desta tese, a DIET oferece suporte para controlar as principais barreiras operacionais encontradas em reatores de alta taxa, aumentando a velocidade de produção de CH₄ e controlando a sobrecarga, que são os principais gargalos para a autoregulação das vias bioquímicas do processo metanogênico. A confirmação desta hipótese baseia-se nas seguintes linhas conclusivas:

- O carvão ativado granular (GAC) possui propriedades elétricas que estimulam as interações bioeletroquímicas em sistemas anaeróbios submetidos às condições de sobrecargas, seja em relações alimento:microrganismo (F/M) elevadas ou em cargas orgânicas volumétricas (COVs) altas.
- A presença de leito condutor em reator anaeróbio favorece o desenvolvimento de organismos promotores do mecanismo de transferência direta de elétrons interespécies (DIETers) em condições metabólicas forçadas pelo desequilíbrio de elétrons nas relações sintróficas.
- O mecanismo DIET torna-se imperceptível (não há estímulo no desenvolvimento de organismo DIETers) sem a impressão de uma condição de estresse metabólico, tais como: COV elevadas, excesso de ácidos, altas relações F/M e presença de compostos inibidores.
- A operação de reatores em modo batelada é uma estratégia essencial que deve preceder a operação de reatores contínuos, principalmente quanto ao conhecimento do substrato, do inóculo e das interações entre o substrato e o inóculo.
- Reatores de leito estruturado modificados com materiais condutores são sistemas com potencial elevado para o *full-scale* de unidades de tratamento de resíduos orgânicos potencialmente poluidores. Isso se deve, também, à facilidade de controle, lavagem, substituição dos leitos e potencial de produção de metano por meio da DIET.
- Reatores de alta taxa inoculados com biomassa dispersa e alimentados com resíduos ricos em sólidos suspensos apresentam limitações quando operados em COV elevadas (COV > 8 g-DQO L⁻¹ d⁻¹).

- A adição de material condutor controla os gargalos operacionais de sobrecarga em reatores do tipo UASB (do inglês: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*). Contudo os avanços no acréscimo da COV, neste tipo de reator, ainda sofrem influência da disposição do material condutor, o qual não beneficiará o contato uniforme com a biomassa.

5.2 Embasamento para avanços científicos

A análise conclusiva da seção anterior (seção 5.1) abre discussão para investigações que podem potencializar pesquisas futuras dentro dos conceitos de DIET aplicados a reatores anaeróbios metanogênicos, como:

- O potencial de adsorção de materiais de carbono altamente porosos (do inglês: *high porosity carbon materials*- HPCM) causa discussão quando esse tipo de material é aplicado a sistemas metanogênicos baseados em DIET (LI et al., 2019; ZHAO et al., 2022). Wang et al. (2022b) propuseram segregar o efeito da adsorção de dois tipos de HPCM (GAC e BC) dentro do processo DIET em sistemas anaeróbios em batelada. No entanto, a baixa condutividade do biochar (BC) utilizado pelos autores limitou o desenvolvimento de DIETers, inviabilizando a identificação da capacidade de adsorção dos materiais com a produção de CH₄. Zhao et al. (2022) consideraram que alta dosagem de GAC (>50 g-GAC L⁻¹) poderia comprometer a disponibilidade do substrato em virtude do fenômeno de adsorção, comprometendo a operação. De fato, a capacidade de adsorção dos HPCM não pode ser negligenciada, mas considerada para substratos, microrganismos, nutrientes e inibidores em reatores com curtos períodos de operação. Assumindo a hipótese de que a adsorção não torna o substrato estritamente inacessível aos microrganismos durante longas operações (em sistemas contínuos), a capacidade de adsorção do HPCM pode ser desprezada. A disponibilidade de uma grande área específica no GAC pode promover o consumo inicial de DQO para atividades anabólicas de manutenção do material polimérico extracelular (do inglês: *Extracellular Polymeric Substances* - EPS). No entanto, a consideração dessa conjectura só é válida quando a parcela de biogás representa uma pequena fração da DQO no balanço total (TAN et al., 2021). Infelizmente, a escolha de um material não

condutor com propriedades equivalentes ao HPCM é de difícil aquisição, porém a comparação entre sistemas de biofilme sem controle adequado pode gerar comparações incoerentes. Em caso de dúvida, a melhor estratégia para segregação o efeito de adsorção dos HPCM na digestão anaeróbia performada pelo mecanismo DIET é avaliar o balanço de massa periodicamente ao longo da operação.

- Com base no sucesso de alguns estudos, existem diversas alternativas operacionais que podem aumentar a capacidade de carregamento orgânico em reatores UASB alimentados com FVWL, tais como: aumentar o tempo de retenção hidráulica (TDH) e a recirculação interna para acelerar a transferência de massa no reator (BROWNE; ALLEN; MURPHY, 2013), realizar a pré-acidificação do FVWL (dois estágios) (HOLL et al., 2022) e estimulação da DIET por meio da adição de materiais condutores. Segundo WANG et al. (2016), a adição de material condutor acelera as vias sintróficas acetogênicas, aumentando a velocidade de produção de CH₄ e reduzindo as instabilidades operacionais causadas pela sobrecarga orgânica. Em outras palavras, a estratégia do desenvolvimento de DIET pode aumentar a capacidade de metanização sem alterar os parâmetros de projeto do reator UASB. Durante a operação do estágio VI e VII, foi observada a flotação de pequenos grânulos de GAC envoltos por uma camada de biofilme. A flotação ocorreu devido à intensa produção de biogás que aumentou a suspensão da biomassa floculenta. Além disso, foi observado que a grande maioria do GAC adicionado ficou concentrado no fundo do reator, intensificando a produção de biogás na base do reator. De acordo com Yu et al. (2021), a adição de GAC em reatores UASB tende a assentar todo o material condutor no fundo do reator, limitando o contato entre a biomassa e o GAC. Por outro lado, alguns estudos propuseram estratégia de alto-flotação de GAC para melhorar o contato do meio condutor com a biomassa ativa no interior de reatores UASB (YU et al., 2021; YU; GUO; LIU, 2021; MOU et al., 2022). Yu et al. (2021) e Yu, Guo e Liu, (2021) demonstraram pela primeira vez um estudo em reator UASB modificado que fluidizava o GAC em transportadores plásticos. De acordo com ambos os estudos, o GAC flutuante estimulou o desenvolvimento de DIETers em microbiomas mais diversos com maior capacidade de processamento de COV. A maior vantagem desta estratégia operacional é a capacidade de tratar efluentes com alto teor de sólidos com

maior rendimento de CH_4 (MOU et al., 2022), sendo interessante para os diferentes tipos de FW compostos por frutas e hortaliças.

- A co-digestão é sugerida como estratégia para diminuição do teor de sólidos e aumento da oferta de equilíbrio nutricional. Por exemplo, Dai et al. (2013) observaram que a co-digestão de lodo desidratado com FW melhorou a estabilidade nutricional do sistema, reduzindo o teor de sólidos e aumentando a produção volumétrica de biogás. Portanto, no caso do FVW_L , a co-digestão com outros resíduos ricos em nutrientes e com menor carga de sólidos pode alavancar a produção de biogás, reduzir o teor de sólidos, permitir o aumento da COV e possibilitar o tratamento de dois materiais potencialmente poluidores. A conjunção destes fatores com as observações de Silva Júnior et al. (2022) permitem sugerir a co-digestão de FVW_L com o efluente sanitário geado na CEASA de Maracanaú. Este caminho tem grande potencial de ser explorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, B.; MAHDAVIAN, S.; FATTAHI, F. The waste management of fruit and vegetable in wholesale markets: Intention and behavior analysis using path analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 279, p. 123802, 2021.

AGLER, M. T. et al. Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: The carboxylate platform. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 70–78, 2011.

AGRAWAL, A.; CHAUDHARI, P. K.; GHOSH, P. Anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: a critical review of associated challenges. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 24987-25012, 2022.

AJAY, C. M. et al. Review of impact of nanoparticle additives on anaerobic digestion and methane generation. **Fuel**, v. 277, p.118234, 2020.

AKKAŞ, A.; GAUR, V. Reducing food waste: an operations management research agenda. **Manufacturing and Service Operations Management**, v. 24, n. 3, p. 1261–1275, 2022.

AL-OBADI, M. et al. Perspectives on food waste management: Prevention and social innovations. **Sustainable Production and Consumption**, v. 31, p. 190–208, 2022.

ALI, A. et al. Fe₃O₄ nanoparticles facilitated anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste for enhancement of methane production. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, v. 39, n. 16, p. 1815–1822, 2017.

ALTAMIRANO-CORONA, M. F.; ANAYA-REZA, O.; DURÁN-MORENO, A. Biostimulation of food waste anaerobic digestion supplemented with granular activated carbon, biochar and magnetite: A comparative analysis. **Biomass and Bioenergy**, v. 149, p.106105, 2021.

ALZATE, M. E. et al. Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 488–494, 2012.

AMBUCHI, J. J. et al. Response of anaerobic granular sludge to iron oxide nanoparticles and multi-wall carbon nanotubes during beet sugar industrial wastewater treatment. **Water Research**, v. 117, p. 87–94, 2017.

AMBUCHI, J. J. et al. Hematite and multi-walled carbon nanotubes stimulate a faster syntrophic pathway during methanogenic beet sugar industrial wastewater degradation.

Applied Microbiology and Biotechnology, v. 102, n. 16, p. 7147–7158, 2018.

AMORIM, M. C. C. et al. Viability of rapid startup and operation of UASB reactors for the treatment of cassava wastewater in the semi-arid region of northeastern Brazil. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 96, n. 5, p. 1036–1044, 2018.

ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water science and technology**, v. 59, n. 5, p. 927–934, 2009.

ANGELIDAKI, I. et al. **Biomethanation and its potential**. In: Methods in enzymology. Academic Press, 2011. p. 327-351.

ANZOLA-ROJAS, M. del P. et al. The use of the carbon/nitrogen ratio and specific organic loading rate as tools for improving biohydrogen production in fixed-bed reactors. **Biotechnology Reports**, v. 5, n. 1, p. 46–54, 2015.

APHA. Standard methods for the examination of water & wastewater: centennial edition A.D. Eaton (Ed.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (21st ed.), American Public Health Association. 2005. P. 1 v-1.v.

ARHOUN, B. et al. Anaerobic co-digestion of municipal sewage sludge and fruit/vegetable waste: effect of different mixtures on digester stability and methane yield. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 54, n. 7, p. 628–634, 2019.

ARIF, S.; LIAQUAT, R.; ADIL, M. Applications of materials as additives in anaerobic digestion technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 97, p. 354–366, 2018.

BAEK, G. et al. A long-term study on the effect of magnetite supplementation in continuous anaerobic digestion of dairy effluent – Magnetic separation and recycling of magnetite. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 830–840, 2017.

BAEK, G. et al. Role and potential of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. **Energies**, v. 11, n. 1, 2018.

BAEK, G.; KIM, J.; LEE, C. A long-term study on the effect of magnetite supplementation in continuous anaerobic digestion of dairy effluent – Enhancement in process performance and stability. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 344–354, 2016.

BAIANO, A. Recovery of biomolecules from food wastes - A review. **Molecules**, v. 19,

n. 9, p. 14821–14842, 2014.

BARUA, S.; ZAKARIA, B. S.; DHAR, B. R. Enhanced methanogenic co-degradation of propionate and butyrate by anaerobic microbiome enriched on conductive carbon fibers. **Bioresource Technology**, v. 266, p. 259–266, 2018.

BATSTONE, D. J. et al. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 65–73, 2002.

BATSTONE, D. J.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Multidimensional modelling to investigate interspecies hydrogen transfer in anaerobic biofilms. **Water Research**, v. 40, n. 16, p. 3099–3108, 2006.

BELLEVILLE, P. et al. Two-dimensional modelling of syntrophic glucose conversion in bioanodes for coulombic efficiency optimization. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 15–25, 2019.

BENNETT, B. D.; GRALNICK, J. A. Mechanisms of toxicity by and resistance to ferrous iron in anaerobic systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 140, p. 167–171, 2019.

BHATNAGAR, A. et al. An overview of the modification methods of activated carbon for its water treatment applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 219, p. 499–511, 2013.

BI, S. et al. Effects of organic loading rate on anaerobic digestion of chicken manure under mesophilic and thermophilic conditions. **Renewable Energy**, v. 139, p. 242–250, 2019.

BIANCO, A. Graphene: Safe or toxic? The two faces of the medal. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 19, p. 4986–4997, 2013.

BILAL, M. et al. Mitigation of environmentally-related hazardous pollutants from water matrices using nanostructured materials – A review. **Chemosphere**, v. 253, 2020.

BOLYEN, E. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 852–857, 2019.

BOUALLAGUI, H. et al. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3–4, p. 989–995, 2005.

BRAGUGLIA, C. M. et al. Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 37–56, 2018.

BROWNE, J. D.; ALLEN, E.; MURPHY, J. D. Improving hydrolysis of food waste in a

leach bed reactor. **Waste Management**, v. 33, n. 11, p. 2470–2477, 2013.

BRYERS, J. D. Biofilms and the technological implications of microbial cell adhesion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 2, n. 1–3, p. 9–23, 1994.

BUSWELL, A. M.; MUELLER, H. F. Mechanism of methane fermentation. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 550–552, 1952.

BYRNE, J. M. et al. Redox cycling of Fe(II) and Fe(III) in magnetite by Fe⁻metabolizing bacteria. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1473–1476, 27 2015.

BYUN, J.; HAN, J. Economically feasible production of green methane from vegetable and fruit-rich food waste. **Energy**, v. 235, p. 121397, 2021.

CAIZÁN-JUANARENA, L. et al. Screening for electrical conductivity in anaerobic granular sludge from full-scale wastewater treatment reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 159, p. 107575, 2020.

CAPSON-TOJO, G. et al. Unraveling the literature chaos around free ammonia inhibition in anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 117, n. 2019, p. 109487, 2020.

CARBALLA, M.; REGUEIRO, L.; LEMA, J. M. Microbial management of anaerobic digestion: Exploiting the microbiome-functionality nexus. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 33, p. 103–111, 2015.

CASTELLANO-HINOJOSA, A. et al. Diversity of electroactive and non-electroactive microorganisms and their potential relationships in microbial electrochemical systems: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 50, 2022.

CHAVAN, S. et al. Bioconversion of organic wastes into value-added products: A review. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126398, 2022.

CHEN, J. L. et al. Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1523–1534, 2014.

CHEN, L. et al. Improvement of direct interspecies electron transfer via adding conductive materials in anaerobic digestion: mechanisms, performances, and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1–14, 2022.

CHEN, Y. et al. Varied promotion effects and mechanisms of biochar on anaerobic digestion (AD) under distinct food-to-microorganism (F/M) ratios and biochar dosages. **Waste Management**, v. 155, p. 118–128, 2023.

CHENG, K. C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Advances in biofilm reactors for production of value-added products. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 2, p. 445–456, 2010.

CHENG, Q.; CALL, D. F. Hardwiring microbes: Via direct interspecies electron transfer: Mechanisms and applications. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 18, n. 8, p. 968–980, 2016.

CHERNICHARO, C. A. D. L. **Anaerobic Reactors**. Published by IWA Publishing, Alliance House, 12 Caxton Street, London SW1H 0QS, UK v. 04. p.188. 2007.

CHONG, G. W.; KARBELKAR, A. A.; EL-NAGGAR, M. Y. Nature's conductors: what can microbial multi-heme cytochromes teach us about electron transport and biological energy conversion? **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 47, p. 7–17, 2018.

CHONG, S. et al. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - A State-of-the-art review. **Water Research**, v. 46, n. 11, p. 3434–3470, 2012.

CONKLIN, A.; STENSEL, H. D.; FERGUSON, J. Growth Kinetics and Competition Between Methanosarcina and Methanosaeta in Mesophilic Anaerobic Digestion. **Water Environment Research**, v. 78, n. 5, p. 486–496, 2006.

CRUZ VIGGI, C. et al. Magnetite particles triggering a faster and more robust syntrophic pathway of methanogenic propionate degradation. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 13, p. 7536–7543, 2014.

CUI, Y. et al. Biochar enhanced high-solid mesophilic anaerobic digestion of food waste: Cell viability and methanogenic pathways. **Chemosphere**, v. 272, p. 129863, 2021.

DAI, X. et al. High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance. **Waste Management**, v. 33, n. 2, p. 308–316, 2013.

DASTYAR, W. et al. Powdered activated carbon amendment in percolate tank enhances high-solids anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 151, p. 63–70, 2021.

DE ALBUQUERQUE, F. P. et al. Carbon cloth amendment for boosting high-solids anaerobic digestion with percolate recirculation: Spatial patterns of microbial communities. **Chemosphere**, v. 307, p. 135606, 2022..

DE AMARANTE, M. C. A. et al. Effect of fruits and vegetables in the anaerobic digestion of food waste from university restaurant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 3365–3383, 2022.

DE AQUINO, S.; FUESS, L. T.; PIRES, E. C. Media arrangement impacts cell growth in anaerobic fixed-bed reactors treating sugarcane vinasse: Structured vs. randomic biomass immobilization. **Bioresource Technology**, v. 235, p. 219–228, 2017.

DE BRITO NOGUEIRA, T. B. et al. Fruits and vegetable-processing waste: a case study in two markets at Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 15, p. 18530–18540, 2020.

DE MORAES, C. C. et al. Causes and prevention practices of food waste in fruit and vegetable supply chains: How is Brazil dealing with these issues? **Waste Management**, v. 154, p. 320–330, 2022.

DE VRIEZE, J. et al. Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation. **Bioresource Technology**, v. 112, n. 2012, p. 1–9, 2012.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 173–190, 2008.

DUBÉ, C. D.; GUIOT, S. R. Ethanol-to-methane activity of Geobacter-deprived anaerobic granules enhanced by conductive microparticles. **Process Biochemistry**, v. 63, p. 42–48, 2017.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EDWIGES, T. et al. Influence of chemical composition on biochemical methane potential of fruit and vegetable waste. **Waste Management**, v. 71, p. 618–625, 2018a.

EDWIGES, T. et al. Methane potential of fruit and vegetable waste: an evaluation of the semi-continuous anaerobic mono-digestion. **Environmental Technology**, v. 41, n. 7, p. 921–930, 2018b.

ESCUDIÉ, R. et al. Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: An overview of 15 years of research. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 1–10, 2011.

ESPARZA, I. et al. Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 265, 2020.

EVANS, P. N. et al. An evolving view of methane metabolism in the Archaea. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 219–232, 2019.

FAGBOHUNGBE, M. O. et al. High solid anaerobic digestion: Operational challenges and possibilities. **Environmental Technology and Innovation**, v. 4, p. 268–284, 2015.

FAO. **Fruit and vegetables – your dietary essentials: The International Year of Fruits and Vegetables 2021 Background paper**. Rome, p. 81. 2020.

FENG, D. et al. How can ethanol enhance direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion? **Biotechnology Advances**, v. 52, p. 107812, 2021.

FERRY, J. G. How to make a living by exhaling methane. **Annual review of microbiology**, v. 64, p. 453–473, 2010.

FILMAN, D. J. et al. Cryo-EM reveals the structural basis of long-range electron transport in a cytochrome-based bacterial nanowire. **Communications Biology**, v. 2, n. 1, p. 19–24, 2019.

FORBES, H. et al. **United Nations Environment Programme (2021). Food Waste Index Report**. P. 100, Nairobi. 2021.

FORSTER-CARNEIRO, T.; PÉREZ, M.; ROMERO, L. I. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 15, p. 6994–7002, 2008.

FUESS, L. T. et al. Temporal dynamics and metabolic correlation between lactate-producing and hydrogen-producing bacteria in sugarcane vinasse dark fermentation: The key role of lactate. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 426–433, 2018.

FUESS, L. T. et al. Diversifying the portfolio of sugarcane biorefineries: Anaerobic digestion as the core process for enhanced resource recovery. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 147, n. September 2020, p. 111246, 2021a..

FUESS, L. T. et al. Biohydrogen-producing from bottom to top? Quali-quantitative characterization of thermophilic fermentative consortia reveals microbial roles in an upflow fixed-film reactor. **Chemical Engineering Journal Advances**, v. 7, p. 100125, 2021b.

FULLER, R. et al. Pollution and health: a progress update. **The Lancet Planetary Health**, v. 6, n. 6, p. e535–e547, 2022.

GADHAMSHETTY, V. et al. Modeling dark fermentation for biohydrogen production: ADM1-based model vs. Gompertz model. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.

35, n. 2, p. 479–490, 2010.

GANESH, K. S.; SRIDHAR, A.; VISHALI, S. Utilization of fruit and vegetable waste to produce value-added products: Conventional utilization and emerging opportunities-A review. **Chemosphere**, v. 287, p. 132221, 2022..

GANESH, R. et al. Single-phase and two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: Comparison of start-up, reactor stability and process performance. **Waste Management**, v. 34, n. 5, p. 875–885, 2014.

GERMEC, M.; DEMIRCI, A.; TURHAN, I. Biofilm reactors for value-added products production: An in-depth review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 27, p. 101662, 2020.

GHANGREKAR, M. M.; ASOLEKAR, S. R.; JOSHI, S. G. Characteristics of sludge developed under different loading conditions during UASB reactor start-up and granulation. **Water Research**, v. 39, n. 6, p. 1123–1133, 2005.

GIJZEN, H. J. Anaerobic Digestion for Sustainable Development. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 321–328, 2002.

GONZALEZ-TINEO, P. A. et al. Performance improvement of an integrated anaerobic-aerobic hybrid reactor for the treatment of swine wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 34, p. 101164, 2020.

GORSKI, C. A. et al. Redox behavior of magnetite: Implications for contaminant reduction. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 55–60, 2010.

GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water, Science and Technology**, v. 15, p. 127–167, 1983.

HABOUZIT, F. et al. Influence of support material properties on the potential selection of Archaea during initial adhesion of a methanogenic consortium. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4054–4060, 2011.

HARTMANN, H.; ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K. Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration. **Water Science and Technology**, v. 41, n. 3, p. 145–153, 2000.

HASSANEIN, A.; LANSING, S.; TIKEKAR, R. Impact of metal nanoparticles on biogas production from poultry litter. **Bioresource Technology**, v. 275, p. 200–206, 2019.

HE, X. et al. Carbon-based conductive materials accelerated methane production in

anaerobic digestion of waste fat, oil and grease. **Bioresource Technology**, v. 329, p. 124871, 2021.

HE, X. et al. Enhanced direct interspecies electron transfer and methane production during anaerobic digestion of fat, oil, and grease by coupling carbon-based conductive materials and exogenous hydrogen. **Bioresource Technology**, v. 364, p. 128083, 2022.

HENZ, G. P.; PORPINO, G. Food losses and waste: how Brazil is facing this global challenge? **Horticultura Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 472–482, 2017.

HENZE, M. et al (ed). **Biological Wastewater Treatment Principles, Modelling and Design**. IWA Publishing, p. 530, 2008.

HILOIDHARI, M. et al. Agroindustry wastes: Biofuels and biomaterials feedstocks for sustainable rural development. **Academic Press**, p. 357-388, 2020.

HOEHN, D. et al. A critical review on food loss and waste quantification approaches: Is there a need to develop alternatives beyond the currently widespread pathways? **Resources, Conservation and Recycling**, v. 188, 2023.

HOLL, E. et al. Two-stage anaerobic digestion: State of technology and perspective roles in future energy systems. **Bioresource Technology**, v. 360, p. 127633, 2022.

HOLLIGER, C. et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HOLMES, D. E. et al. The electrically conductive pili of *Geobacter* species are a recently evolved feature for extracellular electron transfer. **Microbial genomics**, v. 2, n. 8, p. e000072, 2016.

HOLMES, D. E. et al. Metatranscriptomic evidence for direct interspecies electron transfer between *Geobacter* and *Methanothrix* species in methanogenic rice paddy soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 9, 2017.

HOLMES, D. E. et al. Electron and proton flux for carbon dioxide reduction in *Methanosarcina barkeri* during direct interspecies electron transfer. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1–11, 2018.

HU, Y. et al. Effect of influent COD/SO₄²⁻ ratios on UASB treatment of a synthetic sulfate-containing wastewater. **Chemosphere**, v. 130, p. 24–33, 2015.

HUSSAIN, A.; DUBEY, S. K. Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. **Applied Water Science**, v. 7, n. 2, p. 535–542, 2017.

Ji, C. et al. A review of the anaerobic digestion of fruit and vegetable waste. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 183, n. 3, p. 906–922, 2017.

JIANG, H. et al. Anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste using a novel two-stage solid-liquid system. **Journal of Cleaner Production**, v. 370, p. 133521, 2022.

JIANG, Q. et al. Key properties identification of biochar material in anaerobic digestion of sewage sludge for enhancement of methane production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 3, p. 109850, 2023.

JIANG, X.; ZHAO, Z.; ZHANG, Y. Towards engineering application: Integrating current strategies of promoting direct interspecies electron transfer to enhance anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal Advances**, v. 12, p. 100405, 2022.

JIN, H. Y. et al. Role and significance of water and acid washing on biochar for regulating methane production from waste activated sludge. **Science of the Total Environment**, v. 817, p. 152950, 2022..

JIN, Z.; ZHAO, Z.; ZHANG, Y. Potential of direct interspecies electron transfer in synergetic enhancement of methanogenesis and sulfate removal in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor with magnetite. **Science of the Total Environment**, v. 677, p. 299–306, 2019.

JING, Y. et al. iTRAQ quantitative proteomic analysis reveals the pathways for methanation of propionate facilitated by magnetite. **Water Research**, v. 108, p. 212–221, 2017.

JOHNRAVINDAR, D. et al. Supplementing granular activated carbon for enhanced methane production in anaerobic co-digestion of post-consumer substrates. **Biomass and Bioenergy**, v. 136, p. 105543, 2020.

JOHNRAVINDAR, D. et al. Impact of total solids content on biochar amended co-digestion of food waste and sludge: Microbial community dynamics, methane production and digestate quality assessment. **Bioresource Technology**, v. 361, p. 127682, 2022.

JUNG, H.; BAEK, G.; LEE, C. Magnetite-assisted in situ microbial oxidation of H₂S to S⁰ during anaerobic digestion: a new potential for sulfide control. **Chemical Engineering Journal**, v. 397, p. 124982, 2020.

KALANTZIS, D. et al. Granular activated carbon stimulates biogas production in pilot-

scale anaerobic digester treating agro-industrial wastewater. **Bioresource Technology**, v. 376, p. 128908, 2023.

KANG, H. J. et al. Effect of inoculum concentration on methanogenesis by direct interspecies electron transfer: Performance and microbial community composition. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121881, 2019.

KARADAG, D. et al. A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 2, p. 262–271, 2015.

KARAKASHEV, D. et al. Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of Methanosaetaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 7, p. 5138–5141, 2006.

KASZA, G. et al. Balancing the desire to decrease food waste with requirements of food safety. **Trends in Food Science and Technology**, v. 84, p. 74–76, 2019.

KATO, S.; HASHIMOTO, K.; WATANABE, K. Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via (semi)conductive iron-oxide minerals. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 7, p. 1646–1654, 2012a.

KATO, S.; HASHIMOTO, K.; WATANABE, K. Microbial interspecies electron transfer via electric currents through conductive minerals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 25, p. 10042–10046, 2012b.

KIBLER, K. M. et al. Food waste and the food-energy-water nexus: A review of food waste management alternatives. **Waste Management**, v. 74, p. 52–62, 2018.

KIM, J. et al. Effects of submicron magnetite particles on granulation of flocculent sludge and process stability in upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Bioresource Technology**, v. 366, p. 128205, 2022.

KIYUNA, L. S. M.; FUESS, L. T.; ZAIAT, M. Unraveling the influence of the COD/sulfate ratio on organic matter removal and methane production from the biodigestion of sugarcane vinasse. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 103–112, 2017.

KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. A Generalized method for thermodynamic state analysis of environmental systems. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 1–54, 2010.

KOMESU, A. et al. Case study 3: fruit and vegetable waste valorization in North and

Northeast regions of Brazil. In: **Fruit and Vegetable Waste Utilization and Sustainability**. Elsevier, 2023. p. 269–284.

KUTLAR, F. E.; TUNCA, B.; YILMAZEL, Y. D. Carbon-based conductive materials enhance biomethane recovery from organic wastes: A review of the impacts on anaerobic treatment. **Chemosphere**, v. 290, p. 133247, 2022.

LANGER, S. et al. Dynamics of biofilm formation during anaerobic digestion of organic waste. **Anaerobe**, v. 29, p. 44–51, 2014.

LEANG, C. et al. Alignment of the c-type cytochrome OmcS along pili of *Geobacter sulfurreducens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 12, p. 4080–4084, 2010.

LEE, J. et al. Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition. **Journal of Environmental Management**, v. 241, n. September 2018, p. 418–426, 2019.

LEE, J. Y.; LEE, S. H.; PARK, H. D. Enrichment of specific electro-active microorganisms and enhancement of methane production by adding granular activated carbon in anaerobic reactors. **Bioresource Technology**, v. 205, p. 205–212, 2016.

LEE, S. H. et al. Different contribution of exoelectrogens in methanogenesis via direct interspecies electron transfer (DIET) by the different substrate in continuous anaerobic bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 364, p. 128115, 2022.

LEE, Y. J.; LEE, D. J. Impact of adding metal nanoparticles on anaerobic digestion performance – A review. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121926, 2019.

LEI, Y. et al. Metagenomic analysis reveals that activated carbon aids anaerobic digestion of raw incineration leachate by promoting direct interspecies electron transfer. **Water Research**, v. 161, p. 570–580, 2019.

LEITÃO, R. C. et al. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: a review. **Bioresource technology**, v. 97, n. 9, p. 1105–18, 2006.

LETTINGA, G. et al. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment. **Biotechnology and bioengineering**, v. 22, p. 699–734, 1980.

LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van**

Leeuwenhoek, v. 67, n. 1, p. 3–28, 1995.

LI, D. et al. Accelerated bio-methane production rate in thermophilic digestion of cardboard with appropriate biochar: Dose-response kinetic assays, hybrid synergistic mechanism, and microbial networks analysis. **Bioresource Technology**, v. 290, p. 121782, 2019.

LI, L. et al. Insights into high-solids anaerobic digestion of food waste enhanced by activated carbon via promoting direct interspecies electron transfer. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127008, 2022.

LI, P. et al. Enhanced methane generation from anaerobic tridigestion of organic solid wastes by direct interspecies electron transfer stimulation. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 9, p. 12323-12331, 2021.

LI, Y. et al. Potentially direct interspecies electron transfer of methanogenesis for syntrophic metabolism under sulfate reducing conditions with stainless steel. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 303–309, 2017..

LI, Y. et al. Kinetic studies on organic degradation and its impacts on improving methane production during anaerobic digestion of food waste. **Applied Energy**, v. 213, p. 136–147, 2018.

LI, Y. et al. High-efficiency methanogenesis via kitchen wastes served as ethanol source to establish direct interspecies electron transfer during anaerobic Co-digestion with waste activated sludge. **Water Research**, v. 176, p. 115763, 2020.

LI, Y.; CHEN, Y.; WU, J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. **Applied Energy**, v. 240, n. January, p. 120–137, 2019.

LIANG, T. et al. Anaerobic fermentation of waste activated sludge for volatile fatty acid production: Recent updates of pretreatment methods and the potential effect of humic and nutrients substances. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 145, p. 321–339, 2021.

LIN, L. et al. Temperature-dependent (20–55 °C) electrocatalytic characteristics during ethanol/propionate degradation by methanogenic communities grown on conductive carbon fibers. **Chemical Engineering Journal**, p. 123566, 2019.

LIN, R. et al. Improved efficiency of anaerobic digestion through direct interspecies electron transfer at mesophilic and thermophilic temperature ranges. **Chemical Engineering**

Journal, v. 350, p. 681–691, 2018.

LIU, F. et al. Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon. **Energy & Environmental Science**, v. 5, n. 10, p. 8982, 2012.

LIU, F. et al. Magnetite compensates for the lack of a pilin-associated c-type cytochrome in extracellular electron exchange. **Environmental Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 648–655, 2015.

LIU, T. et al. Diversity and abundance of microbial communities in uasb reactors during methane production from hydrolyzed wheat straw and lucerne. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1–27, 2020a.

LIU, Y. et al. Thermodynamic analysis of direct interspecies electron transfer in syntrophic methanogenesis based on the optimized energy distribution. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122345, 2020b.

LIU, X. et al. Effects of organic matter and initial carbon–nitrogen ratio on the bioconversion of volatile fatty acids from sewage sludge. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 83, n. 7, p. 1049–1055, 2008.

LIU, Y. et al. Inhibition mitigation and ecological mechanism of mesophilic methanogenesis triggered by supplement of ferroferric oxide in sulfate-containing systems. **Bioresource Technology**, v. 288, p. 121546, 2019.

LOVLEY, D. R. Live wires: direct extracellular electron exchange for bioenergy and the bioremediation of energy-related contamination. **Energy & Environmental Science**, v. 4, n. 12, p. 4896, 2011a.

LOVLEY, D. R. Reach out and touch someone: Potential impact of DIET (direct interspecies energy transfer) on anaerobic biogeochemistry, bioremediation, and bioenergy. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 101–105, 2011b.

LOVLEY, D. R. Electrotrophy: Other microbial species, iron, and electrodes as electron donors for microbial respirations. **Bioresource Technology**, v. 345, p. 126553, 2022.

LU, J. S.; CHANG, J. S.; LEE, D. J. Adding carbon-based materials on anaerobic digestion performance: A mini-review. **Bioresource Technology**, p. 122696, 2020.

LUO, L. et al. Conversion of food waste to bioenergy and biochemicals via anaerobic digestion. **Biomass, Biofuels, Biochemicals**, p. 25–44, 2022.

MA, H. et al. Use of Extracellular Polymer Substance as an Additive to improve biogas

yield and digestion performance. **Energy and Fuels**, v. 33, n. 12, p. 12628–12636, 2019.

MA, J. et al. Maximum removal rate of propionic acid as a sole carbon source in UASB reactors and the importance of the macro- and micro-nutrients stimulation. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 14, p. 3477–3482, 2009.

MA, J. et al. Powdered activated carbon facilitates methane productivity of anaerobic co-digestion via acidification alleviating: Microbial and metabolic insights. **Bioresource Technology**, v. 313, p. 123706, 2020.

MA, K. et al. Insight into the performance and microbial community profiles of magnetite-amended anaerobic digestion: Varying promotion effects at increased loads. **Bioresource Technology**, v. 329, p. 124928, 2021a.

MA, K. et al. Effect of magnetite on anaerobic digestion treating saline wastewater: Methane production, biomass aggregation and microbial community dynamics. **Bioresource Technology**, v. 341, p. 125783, 2021b.

MAGAMA, P.; CHIYANZU, I.; MULOPO, J. A systematic review of sustainable fruit and vegetable waste recycling alternatives and possibilities for anaerobic biorefinery. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101031, 2022.

MAGDALENA, J. A.; GRESES, S.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. Anaerobic degradation of protein-rich biomass in an UASB reactor: Organic loading rate effect on product output and microbial communities dynamics. **Journal of Environmental Management**, v. 274, 2020.

MAINARDIS, M.; BUTTAZZONI, M.; GOI, D. Up-flow anaerobic sludge blanket (Uasb) technology for energy recovery: A review on state-of-the-art and recent technological advances. **Bioengineering**, v. 7, n. 2, 2020.

MAJEWSKI, P.; THIERRY, B. Functionalized Magnetite Nanoparticles—Synthesis, Properties, and Bio-Applications. **Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences**, v. 32, n. 3–4, p. 203–215, 7 2007.

MALINOWSKY, C. et al. Start-up phase optimization of two-phase anaerobic digestion of food waste: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. **Journal of Environmental Management**, v. 296, 2021.

MAND, T. D.; METCALF, W. W. Energy Conservation and hydrogenase function in methanogenic archaea, in particular the genus *Methanosarcina* . **Microbiology and**

Molecular Biology Reviews, v. 83, n. 4, p. 1–22, 2019.

MARTINS, G. et al. Methane production and conductive materials: A critical review. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 18, p. 10241–10253, 2018.

MCCARTY, P. L.; SMITH, D. P. Anaerobic wastewater treatment. **Environmental Science & Technology**, v. 20, n. 12, p. 1200–1206, 1986.

MD-SABIANI, N. H. et al. Kinetic evaluation of sonicated food waste in continuously stirred tank reactor. **Water Science and Technology**, v. 86, n. 3, p. 395–409, 2022.

METHÉ, B. a et al. Genome of *Geobacter sulfurreducens*: metal reduction in subsurface environments. **Science (New York, N.Y.)**, v. 302, n. 5652, p. 1967–9, 2003.

MIZUNO, O.; LI, Y. Y.; NOIKE, T. The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1626–1634, 1998.

MOCKAITIS, G. et al. Toxic effects of cadmium (Cd^{2+}) on anaerobic biomass: Kinetic and metabolic implications. **Journal of Environmental Management**, v. 106, p. 75–84, 2012.

MOHAN, M. S.; SWATHI, T. A review on upflow anaerobic sludge blanket reactor: Factors affecting performance, modification of configuration and its derivatives. **Water Environment Research**, v. 94, n. 1, p. e1665, 2021.

MORITA, M. et al. Potential for direct interspecies electron transfer in methanogenic wastewater digester aggregates. **mBio**, v. 2, n. 4, p. 5–7, 2011.

MOU, A. et al. Spatial distributions of granular activated carbon in up-flow anaerobic sludge blanket reactors influence methane production treating low and high solid-content wastewater. **Bioresource Technology**, v. 363, p. 127995, 2022.

MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration. **Journal of Environmental Management**, v. 98, n. 1, p. 163–167, 2012.

MOZHARASI, V. Overview of pretreatment technologies on vegetable, fruit and flower market wastes disintegration and bioenergy potential: Indian scenario. **Chemosphere**, v. 288, p. 132604, 2022.

MOZHARASI, V.; WEICHHREBE, D.; SRINIVASAN, S. V. Enhancement of methane production from vegetable, fruit and flower market wastes using extrusion as pretreatment and kinetic modeling. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 3, 2020.

MÜLLER, B. et al. Bacterial community composition and fhs profiles of low- and high-ammonia biogas digesters reveal novel syntrophic acetate-oxidising bacteria. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 1–18, 2016.

MUÑOZ-PÁEZ, K. M.; BUITRÓN, G. Bioconversion of H₂ and CO₂ from dark fermentation to methane: Effect of operating conditions on methane concentration. **Chemosphere**, v. 308, 2022.

MUSA, M. A. et al. Effect of organic loading rate on anaerobic digestion performance of mesophilic (UASB) reactor using cattle slaughterhouse wastewater as substrate. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 10, 2018.

NAYAK, A.; BHUSHAN, B. An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for food wastes. **Journal of Environmental Management**, v. 233, p. 2–370, 2019.

NGWENYA, N.; GASZYNSKI, C.; IKUMI, D. A review of winery wastewater treatment: A focus on UASB biotechnology optimisation and recovery strategies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 4, p. 108172, 2022.

NI, Z. et al. Iron-modified biochar boosts anaerobic digestion of sulfamethoxazole pharmaceutical wastewater: Performance and microbial mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, v. 452, p. 131314, 2023.

NOMURA, T. Control of microbial adhesion using fine particle technology. **Advanced Powder Technology**, v. 23, n. 5, p. 532–537, 2012.

O'CONNOR, J. et al. Environmental implications, potential value, and future of food-waste anaerobic digestate management: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 318, 2022.

OECD/FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031**. Rome, Italy; Paris, France, 2022.

PALMOWSKI, L. M.; MÜLLER, J. A. Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. **Water Science and Technology**, v. 41, n. 3, p. 155–162, 2000.

PAQUETE, C. M. et al. Let's chat: Communication between electroactive microorganisms. **Bioresource Technology**, v. 347, p. 126705, 2022.

PARK, J. H. et al. Direct interspecies electron transfer via conductive materials: A perspective for anaerobic digestion applications. **Bioresource Technology**, v. 254, p. 300–

311, 2018.

PASUPULETY, N. et al. On the role of texture and physicochemical characteristics on adsorption capacity of granular activated carbon. **Bulgarian Chemical Communications**, v. 51, n. 3, p. 414–418, 2019.

PATEL, H.; MADAMWAR, D. Biomethanation of low pH petrochemical wastewater using up-flow fixed-film anaerobic bioreactors. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 69–75, 2000.

PAVLOSTATHIS, S. G.; GIRALDO-GOMEZ, E. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 21, n. 5–6, p. 411–490, 1991.

PELLERA, F. M.; GIDARAKOS, E. Effect of substrate to inoculum ratio and inoculum type on the biochemical methane potential of solid agroindustrial waste. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 3, p. 3217–3229, 2016.

PINTO, R. P. et al. Multi-population model of a microbial electrolysis cell. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 11, p. 5039–5046, 2011.

PRADO, A.; BERENQUER, R.; ESTEVE-NÚÑEZ, A. Electroactive biochar outperforms highly conductive carbon materials for biodegrading pollutants by enhancing microbial extracellular electron transfer. **Carbon**, v. 146, p. 597–609, 2019.

RABIN, N. et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 493–512, 2015.

RAHMAN, K. M. et al. Understanding bioenergy production and optimisation at the nanoscale – a review. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 11, n. 10, p. 762–775, 2016.

RAJESHWARI, K. V. et al. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable & sustainable energy reviews**, v. 4, n. 2, p. 135–156, 2000.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 406–411, 1986.

ROMERO-GÜIZA, M. S. et al. The role of additives on anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 1486–1499, 2016.

ROMERO, R. M. et al. Improved methane production from anaerobic digestion of

liquid and raw fractions of swine manure effluent using activated carbon. **Journal of Water Process Engineering**, v. 38, p. 101576, 2020.

ROTARU, A.-E. et al. Conductive Particles Enable Syntrophic Acetate Oxidation between *Geobacter* and *Methanosarcina* from Coastal Sediments. **mbio**, v. 9, n. 3, p. 1–14, 2018.

ROTARU, A. E. et al. Direct interspecies electron transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 15, p. 4599–4605, 2014.

RYUE, J. et al. Comparative effects of GAC addition on methane productivity and microbial community in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of food waste. **Biochemical Engineering Journal**, v. 146, p. 79–87, 2019.

SABRY, T. Application of the UASB inoculated with flocculent and granular sludge in treating sewage at different hydraulic shock loads. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4073–4077, 2008.

SAIF, I. et al. Biochar assisted anaerobic digestion for biomethane production: Microbial symbiosis and electron transfer. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 3, p. 107960, 2022.

SANCHEZ, J. M. et al. Microbial colonization of different support materials used to enhance the methanogenic process. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 4, p. 480–486, 1994.

SAVOO, S.; MUDHOO, A. Biomethanation macrodynamics of vegetable residues pretreated by low-frequency microwave irradiation. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 280–286, 2018.

SCHINK, B.; STAMS, A. J. M. Syntrophism Among Prokaryotes. In: ROSENBERG, E. et al. (Ed.). **The Prokaryotes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 471–493.

SHANTHI, M.; RAJESH BANU, J.; SIVASHANMUGAM, P. Effect of surfactant assisted sonic pretreatment on liquefaction of fruits and vegetable residue: Characterization, acidogenesis, biomethane yield and energy ratio. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 35–41, 2018.

SHARMA, D.; MAHAJAN, R.; GOEL, G. Insights into direct interspecies electron

transfer mechanisms for acceleration of anaerobic digestion of wastes. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 4, p. 2133–2142, 2019.

SHEN, F. et al. Performances of anaerobic co-digestion of fruit & vegetable waste (FVW) and food waste (FW): Single-phase vs. two-phase. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 80–85, 2013.

SHEN, N. et al. Enhancement of syntrophic acetate oxidation pathway via single walled carbon nanotubes addition under high acetate concentration and thermophilic condition. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123182, 2020.

SHOW, K.-Y.; TAY, J.-H. Influence of support media on biomass growth and retention in anaerobic filters. **Water Research**, v. 33, n. 6, p. 1471–1481, 1999.

SHRESTHA, P. M. et al. Syntrophic growth with direct interspecies electron transfer as the primary mechanism for energy exchange. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 6, p. 904–910, 2013.

SIEBER, J. R.; MCINERNEY, M. J.; GUNSALUS, R. P. Genomic insights into syntrophy: the paradigm for anaerobic metabolic cooperation. **Annual review of microbiology**, v. 66, p. 429–52, 2012.

SILVA JÚNIOR, F. das C. G. da et al. Characterization of fruits and vegetables waste generated at a central horticultural wholesaler: a case study for energy production via biogas. **Industrial Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 12–14, 28 jul. 2022.

SMITH, K. S.; INGRAM-SMITH, C. *Methanosaeta*, the forgotten methanogen? **Trends in biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 150–155, 2007.

SPEECE, R. E.; MCCARTY, P. L. **Nutrient Requirements and Biological Solids Accumulation in Anaerobic Digestion**. Pergamon Press LTD, 1964.

STAMS, A. J. M.; PLUGGE, C. M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. **Nature reviews. Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 568–77, 2009.

STOODLEY, P. et al. Biofilms as Complex Differentiated Communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 187–209, 2002.

STORCK, T.; VIRDIS, B.; BATSTONE, D. J. Modelling extracellular limitations for mediated versus direct interspecies electron transfer. **The ISME Journal**, v. 10, n. 3, p. 1–11, 2015.

SU, K. et al. A Review on the interspecies electron transfer of methane production in

anaerobic digestion system. **Fermentation**, v. 9, n. 5, 2023.

SUIDAN, M. T. et al. Optimization modelling of anaerobic biofilm reactors. **Water Science & Technology**, v. 30, p. 347–355, 1994.

SUMMERS, Z. M. et al. Direct Exchange of Electrons Within Aggregates of an Evolved Syntrophic Coculture of Anaerobic Bacteria. **Science**, v. 330, n. 6009, p. 1413–1415, 2010.

SUN, W. X. et al. Improved anaerobic digestion efficiency of high-solid sewage sludge by enhanced direct interspecies electron transfer with activated carbon mediator. **Bioresource Technology**, v. 313, p. 123648, 2020.

TAN, L. C. et al. Granular activated carbon supplementation enhances anaerobic digestion of lipid-rich wastewaters. **Renewable Energy**, v. 171, p. 958–970, 2021.

TAUSEEF, S. M.; ABBASI, T.; ABBASI, S. A. Energy recovery from wastewaters with high-rate anaerobic digesters. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 704–741, 2013.

THAUER, R. K. et al. Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 579–591, 2008.

THIELE, J. H.; ZEIKUS, J. G. Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 20–29, 1988.

TIAN, T. et al. Nano-graphene induced positive effects on methanogenesis in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 41–47, 2017.

TOMA, L. et al. Food waste and food safety linkages along the supply chain. **EuroChoices**, v. 19, n. 1, p. 24–29, 2020.

UMETSU, M. et al. Functional group distribution of the carrier surface influences adhesion of *Methanothermobacter thermautotrophicus*. **Archaea**, v. 2020, p. 1–8, 2020.

VADLANI, P. V.; RAMACHANDRAN, K. B. Evaluation of UASB reactor performance during start-up operation using synthetic mixed-acid waste. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8231–8236, 2008.

VAN BODEGOM, P. M.; SCHOLTEN, J. C. M.; STAMS, A. J. M. Direct inhibition of methanogenesis by ferric iron. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 49, n. 2, p. 261–268, 2004.

VAN LIER, J. B. et al. Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 681–702, 2015.

VAN LIER, J. B. et al. Development of anaerobic high-rate reactors, focusing on sludge bed technology. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 156, 2016.

VAN OSS, C. J.; CHAUDHURY, M. K.; GOOD, R. J. Interfacial Lifshitz—van der waals and polar interactions in macroscopic systems. **Chemical Reviews**, v. 88, n. 6, p. 927–941, 1988.

VAVILIN, V. A. et al. Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. **Waste Management**, v. 28, n. 6, p. 939–951, 2008.

VÁZQUEZ-ROWE, I. et al. Food loss and waste metrics: a proposed nutritional cost footprint linking linear programming and life cycle assessment. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 25, n. 7, p. 1197–1209, 2020.

VENKITESHWARAN, K. et al. Anaerobic digester bioaugmentation influences quasi steady state performance and microbial community. **Water Research**, v. 104, p. 128–136, 2016.

VISSER, A. et al. Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 4, p. 549–556, 1993.

VITTORI ANTISARI, L. et al. Toxicity of metal oxide (CeO_2 , Fe_3O_4 , SnO_2) engineered nanoparticles on soil microbial biomass and their distribution in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 60, p. 87–94, 2013.

VOROBYOVA, O. Anaerobic filters, anaerobic fluidized bed reactors, upflow anaerobic sludge blanket reactors - anaerobic reactor for industrial wastewater treatment. **Grundlagen der Modernen Wissenschaftlichen Forschung**, p. 84–88, 2022.

WALKER, D. J. F. et al. Syntrophus conductive pili demonstrate that common hydrogen-donating syntrophs can have a direct electron transfer option. **ISME Journal**, 2020.

WANG, C. et al. A short-term stimulation of ethanol enhances the effect of magnetite on anaerobic digestion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 3, p. 1511–1522, 2019a.

WANG, K. M. et al. Comparable membrane permeability can be achieved in granular and flocculent anaerobic membrane bioreactor for sewage treatment through better sludge

blanket control. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 181–189, 2019b.

WANG, C. et al. Tolerance of Aceticlastic Methanogenesis Enhanced by Magnetite under the Condition of Ammonia Stress. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, n. 3, p. 1417–1426, 2020a.

WANG, G. et al. Redox-active biochar facilitates potential electron transfer between syntrophic partners to enhance anaerobic digestion under high organic loading rate. **Bioresource Technology**, v. 298, 2020b.

WANG, J. et al. Quantitative analysis of acetate oxidation in the presence of iron in a thermophilic methanogenic reactor. **Renewable Energy**, v. 149, p. 928–932, 2020c.

WANG, K. M. et al. Establishing the mechanisms underpinning solids breakthrough in UASB configured anaerobic membrane bioreactors to mitigate fouling. **Water Research**, v. 176, p. 115754, 2020d.

WANG, Z. et al. Impact of total solids content on anaerobic co-digestion of pig manure and food waste: Insights into shifting of the methanogenic pathway. **Waste Management**, v. 114, p. 96–106, 2020e.

WANG, D. et al. New insights into enhanced anaerobic degradation of Fischer-Tropsch wastewater with the assistance of magnetite. **Bioresource Technology**, v. 257, 2017, p. 147–156, 2018a.

WANG, P. et al. Microbial characteristics in anaerobic digestion process of food waste for methane production—A review. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 29–36, 2018b.

WANG, H. et al. Explore the difference between the single-chamber and dual-chamber microbial electrosynthesis for biogas production performance. **Bioelectrochemistry**, v. 138, p. 107726, 2021.

WANG, L. et al. Methane Promotion of Waste Sludge Anaerobic Digestion: Effect of Typical Metal Meshes on Community Evolution and Electron Transfer. **Water (Switzerland)**, v. 14, n. 19, 2022a.

WANG, Z. et al. Adsorption or direct interspecies electron transfer? A comprehensive investigation of the role of biochar in anaerobic digestion of hydrothermal liquefaction aqueous phase. **Chemical Engineering Journal**, v. 435, p. 135078, 2022b.

WANG, T. et al. Effects of metal nanoparticles on methane production from waste-activated sludge and microorganism community shift in anaerobic granular sludge. **Scientific**

Reports, v. 6, p. 1–10, 2016.

WANG, Z. et al. A critical review on dry anaerobic digestion of organic waste: Characteristics, operational conditions, and improvement strategies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 176, p. 113208, 2023.

WEILAND, P.; ROZZI, A. The start-up, operation and monitoring of high-rate anaerobic treatment systems: Discusser's report. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 8, p. 257–277, 1991.

WELTE, C.; DEPPENMEIER, U. Bioenergetics and anaerobic respiratory chains of acetoclastic methanogens. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1837, n. 7, p. 1130–1147, 2014.

WESTERHOLM, M.; DOLFING, J.; SCHNÜRER, A. Growth Characteristics and Thermodynamics of Syntrophic Acetate Oxidizers. **Environmental Science and Technology**, v. 53, n. 9, p. 5512–5520, 2019.

WU, F. et al. Effect of activated carbon/graphite on enhancing anaerobic digestion of waste activated sludge. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1–14, 2022.

WU, L. et al. Conductive materials as fantastic toolkits to stimulate direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion: new insights into methanogenesis contribution, characterization technology, and downstream treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 326, p. 116732, 2023.

XIAO, Y. et al. Extracellular polymeric substances are transient media for microbial extracellular electron transfer. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. 1–9, 2017.

XING, L. et al. Coupled effects of ferroferric oxide supplement and ethanol co-metabolism on the methanogenic oxidation of propionate. **Science of the Total Environment**, v. 723, p. 137992, 2020.

XU, F. et al. Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1047–1058, 2018.

XU, H. et al. Enhancing direct interspecies electron transfer in syntrophic-methanogenic associations with (semi)conductive iron oxides: Effects and mechanisms. **Science of The Total Environment**, v. 695, p. 133876, 2019.

XU, S. et al. Evaluations of biochar amendment on anaerobic co-digestion of pig manure and sewage sludge: waste-to-methane conversion, microbial community, and

antibiotic resistance genes. **Bioresource Technology**, v. 346, p. 126400, 2022.

XU, W. et al. Effect of granular activated carbon adsorption and size of microbial aggregates in inoculum on stimulating direct interspecies electron transfer during anaerobic digestion of fat, oil, and grease. **Bioresource Technology**, v. 368, p. 128289, 2023.

YAASHIKAA, P. R.; SENTHIL KUMAR, P.; VARJANI, S. Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126126, 2022.

YADAV, M. et al. Organic waste conversion through anaerobic digestion: A critical insight into the metabolic pathways and microbial interactions. **Metabolic Engineering**, v. 69, p. 323–337, 2022.

YAFETTO, L. Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis. **Heliyon**, v. 8, n. 3, p. e09173, 2022.

YAN, M. et al. Insights into ammonia adaptation and methanogenic precursor oxidation by genome-centric analysis. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 19, p. 12568–12582, 2020.

YAN, W. et al. The role of conductive materials in the start-up period of thermophilic anaerobic system. **Bioresource Technology**, v. 239, p. 336–344, 2017.

YAN, Y.; TAY, J.-H. Characterization of the granulation process during UASB start-up. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1573–1580, 1997.

YE, J. et al. Enhancing sludge methanogenesis with improved redox activity of extracellular polymeric substances by hematite in red mud. **Water Research**, v. 134, p. 54–62, 2018a.

YE, Q. et al. Enhancing electron transfer by magnetite during phenanthrene anaerobic methanogenic degradation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 129, p. 109–116, 2018b.

YEE, M. O. et al. Cultivating electroactive microbes-from field to bench. **Nanotechnology**, v. 31, n. 17, 2020.

YEE, M. O.; ROTARU, A. E. Extracellular electron uptake in Methanosarcinales is independent of multiheme c-type cytochromes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

YI, J. et al. Effect of increasing total solids contents on anaerobic digestion of food

waste under mesophilic conditions: Performance and microbial characteristics analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

YU, N. et al. Self-fluidized GAC-amended UASB reactor for enhanced methane production. **Chemical Engineering Journal**, v. 420, p. 127652, 2021.

YU, N.; GUO, B.; LIU, Y. Shaping biofilm microbiomes by changing GAC location during wastewater anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, v. 780, p. 146488, 2021.

YUAN, H. Y. et al. Biochar modulates methanogenesis through electron syntrophy of microorganisms with ethanol as a substrate. **Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 21, p. 12198–12207, 2018.

YUAN, T. et al. Biochar regulates enzymes activity and interspecies electron transfer to promote bioenergy recovery from a continuous two-stage food waste anaerobic digestion process. **Journal of Cleaner Production**, v. 385, p. 135690, 2023.

ZHANG, F. et al. Stimulation of methane production from benzoate with addition of carbon materials. **Science of the Total Environment**, v. 723, p. 138080, 2020a.

ZHANG, J. et al. Mixing strategies – Activated carbon nexus: Rapid start-up of thermophilic anaerobic digestion with the mesophilic anaerobic sludge as inoculum. **Bioresource Technology**, v. 310, p. 123401, 2020b.

ZHANG, J.; LU, Y. Conductive Fe₃O₄ nanoparticles accelerate syntrophic methane production from butyrate oxidation in two different lake sediments. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–9, 2016.

ZHANG, Y. et al. Reduction of Gibbs free energy and enhancement of *Methanosaeta* by bicarbonate to promote anaerobic syntrophic butyrate oxidation. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 209–217, 2018.

ZHANG, Y. et al. Roles of granular activated carbon (GAC) and operational factors on active microbiome development in anaerobic reactors. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126104, 2022.

ZHANG, Y. et al. Granular activated carbon stimulated microbial extracellular secretions in anaerobic digesters: An egalitarian act and beyond. **Chemical Engineering Journal**, v. 456, p. 140850, 2023.

ZHAO, D. et al. Mitigation of acidogenic product inhibition and elevated mass transfer

by biochar during anaerobic digestion of food waste. **Bioresource Technology**, v. 338, p. 125531, 2021.

ZHAO, Y. et al. Promotion of granular activated carbon on methanogenesis of readily acidogenic carbohydrate-rich waste at low inoculation ratio. **Science of The Total Environment**, v. 817, p. 152642, 2022.

ZHAO, Z. et al. Enhancing syntrophic metabolism in up-flow anaerobic sludge blanket reactors with conductive carbon materials. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 140–145, 2015.

ZHAO, Z. et al. Potentially shifting from interspecies hydrogen transfer to direct interspecies electron transfer for syntrophic metabolism to resist acidic impact with conductive carbon cloth. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, p. 10–18, 2017.

ZHAO, Z. et al. Why do DIETers like drinking: Metagenomic analysis for methane and energy metabolism during anaerobic digestion with ethanol. **Water Research**, v. 171, p. 115425, 2020.

ZHENG, S. et al. Methanobacterium capable of direct interspecies electron transfer. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 23, p. 15347–15354, 2020.

ZHU, J. et al. The genome characteristics and predicted function of methyl-group oxidation pathway in the obligate acetoclastic methanogens, *methanosaeta* spp. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

ZHU, X. et al. Metabolic dependencies govern microbial syntrophies during methanogenesis in an anaerobic digestion ecosystem. **Microbiome**, v. 8, p. 1–14, 2020.

ZHU, Y. et al. Alleviating acid inhibition in anaerobic digestion of food waste: Coupling ethanol-type fermentation with biochar addition. **Environmental Research**, v. 212, p. 113355, 2022.

ZHUANG, L. et al. Conductive iron oxide minerals accelerate syntrophic cooperation in methanogenic benzoate degradation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 293, n. 808, p. 37–45, 2015.

ZHUANG, L. et al. Magnetite accelerates syntrophic acetate oxidation in methanogenic systems with high ammonia concentrations. **Microbial Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 710–720, 2018.

ZHURAVLEVA, E. A. et al. Effects of various materials used to promote the direct

interspecies electron transfer on anaerobic digestion of low-concentration swine manure. **Science of the Total Environment**, v. 839, p. 156073, 2022.

ZIGANSHIN, A. M. et al. Comparative analysis of methanogenic communities in different laboratory-scale anaerobic digesters. **Archaea**, v. 2016, 2016.

ZIGANSHINA, E. E. **Methanogenesis**. Boston, MA: Springer US, 1993.

ANEXOS

Figura-Anexo- A - Dados da operação contínua dos reatores ANSTBR

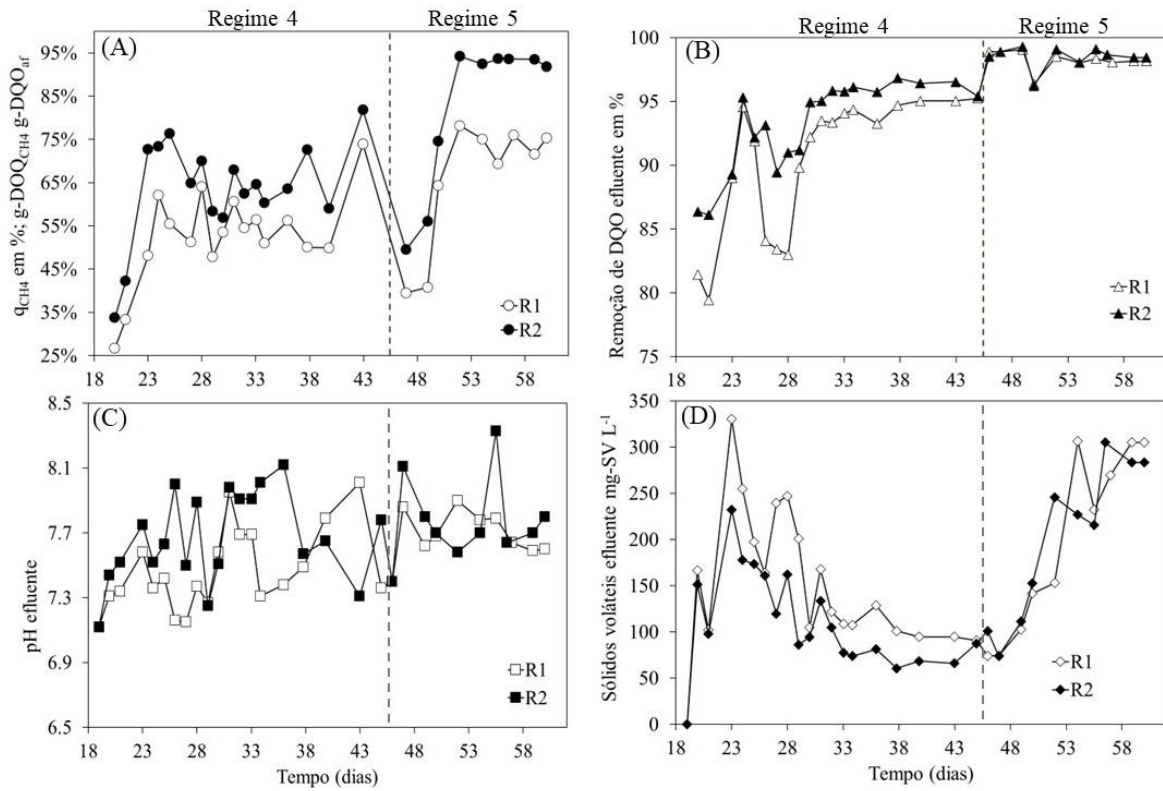


Figura-Anexo- B - Figura esquemática dos reatores UASB

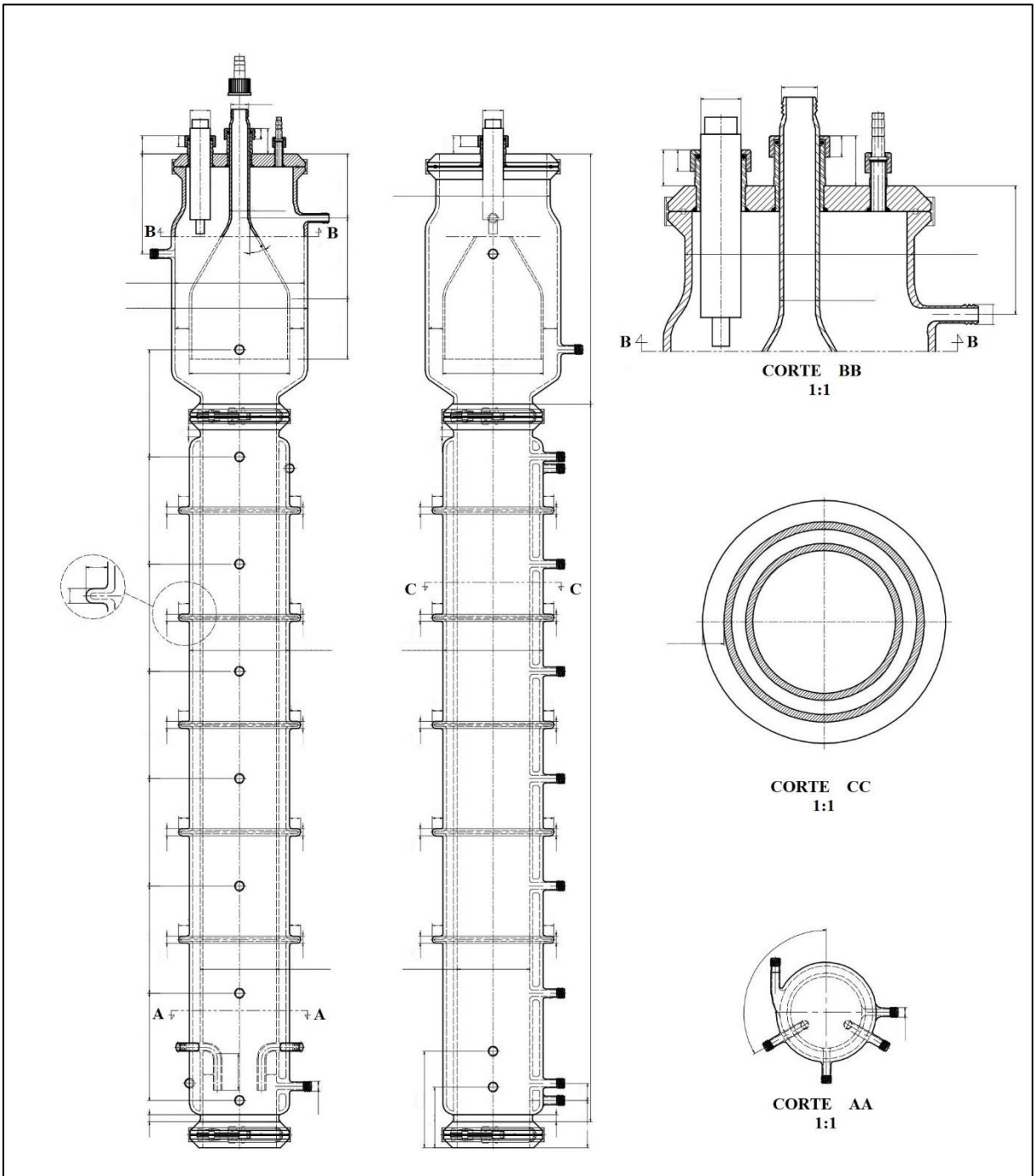


Figura-Anexo- C - Equipamentos utilizados para o pre-tratamento do FVW

SISTEMA DE PRE-TRAMENTO



Triturador

Forrageira utilizada na trituração dos FVW



Centrífuga

Centrífuga de eixo vertical 100 RPM utilizada para separar as fases dos FVW triturado



Prensa

Prensa *expeller* de eixo horizontal utilizada para prensagem do FVW triturado.

Figura-Anexo- D - Imagem do FVW triturado (esquerda) e do FVWL (direita).



Figura-Anexo- E - Apresentação diária de dados operacionais para OLR (A), V_{CH_4} (B), q_{CH_4} (C) e MY_{COD} (D) de ambos os reatores UASB operados em paralelo para os cinco estágios

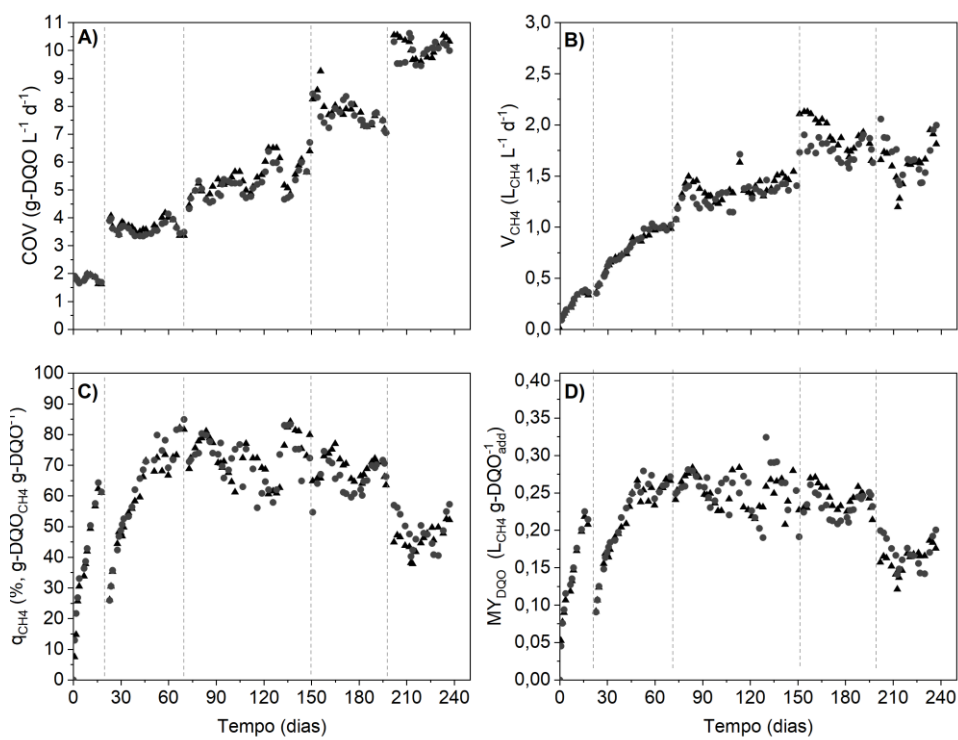


Figura-Anexo- F Apresentação diária dos dados operacionais para OLR (A), V_{CH_4} (B), q_{CH_4} (C) e MY_{COD} (D) de ambos os reatores UASB operados em paralelo para todos os estágios de operação com FVW_L .

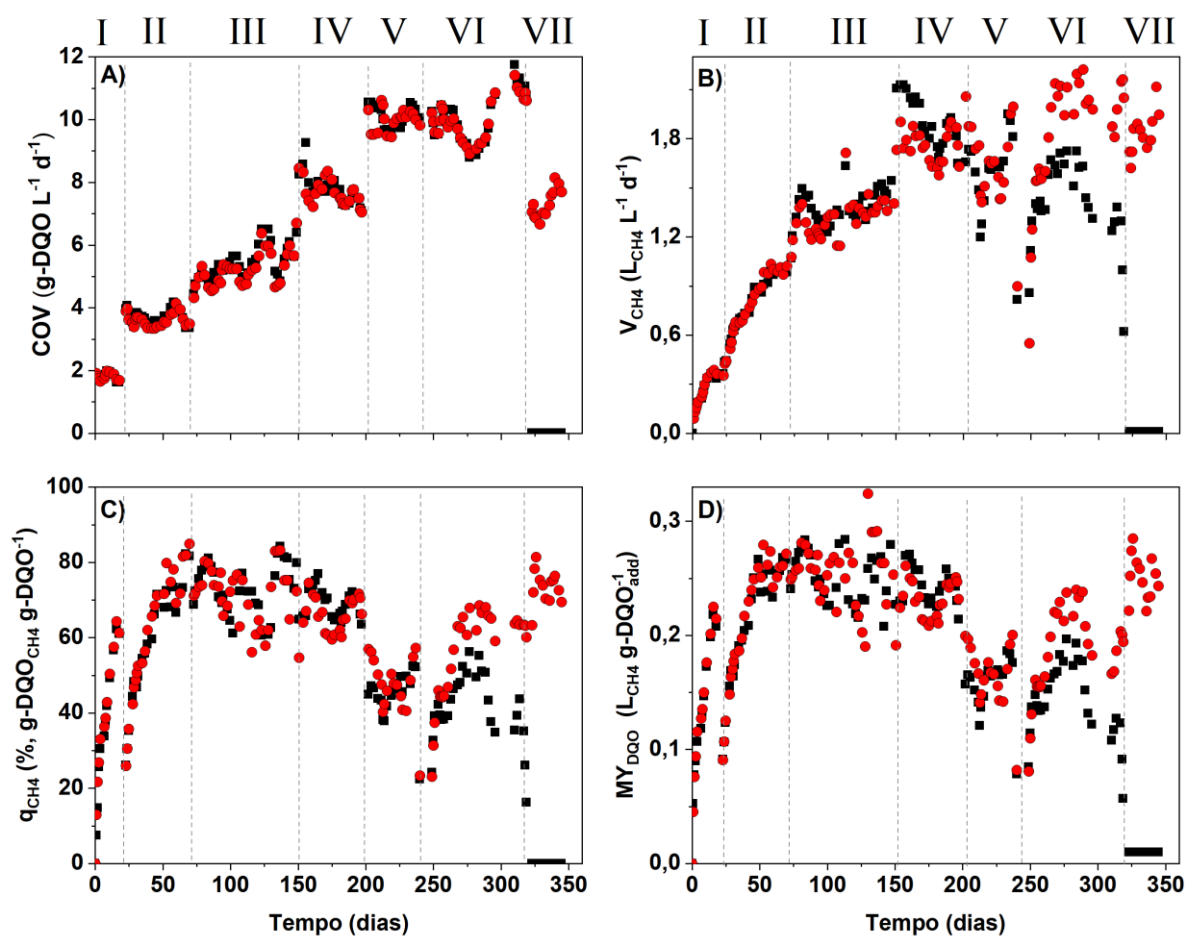


Figura-Anexo- G – auto aderência do GAC pelo microbioma do reator UASB2.





EESC • USP