

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

**ADIÇÃO DE FERRO NAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE
CERVEJARIA VISANDO AUMENTO DA PRODUÇÃO DE
METANO E A ESTABILIDADE DE REATORES UASB EM
DOIS ESTÁGIOS**

Amanda Sá Quintanilha

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2020

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

**ADIÇÃO DE FERRO NAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE
CERVEJARIA VISANDO AUMENTO DA PRODUÇÃO DE
METANO E A ESTABILIDADE DE REATORES UASB EM
DOIS ESTÁGIOS**

Amanda Sá Quintanilha

Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira

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

2020

Q7a

Quintanilha, Amanda Sá

Adição de ferro nas águas residuárias de cervejaria visando aumento da produção de metano e a estabilidade de reatores UASB em dois estágios / Amanda Sá Quintanilha. -- Jaboticabal, 2020
75 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Roberto Alves de Oliveira

1. Digestão de águas residuais. 2. Resíduos industriais. 3. Sewage Microbiology. 4. Reatores UASB. 5. Metano. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ADIÇÃO DE FERRO NAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE CERVEJARIA VISANDO O AUMENTO DA PRODUÇÃO DE METANO E A ESTABILIDADE DE REATORES UASB EM DOIS ESTÁGIOS

AUTORA: AMANDA SÁ QUINTANILHA

ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

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


Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA
Departamento de Engenharia Rural / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. EDSON APARECIDO ABDUL NOUR
Departamento de Saneamento e Ambiente / Universidade Estadual de Campinas/SP


Prof. Dr. MARCELO BRUNO
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos / UNIFEB / Barretos/SP

Jaboticabal, 11 de fevereiro de 2020

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

AMANDA SÁ QUINTANILHA – Filha de Cleber Wilson de Araújo Quintanilha e Tania Regina Siqueira Sá, nascida em Niterói, no Estado do Rio de Janeiro, no dia 30 de julho de 1987. Coursou bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – RJ, onde desenvolveu projeto de pesquisa com bolsa de iniciação científica PIBIC, e se envolveu em atividades extracurriculares de monitoria, curadoria, educação e integralização da ciência e o público. Paralelamente, conheceu a produção de cervejas em 2013, começando a estudar e a trabalhar neste setor. Em março de 2017 iniciou o curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, em nível de Mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista - UNESP, situada em Jaboticabal – SP.

“Um passo à frente e você não está mais no mesmo lugar.”

(Chico Science)

Dedico este trabalho a você, que o lê agora.
Mantenha sempre em mente o motivo pelo
qual escolheu o caminho acadêmico e não
deixe de aproveitar todos os bons momentos.
Espero que lhe seja útil.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido André, que me ajudou de diversas maneiras no experimento, me apoiou e não me deixou desistir, mesmo que eu querendo muito em alguns momentos.

Aos amigos do laboratório, que sempre me ajudaram, direta ou indiretamente, e pelas trocas de ideias, nos cafés e risadas que tornavam tudo mais leve. Ao longo do processo tive perdas pessoais inestimáveis que me abalaram, mas o experimento permaneceu caminhando (e minha sanidade também rsrs) com a ajuda de vocês: Alexandra, Ailton, Bal, Daniele, Denis, Eliane, Jorge, Juliana, Kleber, Michel, Renata, Stella, Valciney e Wilmar.

Ao Kleber também, por toda ajuda desde o início, com o início do experimento, operação dos reatores, análises e por sempre compartilhar sua experiência.

Ao Valciney também, por toda ajuda em tantas etapas do trabalho, análise de dados, no desenvolvimento do artigo e nas revisões da dissertação.

À professora Rose por também me auxiliar no experimento e nas revisões do trabalho até a versão final.

Ao professor Roberto, pela oportunidade, e o desafio, de desenvolver o projeto mesmo eu não tendo experiência na área e com material um pouco fora do habitual.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. E agradeço à CAPES pelo auxílio imprescindível.

Finalizo este processo sendo uma pessoa diferente da que o iniciou. Sou grata a todos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Produção cervejeira	4
2.2 Água residuárias de cervejaria	8
2.3 Tratamento anaeróbio em dois estágios	10
2.4 Nutrientes na digestão anaeróbia	12
2.5 Trabalhos anteriores	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Local	16
3.1.1 Configurações experimentais	16
3.1.2 Lodo de inóculo	17
3.1.3 Afluente dos reatores	18
3.2 Descrições da operação do sistema de tratamento	18
3.3 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos nos afluentes, efluentes, lodo e biogás	19
3.3.1 Temperatura do ar	20
3.3.2 pH e alcalinidades	20
3.3.3 Ácidos voláteis totais (AVT)	21
3.3.4 Demanda química de oxigênio (DQO)	21
3.3.5 Produção de biogás	21
3.3.6 Composição do biogás	22
3.4 Análises moleculares	23
3.4.1 Amostragem de lodo e extração de DNA	23
3.4.2 qPCR e sequenciamento 16s	23
3.5 Cálculos e análise estatística	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 Temperatura	25
4.2 pH, alcalinidade, ácidos voláteis totais nos reatores UASB em dois estágios	26
4.3 Demanda química de oxigênio (DQO)	29
4.3.1 DQO dos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)	29

4.3.2 Eficiências de remoção de DQO nos reatores UASB (R1 e R2).....	30
4.4 Sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)	32
4.5 Produção e composição de biogás	34
4.6 Sólidos totais e voláteis do lodo dos reatores UASB, R1 e R2.	43
4.7 Teores de N e P nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)	44
4.8 Teores de macro e micronutrientes nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)	46
4.9 Microbiota do sistema R1 e R2	49
4.9.1 Análises da dinâmica da composição da comunidade microbiana	49
4.10.2 Análises da dinâmica de composição da comunidade microbiana qPCR em tempo real	51
5. CONCLUSÃO	54
6. REFERÊNCIAS.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo produtivo da cerveja. Adaptado de OLAJIRE (2012).....	5
Figura 2. Representação esquemática do sistema de tratamento com os reatores anaeróbios UASB (R1 e R2).	17
Figura 3. Valores das temperaturas máximas, médias e mínimas do ar observadas na Estação Agroclimatológica durante a operação dos reatores UASB, R1 e R2.	26
Figura 4. Valor de pH no afluente e efluente dos reatores UASB (R1 e R2) ao longo do experimento.	27
Figura 5. Concentrações de alcalinidade total (AT) nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).	27
Figura 6. Concentrações da alcalinidade intermediária (AI) nos reatores UASB (R1 e R2).	27
Figura 7. Concentração de alcalinidade parcial (AP) nos afluentes e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2).	28
Figura 8. Concentração dos ácidos voláteis totais (AVT) nos afluentes e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2) durante o experimento.	28
Figura 9. Valores de carga orgânica volumétrica (COV) aplicada nos reatores UASB (R1 e R2) ao longo do experimento.	29
Figura 10. Valores de DQOtotal no afluente e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).	29
Figura 11. Valores de DQOdiss no afluente e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2).	29
Figura 12. Produção volumétrica de metano durante a operação dos reatores UASB (R1 e R2) durante o período de experimento.	34
Figura 13. Produção volumétrica de metano durante a operação do sistema de reatores UASB (R1+R2) durante o período de experimento.	35
Figura 14. Produção específica de metano versus COV ($\text{g DQOtotal (L d)}^{-1}$) aplicada durante a operação dos reatores UASB (R1 e R2).	35

- Figura 15. Distribuição taxonômica em nível de filo (a) e nível de gênero (b) nos reatores R1 e R2 com e sem a suplementação de Fe. Others: táxons com <1% da composição total.....50
- Figura 16. Quantificação absoluta dos microrganismos com qPCR dos domínios Bacteria e Archaea (a), três ordens (b) e duas famílias (c) do domínio arquea presente no lodo dos reatores UASB de dois estágios (R1 e R2). SV: Concentração de sólidos voláteis.53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Origem das águas residuárias de cervejaria.	9
Tabela 2. Condições operacionais do sistema UASB de dois estágios.	19
Tabela 3. Exames e determinações, freqüência e fontes das metodologias utilizadas.	20
Tabela 4. Valores médios mensais e coeficientes de variação (c.v. em %) da temperatura diária do ar máxima, média e mínima durante a operação dos reatores (R1 e R2).	25
Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) de pH, N-amoniaco, alcalinidade parcial (AP), alcalinidade intermediária (AI), alcalinidade total (AT) e ácidos voláteis totais (AVT) do afluente e efluentes (R1 e R2); e relação AI/AP dos efluentes.	25
Tabela 6. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) da DQOtotal, DQOdiss, DQOsusp e suas eficiências de remoção, do afluente e efluentes, para as faixas de carga orgânica volumétrica (COV), durante a operação dos reatores UASB.	28
Tabela 7. Valores médios de carga orgânica volumétrica (COV) e eficiências de remoção de DQOtotal e DQOdiss.	31
Tabela 8. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações dos sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF), nos afluentes e efluentes, e respectivas eficiências de remoção.	33
Tabela 9. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %), das produções volumétrica (PVM) e específica de metano (PEM).	41
Tabela 10. Concentrações de sólidos totais (ST), nos pontos de coleta de lodo (apresentados na Figura 2) e taxas de carregamento orgânico no lodo (TCL) nos reatores UASB R1 e R2 e carga orgânica volumétrica (COV), durante a partida, fase III e VI.	43
Tabela 11. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações e das respectivas eficiências de remoção (em %) do nitrogênio Kjeldahl (NTK) e do fósforo total (P-total), do afluente e dos efluentes dos reatores R1 e R1.	45
Tabela 12. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações de Fe, Ni, Co, Cu e Mn (mg L^{-1}) no afluente e nos efluentes e respectivas eficiências de remoção em % do sistema R1+R2.	47

ADIÇÃO DE FERRO NAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE CERVEJARIA VISANDO AUMENTO DA PRODUÇÃO DE METANO E A ESTABILIDADE DE REATORES UASB EM DOIS ESTÁGIOS

RESUMO: O desempenho de um sistema UASB de dois estágios no tratamento de águas residuárias de cervejaria com a suplementação de Fe foi avaliado, buscando melhorar a remoção de material orgânico, produção e a qualidade do biogás. Os reatores foram operados durante 525 dias, com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 23,5 h e 13,2 h no R1 e 15,5 h e 8,7 h no R2. No período de 343 a 525 dias, realizou-se a suplementação com diferentes dosagens de Fe. O sistema mostrou estabilidade operacional, e os maiores valores de produção volumétrica de metano foram de $2,05 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no R1 e $1,49 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no R2 com as maiores COV de $30,2 \text{ g DQO total } (\text{L d})^{-1}$ no R1 e $13,8 \text{ g DQO total } (\text{L d})^{-1}$ no R2. A produção específica de metano foi crescente no R1 de 0,09 a $0,31 \text{ L CH}_4 (\text{g DQO total removida})^{-1}$, e no R2, de 0,10 a $0,21 \text{ L CH}_4 (\text{g DQO total removida})^{-1}$. As maiores eficiências de remoção de DQO total, DQO dissolvida foram de 83,5 %. O melhor desempenho dos reatores UASB em dois estágios foi associado com uma proporção adequada de Fe, que favoreceu o tratamento anaeróbio de águas residuárias de cervejaria com elevada COV e produção de metano em condições estáveis.

PALAVRAS-CHAVE: tratamento anaeróbio, carga orgânica volumétrica, biogás.

ADDITION OF IRON TO THE BREWERY RESIDUAL WATERS AIMING AT INCREASING METHANE PRODUCTION AND A STABILITY IN TWO STAGE UASB REACTORS

ABSTRACT: The performance of a two-stage UASB system in the treatment of brewery wastewater with Fe supplementation was evaluated, seeking greater removal of organic material, production and biogas quality. The reactors were operated for 525 days, with hydraulic detention time (HDT) of 23.5 h and 13.2 h in R1 and 15.5 h and 8.7 h in R2. From 343 to 525 days, Fe supplementation was performed and different dosages were tested. The system showed operational stability, the highest methane volumetric production values were $2.05 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ in R1 and $1.49 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ in R2 with the highest OLR of 30, $2 \text{ g total COD } (\text{L d})^{-1}$ at R1 and $13.8 \text{ g total COD } (\text{L d})^{-1}$. Specific methane production was increased at R1 from 0.09 to $0.31 \text{ L CH}_4 (\text{g COD}_{\text{total removed}})^{-1}$ and at R2 from 0.10 to $0.21 \text{ L CH}_4 (\text{g COD}_{\text{total removed}})^{-1}$. The highest removal efficiencies of total COD and dissolved COD were 83.5%. The better performance of two-stage UASB reactors was associated with an adequate proportion of Fe, which favored anaerobic treatment of high OLR brewery wastewater and methane production under stable conditions.

KEYWORDS: Anaerobic treatment, volumetric organic charge, biogas.

1. INTRODUÇÃO

A cerveja possui mercado consumidor crescente em vários países, constituindo um dos principais produtos que compõem o setor de bebidas. China, Estados Unidos e Brasil estão entre os maiores países produtores (BARTH-HAAS, 2019). A produção mundial de cerveja de 2018 foi estimada em 1,9 trilhões de litros (BARTH-HAAS, 2019). Dependendo do processo de produção e uso da água, a produção de 1 litro de cerveja pode gerar de 3 a 11 litros de águas residuárias (CHEN et al., 2016; OLAJIRE, 2012). Assim, somente em 2018, podem ser estimados a geração de 5,7 e 20,9 trilhões de litros de águas residuárias para fabricação de cerveja e valores ainda maiores para 2019.

A produção de cerveja começa com a adição de água ao malte, previamente triturado, seguida do cozimento dessa mistura, extraindo para o líquido a maior parte do extrato do malte. Posteriormente, esse material é filtrado (clarificado), removendo a porção sólida (bagaço de malte) enquanto o líquido (mosto) continua o processo. Além do bagaço de malte, parte do mosto clarificado (MC) com extrato residual dos grãos permanece na panela (KUNZE, 2004). Assim como bagaço de malte, o MC é descartado, embora tenha alto teor de matéria orgânica concentrada altamente biodegradável e que seja, portanto, potencial poluente ambiental (KUNZE, 2004).

A qualidade e a quantidade de efluentes de uma cervejaria variam significativamente, dependendo dos processos realizados (fermentação, filtração e envase, por exemplo) (KANAGACHANDRAN; JAYARATNE; BREW, 2006). Os maiores constituintes das águas residuárias de cervejaria incluem quantidades residuais de matérias-primas, sólidos, açúcares, etanol, levedura, entre outros componentes (FILAUDEAU; BLANPAIN-AVET; DAUFIN, 2006), que requerem tratamentos antes da descarga em corpos d'água (ARANTES et al., 2017; CHEN et al., 2016).

As águas residuárias de cervejaria possuem elevadas concentrações de material orgânico (FILAUDEAU; BLANPAIN-AVET; DAUFIN, 2006), variando de 2000 a 32500 mg L⁻¹ de DQO (ARANTES et al., 2017), que com o descarte inadequado pode causar danos ambientais, fazendo necessário o seu tratamento. Uma alternativa interessante para a redução de materiais orgânicos e a produção de

bioenergia é a digestão anaeróbia, levando em consideração a baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação e operação, tolerância a altas taxas orgânicas (CHERNICHARO, 2007). A produção de biogás a partir de resíduos de cervejaria é uma opção interessante, pois permite a redução do uso de combustível fóssil e diminui os custos com energia e disposição de resíduos, além de atenuar a emissão de carbono (PANJICKO et al., 2017).

Na digestão anaeróbia das águas residuárias da cervejaria, a hidrólise é considerada uma etapa limitante e diversos estudos têm buscado o avanço da melhoria da hidrólise com pré-tratamentos físicos, termoquímicos e biológicos (GUNES et al., 2019; RAJAGOPAL et al., 2019). A digestão anaeróbia utilizando reatores em dois estágios permite a manutenção de condições ideais para cada grupo de microrganismos envolvidos em cada fase da digestão anaeróbia (MENG et al., 2017; SUÁREZ et al., 2018). Na utilização de reatores em dois estágios, a hidrólise e a maior parte da acidogênese podem ser realizadas no primeiro estágio (acidogênico), enquanto a produção de metano pode ser realizada no segundo estágio (metanogênico) (MÉNDEZ-ACOSTA et al., 2016). Além disso, reduz os efeitos inibitórios de compostos tóxicos em microrganismos metanogênicos, resultando em maior concentração de metano no biogás, melhora a tolerância a altas cargas orgânicas e aumenta a estabilidade (MOTA et al., 2013).

A configuração de reatores anaeróbios em dois estágios tem sido aplicada com sucesso em estudos recentes tratando outros tipos de águas residuárias industriais, como a vinhaça de cana-de-açúcar (SANTANA JUNIOR et al., 2019) e as águas residuárias de processamento de café (SUÁREZ et al., 2018; VILLAMONTOYA et al., 2016). Apesar disso, a maioria dos trabalhos já realizados com o tratamento anaeróbio das águas residuárias de cervejaria foram desenvolvidos em reatores únicos ou precedido um tanque de agitação, com baixa remoção de matéria orgânica e sem coleta de biogás, antes do reator anaeróbio (FIREW et al. 2018).

No processo de digestão anaeróbia, a comunidade de bactérias produtoras de ácidos multiplica-se mais rapidamente do que as bactérias consumidoras, o que pode levar ao acúmulo de ácido, redução no pH e conseqüente inibição da metanogênese (VINTILOIU et. al., 2013). Além disso, estudos anteriores descrevem que a deficiência de elementos traço pode causar inibição de bactérias sintróficas e

arqueias metanogênicas, gerando desequilíbrio nos processos de digestão anaeróbia em condições de elevada COV e baixo TDH (JANKE et al., 2016).

Os microrganismos metanogênicos desempenham um papel essencial na síntese de coenzimas das vias de digestão anaeróbica (VINTILOIU et. al., 2013; SPEECE, 2008). O Fe é um dos aditivos mais importantes para melhoria do desempenho da digestão anaeróbia por ser co-fator chave em muitas atividades enzimáticas, como a oxidoreductase de piruvato ferredoxina, além de ser fundamental na metanogênese atua como acceptor final de elétrons (VINTILOIU et al. 2013). Embora a exigência de elementos traço seja extremamente baixa, a deficiência pode fazer com que as enzimas e coenzimas necessárias para o metabolismo não sejam adequadamente sintetizadas, limitando severamente o crescimento de microrganismos (RAJESHWARI et al., 2000; THANH et al., 2016). E, ainda assim, poucos trabalhos abordam os nutrientes das águas residuárias de cervejaria. Até mesmo a variação do teor de Fe é pouco descrita: SUBRAMANIYAM et al. (2016) utilizando o efluente no cultivo de algas encontraram o Fe em concentração média de 0,034 mg L⁻¹ e ZVAUYA et al. (1994) usaram o tratamento aeróbico e termofílico para o efluente que continha 1,65 mg L⁻¹ de Fe em média. Contudo, ainda são necessários estudos sobre os efeitos da suplementação de Fe no tratamento anaeróbio das águas residuárias de cervejaria.

1.1 Objetivos

As águas residuárias das cervejarias apresentam alta biodegradabilidade (PRIEST e STEWART, 2006). Assim, consideramos que a utilização de reatores UASB em dois estágios, com estratégias operacionais apropriadas, como recirculação de efluentes, aumento da COV e suplementação de Fe, pode aumentar a produção de metano, mantendo uma eficiência estável de remoção de material orgânico e estabilidade do sistema.

Portanto, os objetivos do presente estudo foram avaliar:

- O tratamento de águas residuárias de cervejaria em um sistema UASB em dois estágios,
- A suplementação de Fe, nas águas residuárias de cervejaria, em diferentes concentrações.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção cervejeira

A produção de cerveja se inicia com a malteação dos grãos de cevada. Atualmente é um processo que não é feito nas cervejarias, mas é essencial para a produção da cerveja. A primeira parte do processo de malteação imita o que ocorreria na natureza se o grão de cevada fosse deixado para germinar no campo. Os grãos, ainda com casca, são mergulhados em água fria e depois totalmente drenados para garantir que os grãos não sejam asfixiados. Uma vez completamente molhados, eles são dispostos em uma cama rasa e começam a germinar, produzindo raízes. O leito de grãos é mantido úmido e fresco, passando ar úmido e frio. O embrião de grão produz e libera um hormônio vegetal, a giberelina, que ativa a camada de aleurona do grão para produzir várias enzimas. Essas enzimas, juntamente com os já presentes no grão, começam a quebrar as reservas alimentares do grão (PRIEST E STEWART, 2006).

Se fosse permitido continuar, uma nova planta de cevada será formada, mas a germinação é interrompida logo antes da brotação emergir do interior do grão através da aplicação de ar quente e seco. Além de secar o malte para preservá-lo, o calor também desenvolve cores e sabores nos grãos. As raízes são removidas mecanicamente e os grãos maltados são então armazenados prontos para uso. Embora o principal cereal maltado para fabricação de cerveja seja a cevada, outros cereais são malteados para fins específicos, principalmente para a produção de cervejas especiais: aveia, centeio, trigo, entre outros. O malte de trigo, por exemplo, é usado na produção de cerveja Weiss (PRIEST E STEWART, 2006).

Os maltes, assim como os grãos não malteados, precisam ser moídos (Figura 1) para expor o conteúdo dos grãos, produzindo uma variedade de partículas menores. Isso facilita a extração mais rápida dos componentes solúveis do malte durante a conversão enzimática na etapa seguinte. A maioria das cervejarias utiliza moinhos de rolos, que produzem granulação grossa para facilitar a clarificação, mas as grandes indústrias podem deixar o granulado muito mais fino com uso de moinho de martelos que promovem trituração mais severa (PRIEST E STEWART, 2006).

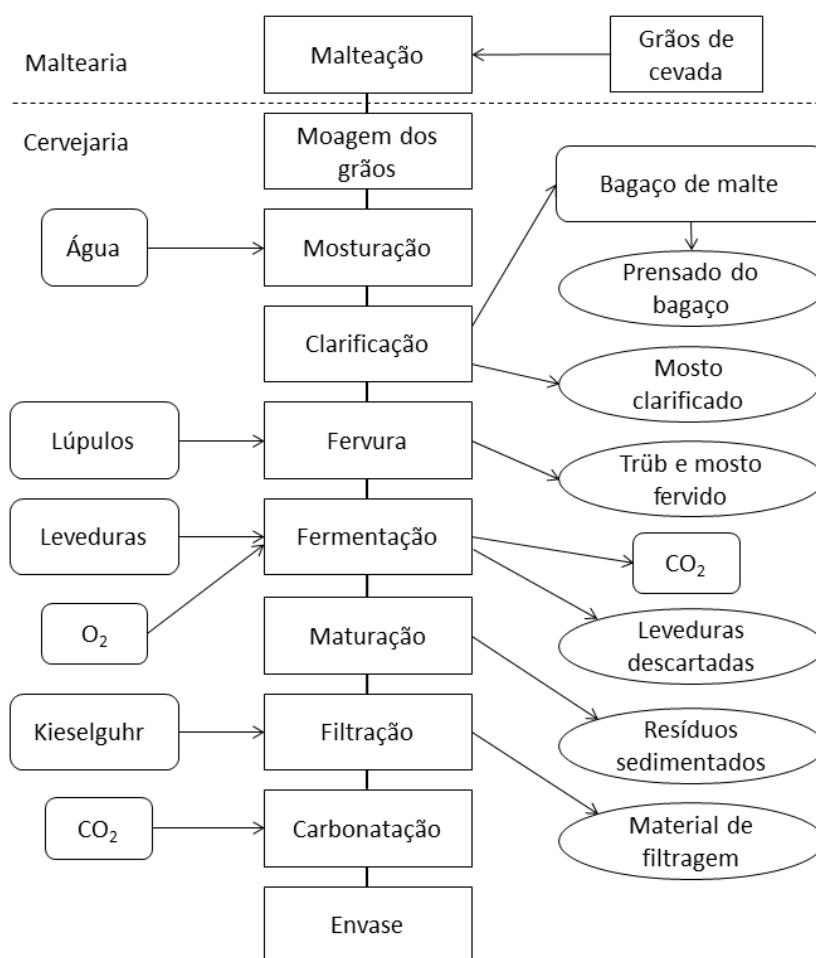


Figura 1. Processo produtivo da cerveja. Adaptado de OLAJIRE (2012).

A mosturação é o processo de misturar o malte triturado e os aditivos de cereais, se usados, com água quente em uma tina de cozimento e deixar a mistura repousar enquanto as enzimas degradam as proteínas e o amido para produzir o extrato solúvel de malte, mosto. A temperatura dessa mistura é determinada pelas temperaturas ótimas das diferentes enzimas obtidas nos grãos. Dessa maneira, são feitas rampas de temperaturas com tempos estimados para as atividades enzimáticas: para quebras de conteúdo proteico é favorecida a proteólise com temperaturas entre 40 e 50°C, que pode ser seguida de temperaturas ótimas para hidrólise de amido com temperaturas entre 54 a 65°C. Pode-se também fazer esse processo utilizando uma temperatura única, mas em ambos os casos, após conversão do amido (o que pode levar de meia a mais de uma hora, dependendo da

rampa utilizada e da qualidade do malte escolhido), a temperatura da mistura é elevada para a inativação das enzimas (cerca de 70 °C) (PRIEST E STEWART, 2006). Na etapa de clarificação, o que restou dos grãos, cascas na maior parte (o bagaço do malte), é retirado da fração líquida (mosto). Para isso, a mistura é transferida para uma segunda panela. Essa panela se caracteriza por ter um fundo vazado (ou fundo falso) que permite a passagem do líquido e retém os sólidos. Delicadamente a mistura é recirculada nessa panela, sempre de cima para baixo, fazendo com que a camada do bagaço torne-se um filtro natural, até que o mosto esteja mais limpo, o que pode levar duas horas. O mosto é transferido e o que resta do malte moído é lavado com água quente, extraíndo grande parte dos açúcares que restaram, e o lavado é misturado com a primeira parte na panela de fervura. Para não diluir o mosto além do esperado, a lavagem do bagaço é feita até uma concentração pré-determinada, deixando na panela uma parte do mosto que é descartado embebido no bagaço (que pode ser removido prensando o bagaço) e no fundo da panela (PRIEST E STEWART, 2006).

A fervura do mosto é feita em razão de vários objetivos importantes: esterilização do mosto para eliminar todas as bactérias, leveduras e bolores que podem competir com o fermento e possivelmente causar sabores estranhos; extração dos compostos amargos do lúpulo adicionados no início da fervura e óleos e compostos aromáticos das adições tardias; coagulação de excesso de proteínas e taninos formando partículas sólidas (trüb) que decantam tornando mais fácil a sua remoção ao final do processo; remoção de compostos voláteis indesejáveis, como o sulfeto de dimetila, por evaporação e a concentração dos açúcares por evaporação da água. Normalmente leva-se uma hora nesse processo e em seguida é feita a separação entre o mosto fervido e o trüb. As partículas de trüb podem ser removidas através da filtração com terra diatomácea (kieselguhr) ou pó de perlita. Mas a técnica de separação mais simples é o redemoinho (ou whirlpool), que utiliza a força centrífuga / centrípeta que atua sobre as partículas quando o mosto gira após a entrada tangencial na panela cilíndrica e levemente cônica. Os detritos de trüb e lúpulo são depositados formando um monte no centro da panela e o mosto brilhante pode ser retirado pelas laterais (PRIEST E STEWART, 2006).

Após a fervura, o mosto é transferido para as dornas de fermentação. E, ao mesmo tempo em que é encaminhado, ele é resfriado rapidamente até a temperatura de fermentação através de um trocador de calor usando água fria como principal meio de resfriamento. A temperatura para fermentação é tipicamente de 8 a 13 ° C para cervejas do tipo “lager” e 14 a 24 ° C para cervejas do tipo “ale”. Durante fermentação as leveduras metabolizam os açúcares, proteínas do mosto produzindo álcool, CO₂, novas células de levedura e compostos de sabor (ésteres). Como após a fervura o teor de O₂ no mosto é baixo, ele é adicionado no mosto logo após o resfriamento enquanto ele é transferido para a dorna de fermentação ou diretamente na dorna, suprindo a necessidade das leveduras. Durante a fermentação o excesso de CO₂ é expelido da dorna, para a atmosfera ou coletado e filtrado para uso posterior no processo de carbonatação. No final da fermentação, quando os açúcares se esgotam, o fermento começa sedimentar e grande parte é removido aos poucos pelo fundo da dorna, que geralmente possuem fundo cônico facilitando o processo (PRIEST E STEWART, 2006).

A maturação é um processo de armazenamento por alguns dias em baixa temperatura (<0°C) que ajuda a estabilidade coloidal da cerveja e pode deixar a cerveja cristalina. Em baixa temperatura o restante do fermento que ainda estava em suspensão e outros detritos começam a sedimentar. Os polipeptídeos e polifenóis formam flocos que também sedimentam. Nessa fase ocorre a maturação do sabor e pode ser feita adição de lúpulos para aroma e sabor. Após a limpeza à frio da cerveja, ela já pode ser carbonatada ou ela é filtrada antes da carbonatação (PRIEST E STEWART, 2006).

A filtração é necessária para a maioria das cervejas produzidas em larga escala, embora existam exceções, como a cerveja weiss, que geralmente é mantida turva. A filtração produzirá uma cerveja brilhante e espumante que permanecerá branca durante toda a sua vida útil, desde que a estabilização tenha sido aplicada corretamente. Ela é feita com terra de diatomácea (kieselguhr) ou perlita e pode remover a maioria das partículas em suspensão. Algumas preocupações com a saúde sobre a poeira dos pós de filtro e o custo ambiental de seu descarte como torta de filtro usada em aterros sanitários está incentivando métodos alternativos.

Dentre eles os mais comuns são a centrifugação de velocidade ultra-alta e o refinamento com filtro de celulose (PRIEST E STEWART, 2006).

Na carbonatação, a cerveja recebe a gaseificação com o CO₂. Pode ser que parte do gás produzido na fermentação tenha sido mantida, mas, para alcançar a carbonatação adequada, é necessário que a cerveja esteja em baixas temperaturas. Isso porque a baixa temperatura favorece a solubilidade do gás no líquido. E em altas temperaturas a tendência é contrária e perde-se o gás. A carbonatação pode ser feita tanto na mesma dorna de fermentação e/ou maturação quanto em uma dorna diferente (PRIEST E STEWART, 2006).

O envase da cerveja pode ser dividido em duas categorias: grandes volumes (barris) e pequenos volumes (latas de alumínio e garrafas de vidro). Os barris podem ser retornáveis de inox, ou descartáveis de polietileno-tereftalato (PET). As latas são descartáveis, e as garrafas podem ser descartáveis também ou retornáveis. As embalagens retornáveis, quando utilizadas, devem ser limpas antes do envase. Quando o material é descartável é feita somente o enxágue prévio do material. A pasteurização da cerveja, quando feita, pode ser na linha de envase (principalmente para barris) ou com a cerveja já envasada (em garrafas, por exemplo) (PRIEST E STEWART, 2006). Toda a água do processo de lavagem, enxágue e CIP também é incorporada aos efluentes gerados, contendo as substâncias utilizadas para a limpeza como peracéticos ou sodas, que podem diminuir a produção de metano do tratamento anaeróbio desestabilizando a microbiota dos reatores (RODRIGUEZ et al., 2013).

2.2 Água residuárias de cervejaria

A qualidade e a quantidade de efluentes de uma cervejaria variam significativamente, dependendo dos processos realizados (fermentação, filtração e envase, por exemplo) (KANAGACHANDRAN E JAYARATNE, 2006). Esses efluentes podem conter quantidades residuais de matérias-primas, sólidos, açúcares, etanol, levedura, entre outros componentes, com alta concentração de material orgânico (FILAUDEAU et al., 2006), variando de 2000 a 32500 mg L⁻¹ de DQO (ARANTES et al., 2017) e requerem tratamento antes da descarga nos corpos d'água. (ARANTES et al., 2017; CHEN et al., 2016).

PRIEST E STEWART, (2006) indicam que são várias as águas residuárias concentradas que compõe a água residuárias bruta de cervejaria (Tabela 1). Segundo os autores o licor de prensa e a água residuária da filtragem (ambos com a mesma origem e características similares) juntas formam as águas residuárias concentradas com maior teor de matéria orgânica biodegradável. Tratando esse material individualmente como um resíduo ou como uma parte significativa da matéria orgânica que compõe a água residuárias bruta da indústria cervejeira, esse material possui alto potencial energético e, no entanto é normalmente encaminhado para o esgoto ou misturado ao bagaço de malte destinado a alimentação animal.

Tabela 1. Origem das águas residuárias de cervejaria.

Processo	DBO (g L⁻¹ cerveja pronta)	Sólidos suspensos (g L⁻¹ cerveja pronta)	Tratamento anaeróbio
Clarificação (mosto clarificado)	0,74	0,28	Sim
Prensado do bagaço	1,31	0,63	Sim
Fervura (trub e mosto)	0,31	0,17	Não (presença de lúpulos)
Outras perdas, enxágue e CIP	0,22	0,14	Não (sanitizantes)
Fermento excedente	0,22	0,14	Não (leveduras vivas)
Materiais de filtro usados	0,46	1,48	Sim
Fermentação e maturação	1,25	0,28	Não (leveduras e lúpulos)
Total	4,51	3,12	

(Fonte: adaptado de Priest e Stewart, 2006).

Considerando a elevada quantidade de material orgânico, ausência de leveduras e dos compostos bactericidas presentes nos lúpulos (polifenóis que causam toxicidade na digestão anaeróbia (CHEN et al., 2008), neste estudo foi utilizado o mosto clarificado como substrato do sistema de tratamento anaeróbio. As características do mosto clarificado e do bagaço prensado são similares, pois o

prensado do bagaço é a parte do mosto clarificado que ficou retido no bagaço (Tabela 1 e Figura 1). O mosto clarificado e o prensado do bagaço possuem a maior parte do material orgânico que compõem as águas residuárias de cervejaria (Tabela 1), que pode ser destinado ao processo de digestão anaeróbia. Comparado ao mosto clarificado e o prensado do bagaço, os resíduos da fervura (trüb e mosto), de fermentação e maturação também possuem altos teores de matéria orgânica biodegradável. Mas esses materiais podem causar diretamente graves desequilíbrios na microbiota dos reatores anaeróbicos por possuírem altas concentrações de lúpulo, e conseqüentemente, os seus flavonóides com ação antibacteriana (PRIEST E STEWART, 2006). O mosto clarificado utilizado antes de se misturar às águas dos processos de limpeza chamados de CIP (*clean-in-place*) no sistema de esgotamento possui outra vantagem ao processo de digestão anaeróbia. RODRIGUEZ et al. (2013) verificaram efeitos negativos dos produtos de limpeza presentes na água residuária de cervejaria sobre a atividade metanogênica no sistema de tratamento anaeróbico.

Uma alternativa interessante para a redução de materiais orgânicos e a produção de bioenergia é a digestão anaeróbia, levando em consideração a baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação, operação e tolerância a altas taxas orgânicas (CHERNICHARO, 2007).

2.3 Tratamento anaeróbio em dois estágios

A digestão anaeróbia é um processo biológico que pode ser dividido em quatro fases principais: a hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Estas reações são intermediadas por muitas espécies microbianas, a diversidade microbiana na digestão anaeróbia pode variar em função do tipo de substrato, tipo de reatores e das características operacionais. (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012; LIN et al., 2016; PAP et al., 2015). Ela é alternativa interessante para a remoção de materiais orgânicos e produção de bioenergia, levando em consideração a baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação e operação, tolerância a altas taxas orgânicas (CHERNICHARO, 2007). A produção de biogás a partir de resíduos de cervejaria oferece uma opção viável para obter

uma redução considerável no uso de combustível fóssil, reduzindo custos com energia e disposição de resíduos, além de reduzir a emissão de carbono de sua produção (PANJICKO et al., 2017).

A digestão anaeróbia em dois estágios permite a manutenção de condições ideais para cada grupo de microrganismos envolvidos em cada fase da digestão anaeróbia, onde a hidrólise e a maior parte da acidogênese podem ser realizadas no primeiro estágio (acidogênico), enquanto a produção de metano pode ser realizada no segundo estágio (metanogênico). Também reduz os efeitos inibitórios de compostos tóxicos em microrganismos metanogênicos, resultando em maior concentração de metano no biogás, melhora a tolerância a altas cargas orgânicas e aumenta a estabilidade (Mota et al., 2013). E tem sido aplicada com sucesso em estudos recentes que tratam outros tipos de águas residuais industriais, como a vinhaça de cana-de-açúcar (Santana Junior et al., 2019) e as águas residuais de processamento de café (SUÁREZ et al., 2018; VILLA-MONTOYA et al., 2016)

Na digestão anaeróbia das águas residuais da cervejaria, a hidrólise é considerada uma etapa limitante; portanto, a maioria dos estudos se concentrou no avanço da melhoria da hidrólise com pré-tratamentos físicos, termoquímicos e biológicos (RAJAGOPAL et al, 2019; GUNES et al, 2019). No processo de digestão anaeróbia, a comunidade de bactérias produtoras de ácido cresce mais rapidamente do que as bactérias consumidoras de ácido em orgânicos, o que pode levar ao acúmulo de ácido, o que pode levar a uma redução no pH e conseqüente inibição da metanogênese (MÉNDEZ-ACOSTA et al., 2016).

Levando-se em consideração que as águas residuárias de cervejaria costumam apresentar também grandes variações das suas características, as indústrias desse setor podem utilizar o sistema de dois estágios composto por um tanque com agitação (ou tanque de equalização) seguido de um reator UASB, para proporcionar essa hidrólise e para atenuar o efeito de choques de carga (PRIEST E STEWART, 2006). No entanto, nessa configuração não é possível recuperar o metano produzido e a remoção de DQO chega à 70% (PRIEST E STEWART, 2006).

2.4 Nutrientes na digestão anaeróbia

A importância do Fe foi relatada em vários estudos com outros tipos de águas residuais (JANKE et al., 2016; SUÁREZ et al., 2018; YAMADA et al., 2015). A deficiência de oligoelementos pode causar inibição de bactérias sintróficas e arqueias metanogênicas, promovendo desequilíbrio nos processos de digestão anaeróbica sob condições de altas cargas orgânicas volumétricas (COV) (JANKE et al., 2016). Isso ocorre em virtude da melhora na atividade dos micro-organismos metanogênicos, por desempenharem papel essencial na síntese de coenzimas das vias de digestão anaeróbia (VINTILOIU et. al., 2013; SPEECE, 2008).

O Fe é um dos aditivos mais importantes na melhoria do desempenho da digestão anaeróbica por ser co-fator em muitas atividades-chave enzimáticas, como a oxidoreductase de piruvato ferredoxina, além de ser fundamental na metanogênese para atuar como umceptor final de elétrons (VINTILOIU et. al., 2013). E apesar da composição dos microrganismos metanogênicos ter em torno de 700 a 2800 mg Kg⁻¹ de Fe (SPEECE, 2008), dos trabalhos de tratamento anaeróbio desse efluente, esse tema ainda não é abordado (AHN et al. 2001; CRONIN E LO 1998; PARAWIRA et al. 2005; RAO et al. 2007; YU E GU 1996). Até mesmo a sua concentração no efluente é pouco descrita, entre 0,036 a 1,65 mg L⁻¹. (SUBRAMANIYAM et al.,2016; ZVAUYA et al. 1994).

2.5 Trabalhos anteriores

A maioria dos trabalhos já realizados de na área de tratamento anaeróbio das águas residuárias de cervejaria foi desenvolvida em reatores únicos. FIREW et al., (2018) chegaram mais próximos do sistema em duas fases utilizando um tanque de agitação antes do reator UASB. No entanto, esse equipamento não permite captar o biogás produzido, impedindo qualquer análise da sua capacidade de produção de biogás nesse primeiro estágio.

XIANGWEN et al. (2008) avaliaram o desempenho de um reator ASBR em escala piloto (volume de 45 L) e temperatura controlada de 33 °C para o tratamento anaeróbio de água residuárias de cervejaria, oriunda da panela de fervura (mosto fervido). Para correção do pH entre 6,0 e 7,0 foi utilizado NaOH, o TDH adotado foi

de 24 h, a COV foi de 1,5 a 5 g DQO total (L d)⁻¹. Os autores observaram baixas concentrações de AVT no efluente (>200 mg L⁻¹ na maior parte do experimento), a produção de biogás foi de 2,40 L (L d)⁻¹, com concentrações de CH₄ no biogás de 68% e a remoção DQO de 90%.

FIREW et al (2018) trataram água residuária de cervejaria em reator UASB com TDH de 6 h e temperatura de 38°C. O afluente tratado apresentava valores médios de DQO total de 2565,7 mg L⁻¹, NTK de 61 mg L⁻¹, P-totaL de 34,9 mg L⁻¹, SST de 606,3 mg L⁻¹ e pH de 8,6. Os valores médios obtidos com o tratamento e as eficiências médias de remoções (entre parênteses) no tanque de equalização foram de DQO de 2519 mg L⁻¹ (1,16%), NH₄-N de 37,5 mg L⁻¹, TN de 56 mg L⁻¹ (3,45%), TP de 32,7 mg L⁻¹ (2,4%), SST de 430,7 mg L⁻¹ (28,5%).

ENITAN et al. (2015) aplicaram um modelo para prever as melhores condições de operação de um reator UASB em escala industrial para melhorar geração bioenergia do tratamento de águas residuárias de cervejaria. Para isso, eles utilizaram afluente com médias de pH de 6,9 e temperatura entre 26 a 32 °C. O afluente foi aplicado em um TDH de 8 a 13 h. Como resultado, o modelo previu acertadamente as taxas de produção de metano em diferentes condições, alcançando até 79% de remoção DQO, produzindo biogás com até 65,9% de CH₄. A taxa de produção de metano aumentou de 0,29 para 1,46 L CH₄ / g DQO (apesar da produção específica de metano máxima teórica da digestão anaeróbia é de 0,35 L de CH₄ por g de DQO removida segundo MCCARTY, 1964) com o aumento da COV de 2,0 para 8,26 g DQO total (L d)⁻¹.

RODRIGUEZ et al. (2013) verificaram o efeito tóxico que produtos de limpeza surfactantes presentes na água residuária de cervejaria poderiam ter no tratamento anaeróbio desse efluente em reator UASB. Para isso eles utilizaram um reator em escala de laboratório de 3 L, com TDH de 24 horas, mantido a 35°C. O afluente utilizado foi sintetizado por mistura de águas residuárias desmineralizadas e cerveja até a DQO total de 4000 mg L⁻¹, pH entre 7,2 e 7,7 e suplementadas com 3000 mg L⁻¹ de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e 1000 mg L⁻¹ de bicarbonato de amônio (NH₄HCO₃) para fornecer alcalinidade, capacidade de tamponamento e nutrientes. Dois tipos de detergente foram testados em diferentes concentrações e foram chamados de A e B. A única diferença entre os dois era a presença de ésteres de

ácidos graxos (5 a 15%) no A e a presença de etoxilato de álcool linear (5 a 15%) no B. Como resultado, o lodo granular com SSV $68,5 \text{ g L}^{-1}$ utilizado como inóculo não era muito sensível aos detergentes em concentrações de até 400 mg L^{-1} . Na aplicação do detergente B, os microrganismos se aclimataram, mesmo em concentrações de 1000 mg L^{-1} . Já com o A, concentrações superiores a 500 mg L^{-1} foram tóxicas, significativamente a produção de metano em 35%.

CRONIN E LO (1998) estudaram o impacto da quantidade de lodo de inóculo no desempenho do reator, usando lodo ativado. Foram utilizados dois em reatores UASB de 16 L idênticos nomeados de A e B. No reator A foi inoculado lodo aclimatado com 98 g L^{-1} de VSS, enquanto no reator B foi semeado lodo com $1,98 \text{ g/L}$ VSS de lodo aclimatado e mais $3,95 \text{ g L}^{-1}$ de VSS de lodo não climatizado (um total de $5,93 \text{ g L}^{-1}$ de VSS). O reator B obteve os melhores desempenhos, com reduções de DQO de 91% do total de 1955 mg L^{-1} e concentrações de CH_4 de até 67%, com TCL de $0,25 \text{ g DQO (g SSV d)}^{-1}$ e TDH de 18 h. Os resultados indicaram que, à medida que a COV aumenta, a influência da quantidade de lodo inoculado se torna mais evidente, indicando um período de aclimação de pelo menos 2 semanas. O uso de $5,93 \text{ g SSV L}^{-1}$ de lodo ativado como semente permitiu que o Reator B atingisse um desempenho satisfatório.

YAN E TAY (1996) utilizaram reator UASB de 12,3 L alimentado com águas residuárias de cervejaria com DQO média de 2030 mg L^{-1} e operado em temperatura média de $21,8 \text{ }^\circ\text{C}$. Os autores avaliaram a granulação do lodo em temperatura ambiente (em torno de 20°C). Os grânulos se formaram após 4 meses e estavam totalmente desenvolvidos após 6 meses de operação. Os grânulos variaram de 0,4 mm a 1,5 mm de diâmetro, com atividade metanogênica específica de $0,92 \text{ gCH}_4\text{-DQO (gSSV d)}^{-1}$ e 14 mL g^{-1} de sólidos em suspensão. Após a granulação, o sistema apresentou desempenho estável com eficiências de remoção de DQOdiss e DQO total de 89,1 e 91,3%, respectivamente, com COV de $12,2 \text{ g DQO total (L d)}^{-1}$ e TDH de 4 h.

CHEN et al (2016) investigaram a aplicação de um reator de membrana anaeróbica (AnMBR) de 15 L no tratamento de águas residuárias de cervejarias. O reator foi mantido a 35° . O pH do afluente foi mantido entre 6,8 a 7,3 com uso de alcalinizante. As águas residuárias de cervejaria continham em média $11,1 \pm 2,7 \text{ g L}^{-1}$

¹ de DQO_{total}; $10,2 \pm 2,3 \text{ g L}^{-1}$ de DQO_{diss}. Foram obtidas eficiências de remoção de 98% de DQO, produção volumétrica de metano de $0,53 \text{ L CH}_4 (\text{gDQOremov})$, e concentrações de CH_4 no biogás de 59%.

Além disso, pouco se conhece sobre os teores de nutrientes e os efeitos na digestão anaeróbia desse efluente. São poucos trabalhos que o citam o teor de Fe nas águas residuárias de cervejaria: SUBRAMANIYAM et al. (2016) utilizaram o efluente no cultivo de algas encontraram o Fe em concentração média de $0,034 \text{ mg L}^{-1}$; ZVAUYA et al. (1994) usaram o tratamento aeróbico e termofílico para o efluente que continha $1,65 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe em média. Contudo, ainda são necessários estudos sobre os efeitos da separação do tratamento anaeróbio em dois estágios e da suplementação do ferro no tratamento anaeróbio das águas residuárias de cervejaria.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O trabalho foi realizado na área experimental do Laboratório de Saneamento Ambiental, do Departamento de Engenharia Rural, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são: latitude de 21° 15' 22" S; 48° 18' 58" W e altitude de 575 m.

3.1.1 Configurações experimentais.

O sistema foi composto por dois reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala de bancada, com volumes de 3,4 e 6 L, alturas de 110 e 130 cm, e diâmetros de 5,3 e 7,7 cm, respectivamente. Os reatores foram construídos com tubos e conexões em PVC e com ramificação na lateral em forma de "Y", com ângulo de 45° em relação à vertical (Figura 2), (CAVALCANTI et al. 1999 adaptado por BRUNO E OLIVEIRA, 2013; VILLA-MONTOYA et al., 2016). O biogás foi coletado e medido em gasômetros individuais, do tipo cúpula flutuante, construídos com fibra de vidro, conforme ilustrado na Figura 2.

No corpo dos reatores UASB, R1 e R2, distribuídos ao longo da altura, foram instalados os registros para coleta de amostras do lodo, constituindo quatro pontos de coleta de lodo, em cada reator (Figura 2).

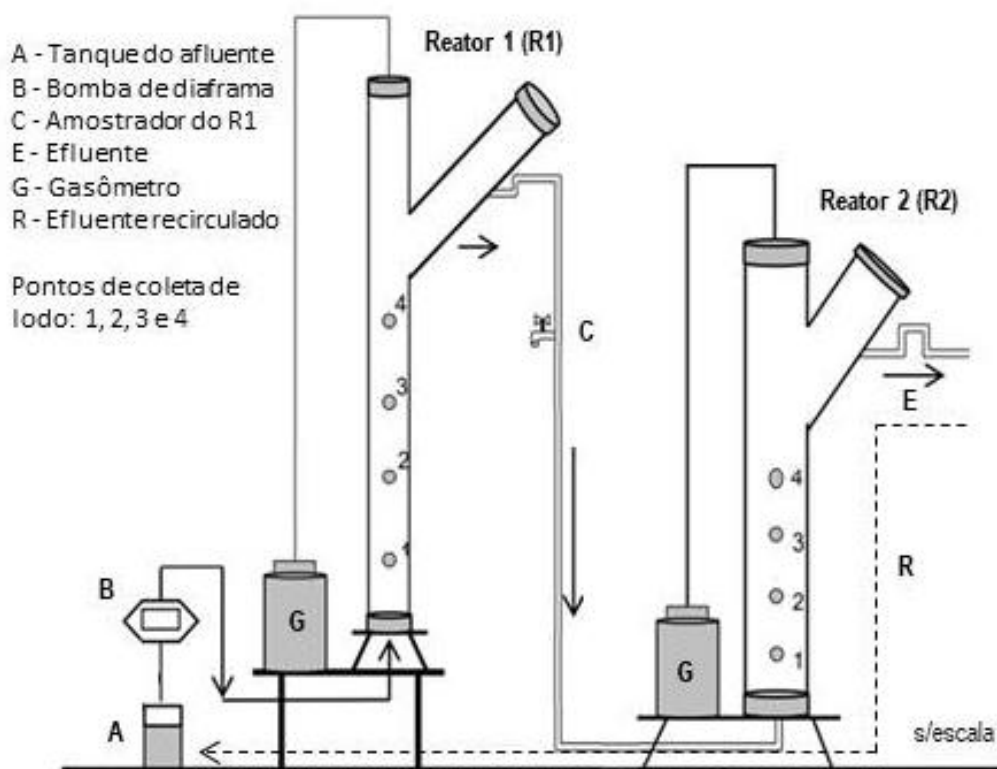


Figura 2. Representação esquemática do sistema de tratamento com os reatores anaeróbios UASB (R1 e R2).

A alimentação do afluente nos reatores UASB foi realizada por meio de bombas diafragmas. Acoplados às saídas de gás dos reatores UASB foram instalados gasômetros, por meio dos quais foi efetuado o monitoramento da produção de biogás.

3.1.2 Lodo de inóculo

Para a partida dos reatores UASB em dois estágios foi utilizado como inóculo, o lodo granulado do reator UASB utilizado para o tratamento de resíduos de suinocultura. O lodo de inóculo apresentou concentrações de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) de 34,62 e 20,4 g L⁻¹, respectivamente. O volume do lodo utilizado foi suficiente para ocupar 60% do volume de cada reator.

3.1.3 Afluente dos reatores

O substrato utilizado no afluente dos reatores foi composto pela água residuárias de cervejaria. Para evitar os efeitos das variações da ARC sobre os resultados do experimento, o afluente de cervejaria utilizado foi somente o mosto clarificado (MC) de produções de cerveja do estilo “India Pale Ale”, coletado fresco em uma cervejaria localizada na região de Jaboticabal, SP (Brasil). É estimado que para o estilo de cerveja escolhido na cervejaria onde o material foi coletado, sejam gerados de 100 a 120 L de MC para cada 2000 L de cerveja pronta.

Com DQO total de $139,9 \text{ g L}^{-1}$, o MC precisou ser diluído com água para gradualmente aumentar a COV (Tabela 2). A composição MC bruto foi caracterizada, e apresentou concentrações de DQO total de $139,9 \text{ g L}^{-1}$, DQO dissolvida de $131,8 \text{ g L}^{-1}$, ST de $118,583 \text{ g L}^{-1}$, SV de $114,257 \text{ g L}^{-1}$, SST de $4,903 \text{ g L}^{-1}$, SSV de $4,769 \text{ g L}^{-1}$, AVT de $1773,65 \text{ mg L}^{-1}$. As concentrações de N-amoniaco, nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e fósforo total (P-total) foram de 68,5, 1248,1 e 248,5 mg L^{-1} , respectivamente. O MC apresentou valores médios (em mg L^{-1}) de 3,27 de Fe; 0,88 de Ni; 0,6 de Co; 0,04 de Cu; 5,19 de Ca; 1,42 de Mg; 0,26 de Mn; 70,36 de Na; 0,32 de Zn e 7,08 de K.

Em virtude dos baixos valores de pH médio, de 5,1 foi feita correção o pH do afluente, para aproximadamente 7,0, assim também aumentando sua alcalinidade. Para isso foram utilizados Ca(OH)_2 e recirculação de 50% com o efluente do R2.

Para a suplementação de Fe utilizou-se o cloreto de ferro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), empregando inicialmente na dosagem de $0,20 \text{ mgFe (gDQOremovida)}^{-1}$, indicada como requerimento mínimo para sistemas de tratamento anaeróbio mesofílicos por TAKASHIMA *et al.* (2011).

3.2 Descrições da operação do sistema de tratamento

O sistema de tratamento anaeróbio foi operado durante 525 dias em temperatura ambiente entre fevereiro de 2018 a junho de 2019. O experimento foi dividido em sete etapas, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Condições operacionais do sistema UASB de dois estágios.

PARÂMETROS		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI
Período de operação (d)		1-125	126-201	202-286	287-342	343-401	402-459	460-525
Tempo de operação (d)		125	76	85	56	59	58	66
MC : Água : Efluente do R2 (%)		1,3: 48,7: 50	1,4: 48,6: 50	2,3: 47,7: 50	1,6: 48,4: 50	3,1: 46,9: 50	3,3: 46,7: 50	3: 47:50
COV (kg DQO m ⁻³ d ⁻¹)	R1	5,1	7,1	11,1	15,4	23,1	30,2	27,4
	R2	1,6	2,3	3,9	8,5	8,1	13,8	9,7
TDH (h)	R1+R2	23,5				13,2		
	R1	8				4,5		
	R2	15,5				8,7		
Suplementação Fe ³⁺ (mg L ⁻¹)				-			0,8	2,0
							5,0	

MC: mosto clarificado; TDH: Tempo de detenção hidráulico; DQO: demanda química de oxigênio; COV: carga orgânica volumétrica.

Os reatores R1 e R2 foram operados com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 e 15,5 h pelos 286 dias e reduzidos posteriormente para 4,5 e 8,7 h até o final do experimento. As tentativas de aumento da proporção de MC no afluente provocaram quedas abruptas do pH dos reatores, o decréscimo no TDH foi escolhido como estratégia para o aumento gradual da COV.

3.3 Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos nos afluentes, efluentes, lodo e biogás.

Na Tabela 3 estão apresentados os exames físicos e as determinações químicas executadas nas amostras compostas dos afluentes e dos efluentes, no lodo e no biogás durante os ensaios, bem como as frequências e as fontes das metodologias.

Tabela 3. Exames e determinações, frequência e fontes das metodologias utilizadas.

EXAMES E DETERMINAÇÕES	FREQUÊNCIA	REFERÊNCIAS
Afluente e efluentes		
pH	Duas vezes / semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500 H ⁺ B)
Demanda química de oxigênio (DQOtotal)	Duas vezes/ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Método: 5220 – B)
DQO das frações dissolvida (DQOdiss.) e de sólidos suspensos (DQOss).	Quinzenal	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Método: 5220 – B)
Alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI)	Duas vezes/ semana	APHA; AWWA; WPCF (2005); Ripley et al. (1986)
Sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF)	Quinzenal	APHA; AWWA; WPCF (2005), (Métodos: 2540 - C e 2540 – E)
Ácidos voláteis totais (AVT)	Duas vezes / semana	Dilallo e Albertson (1961)
Nitrogênio Kjeldahl (NK)	Semanal	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método:4500-N-C)
Fósforo total	Semanal	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500-P-C)
Potássio, cálcio, magnésio, sódio, cobre, ferro, manganês, cobalto, níquel e zinco	Semanal	APHA; AWWA; WPCF (2005) (leitura em espectrofotômetro de absorção atômica).
Lodo		
Sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)	Inóculo, começo da fase III, fim da fase VI	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método 2540 – B e 2540 – E)
Biogás		
Produção	Diariamente	(Método: Gasômetros)- Bruno e Oliveira (2013)
Composição	Mensal	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: cromatografia gasosa)

3.3.1 Temperatura do ar

As temperaturas do ar (mínima, média e máxima) referentes aos períodos dos ensaios do experimento foram obtidas pela Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

3.3.2 pH e alcalinidades

Os parâmetros alcalinidade total (AT), obtidos com a titulação da amostra com solução ácida até pH 4,30 e alcalinidade parcial (AP), com titulação até pH 5,75,

foram determinados segundo metodologias descritas por APHA, AWWA, WEF (2005) e RIPLEY et al. (1986). A determinação da AP tem o objetivo de distinguir a contribuição relativa do efeito tampão produzida por bicarbonatos. Por meio desta metodologia determinou-se também o valor da alcalinidade intermediária (AI), entre o pH 5,75 e 4,30, o qual foi calculado por $AI = AT - AP$ e indica a alcalinidade devido a presença de ácidos orgânicos voláteis.

3.3.3 Ácidos voláteis totais (AVT)

Para a determinação de AVT por titulometria inicialmente extraiu-se da amostra o gás carbônico, reduzindo o pH para 3,4 e mantendo a amostra por 3 minutos em ebulição. Após resfriamento foi aferido o volume de hidróxido de sódio consumido para elevar o pH dessa amostra de 4,0 até 7,0 conforme descrito por DILALLO E ALBERTSON (1961).

3.3.4 Demanda química de oxigênio (DQO)

A DQO total foi determinada pelo método colorimétrico e digestão com refluxo fechado em tubos de cultura. Para a determinação da DQO dissolvida a amostra foi bem homogeneizada e posteriormente filtrada por meio de membrana de fibra de vidro padrão. O filtrado resultante foi coletado e submetido às metodologias para a determinação de DQO, segundo APHA, AWWA, WEF (2005). A DQO da fração retida nos sólidos suspensos foi obtida pela diferença entre o valor da DQO total e da DQO dissolvida.

3.3.5 Produção de biogás

A produção de biogás foi determinada pelo volume de biogás produzido diariamente, medindo-se a temperatura do biogás e o deslocamento vertical dos gasômetros e multiplicando-se o valor aferido pela área da seção transversal interna

dos gasômetros. Após cada leitura os gasômetros foram zerados, descarregando-se todo o gás neles armazenados.

A correção do volume de gás para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP), de 1 atm e 0 °C, foi efetuada por meio da expressão que resulta da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac:

Onde:

V_o = volume corrigido do biogás;

P_o = pressão corrigida do biogás (10332,72 mm coluna de água);

T_o = temperatura corrigida do biogás, em K;

V_1 = volume do biogás nas condições de leitura (área do gasômetro multiplicada pela leitura, sendo as áreas de 0,057 m², para os gasômetros dos reatores R1 e R2, respectivamente);

P_1 = pressão do biogás no gasômetro, em mm de coluna de água (pressão atmosférica do local + pressão interna do gasômetro),

T_1 = temperatura do biogás no instante de leitura, em K.

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

$$R1 \text{ e } R2 \rightarrow V_o = \frac{V_1}{T_1} 255,51$$

3.3.6 Composição do biogás

As análises de composição do biogás foram realizadas mensalmente para determinação dos teores de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). As amostras eram coletadas e prontamente analisadas por cromatografia gasosa.

3.4 Análises moleculares

3.4.1 Amostragem de lodo e extração de DNA

As amostras de lodo de R1 e R2 foram coletadas em dois períodos diferentes; a primeira amostragem foi realizada antes da suplementação com ferro (295 dias de operação - fase III), a segunda amostragem foi realizada após a suplementação com ferro (525 dias de operação - fase VI). As amostras de lodo individuais foram coletadas nos pontos de coleta de lodo de cada reator (Figura 2) e uma amostra de lodo composta dos quatro níveis para cada condição foi usada. As concentrações de SV (g L^{-1}) no R1 foram 67,4 (P1), 64,7 (P2), 47,1 (P3) e 36,1 (P4) na fase III; e de 41,3 (P1), 39,2 (P2), 42,8 (P3) e 18,6 (P4), na fase VI. As concentrações de SV (g L^{-1}) no R2 foram 62,8 (P1), 27,8 (P2), 38,9 (P3) e 16,3 (P4) na fase III; e de 61,8 (P1), 50,9 (P2), 50,0 (P3) e 37,2 (P4) na fase VI.

O DNA foi extraído de 0,35 mg de lodo por meio do PowerSoil® DNA Isolation Kit (MOBIO Laboratories, Inc.), armazenado a -20°C . A qualidade do DNA genômico foi analisada por Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) e gel de agarose a 1% com tampão TAE 1x, e a quantidade de DNA genômico extraído foi avaliada usando o Qubit® dsDNA HS Assay Kit 100 ensaios, 0,2 a 100 ng, de acordo com as instruções do fabricante.

3.4.2 qPCR e sequenciamento 16s

A PCR quantitativa em tempo real (qPCR) foi realizada com as amostras de DNA do lodo extraído (descrito no item 3.4.1). Os domínios Archaea e Bacteria tiveram regiões do rDNA 16S amplificadas, de acordo com SONG et al. (2010). Conforme estabelecido nas metodologias descritas por (DUDA et al., 2015) e SUÁREZ et al. (2018), foram realizadas as análises de PCR. O DNA genômico do lodo (descrito no item 3.4.1) foi extraído e sequenciado na plataforma Illumina HiScanSQ, utilizando bibliotecas de extremidades pareadas de 2 x100 bp, conforme estabelecido nas metodologias descritas por SUÁREZ et al. (2018).

3.5 Cálculos e análise estatística

O cálculo de energia elétrica teórica foi realizada como descrito por KYTHREOTOU et al (2011). Para os cálculos foram consideradas a eficiência energética de 35%, poder calorífico do metano de $55,6 \text{ MJ kg}^{-1}$ e a densidade do metano de $0,6556 \text{ MJ m}^3$.

O delineamento realizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com repetição no tempo, com sete tratamentos (fases I, II, III, IV, V, VI e a partida). Foi aplicado o teste F para a análise de variância e as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas com o teste de Tukey, utilizando nível de significância de 5%. As análises foram feitas com o uso do programa InfoStat versão 2015.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Temperatura

Os valores mensais da temperatura média do ar variaram de 19,8 a 25,7°C. Os valores médios mensais de temperatura mínima foi de 13,4 a 20,4°C e os valores médios mensais da temperatura máxima variaram de 27,0 a 32,5 °C (Tabela 4 e Figura 3) indicando que os reatores UASB foram operados predominantemente na faixa de temperatura mesofílica.

As menores temperaturas médias foram observadas no mês de maio de 2018, de 20,9 °C (Fase II) e junho de 2019, de 19,8 °C (Fase IV) que compreendendo o período de inverno. Enquanto que as maiores temperaturas médias foram observadas no mês de março de 2018, de 25,3 C° (Fase I) e janeiro de 2019, 25,7°C na fase VI, compreendendo o período de verão.

Tabela 4. Valores médios mensais e coeficientes de variação (c.v. em %) da temperatura diária do ar máxima, média e mínima durante a operação dos reatores (R1 e R2).

		Temperatura do ar (°C)					
		Máxima	c.v.	Mínima	c.v.	Média	c.v.
Janeiro		31,6	6	20,0	6	24,5	6
Fevereiro		30,1	7	19,1	6	23,8	5
Março		31,8	4	20,2	4	25,3	4
Abril		30,2	5	17,3	9	23,1	5
Maio		28,5	10	14,5	23	20,9	13
Junho	2018	28,4	7	15,0	12	21,1	7
Julho		28,9	9	13,4	16	20,8	11
Agosto		28,4	13	14,1	20	20,4	12
Setembro		30,3	17	16,6	18	22,8	15
Outubro		30,8	10	19,0	10	24,2	7
Novembro		29,3	12	19,1	7	23,5	9
Dezembro		31,6	8	19,7	8	24,9	7
Janeiro		32,5	8	20,4	5	25,7	7
Fevereiro		30,6	10	19,7	6	24,2	8
Março	2019	30,9	7	19,7	5	24,2	5
Abril		30,4	7	18,7	9	23,8	6
Maio		28,8	8	16,4	20	21,8	11
Junho		27,0	10	13,7	17	19,8	11

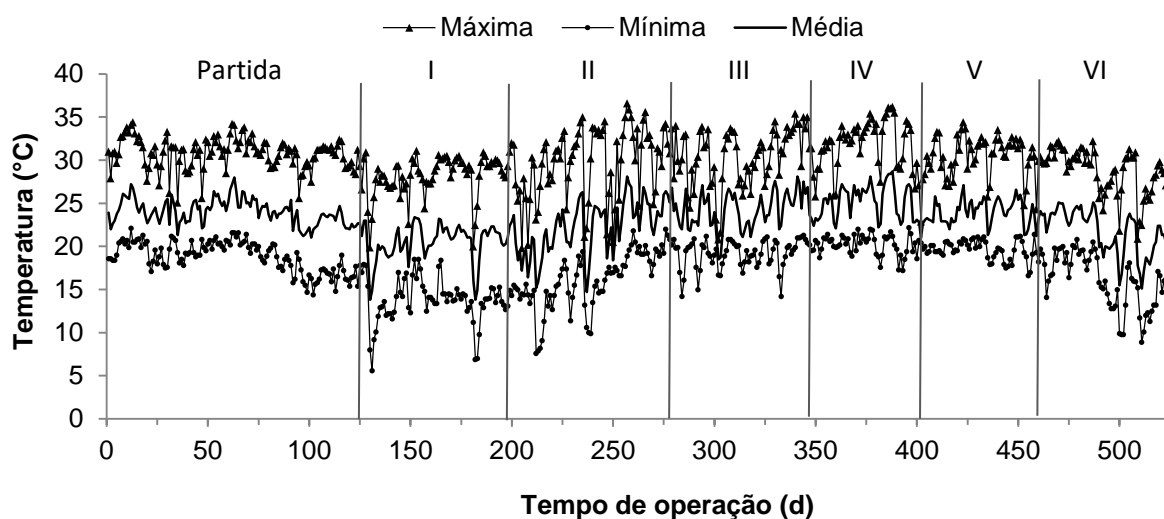


Figura 3. Valores das temperaturas máximas, médias e mínimas do ar observadas na Estação Agroclimatológica durante a operação dos reatores UASB, R1 e R2.

4.2 pH, alcalinidade, ácidos voláteis totais nos reatores UASB em dois estágios

A configuração do sistema em dois estágios permitiu valores de AVT superiores no R1. Os valores observados de AVT durante a partida foram de 471 a 1221 mg L⁻¹ no R1 e de 187 a 454 mg L⁻¹ no R2, indicando consumo no R2 (Tabela 5). Isso permitiu que o primeiro estágio (R1) apresentasse-se majoritariamente acidogênico e o segundo estágio (R2) metanogênico ao longo do experimento, com pH de até 5,5 no R1 e acima de 6,8 no R2.

Nos primeiros 125 dias de operação, período de partida dos reatores anaeróbios, os valores médios de COV foram de 5,1 e 1,6 g DQOtotal (L d)⁻¹ no R1 e R2, respectivamente (Tabela 5). O início do experimento com a COV mais baixa tinha como objetivo adaptar o inóculo para o tratamento das águas residuárias de cervejaria. O tempo de partida foi próximo ao observado por SANTANA JUNIOR et al. (2019) que também utilizaram como inóculo o lodo de reator UASB que tratava águas residuárias da suinocultura, para o tratamento anaeróbio de vinhaça em reatores UASB em dois estágios. O tipo de inóculo é um fator importante no tratamento anaeróbio; cada tipo de inóculo possui condições distintas que favorecem

a produtividade, e estudos específicos para cada sistema para estabelecer as condições ótimas de produção de biogás são necessários (ARANTES et al., 2017).

Durante o período de partida, os valores médios do pH do afluente, efluente do R1 e do R2 foram de 7,6, 6,2 e 7,2, respectivamente. Os valores se mantiveram, portanto, dentro da faixa ótima recomendada para os micro-organismos metanogênicos. A relação AI/AP do efluente diminuiu de 1,52 no R1 para 0,59 no R2 (Tabela 5). Embora o uso de lodo adaptado reduza o tempo de partida em 40% (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012), a partida de reatores com a utilização do lodo inóculo proveniente do tratamento de águas residuárias de suinocultura permitiu o desenvolvimento da biomassa para tratamento de águas residuárias de cervejaria.

Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) de pH, N-amoniaco, alcalinidade parcial (AP), alcalinidade intermediária (AI), alcalinidade total (AT) e ácidos voláteis totais (AVT) do afluente e efluentes (R1 e R2); e relação AI/AP dos efluentes.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
Período de Operação (d)		1 - 125	126 - 201	202 - 286	287 - 342	343 - 401	402 - 459	460 - 525		
COV (g DQO _{total} (L d) ⁻¹)	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
pH	Afluente	7,6 c	7,5 bc	7,1 a	6,8 ab	7,0 ab	7,1 abc	7,3 c	6	8**
	R1	6,2 a	6,0 a	5,9 a	5,5 a	5,9 a	5,8 a	5,5 a	13	2ns
	R2	7,2 b	6,8 ab	7,0 ab	6,5 a	7,1 b	7,2 b	6,8 ab	9	3**
AP	Afluente	260 a	312 a	187 a	359 ab	505 bc	583 c	886 c	63	10**
	R1	505 a	444 ab	388 abc	331 cde	607 bcd	821 e	844 de	47	19**
	R2	1205 a	1072 ab	1236 ab	1571 bc	1845 bc	3006 d	2394 cd	46	19**
AI	Afluente	81 d	147 d	172 cd	502 a	297 bc	478 a	671 ab	63	21**
	R1	332 c	363 bc	569 bc	897 a	540 bc	1225 a	651 ab	73	12**
	R2	81 c	221 bc	285 bc	781 a	229 bc	456 ab	574 ab	99	7**
AT	Afluente	333 c	459 c	360 c	862 b	802 b	1061 a	1557 ab	50	20**
	R1	837 d	807 cd	956 bcd	1147 ab	1147 bc	2046 a	1495 a	53	14**
	R2	1282 e	1293 de	1507 cde	2138 bc	2074 cd	3462 a	2968 ab	44	23**
AI/AP	R1	1,52 a	0,43 ab	0,63 ab	0,24 ab	0,46 ab	0,36 b	0,42 b	82	5**
	R2	0,59 a	0,11 a	0,18 a	0,25 a	0,13 a	0,16 a	0,19 a	162	3*
N-Amoniacal	Afluente	8,85 a	5,89 ab	2,80 b	4,54 ab	3,95 b	2,56 b	3,37 b	81	5**
	R1	7,75 a	4,66 ab	2,14 b	2,86 b	2,44 b	3,11 b	4,31 ab	78	4**
	R2	9,39 a	7,27 a	3,75 a	4,09 a	5,04 a	3,11 a	4,63 a	97	2ns
AVT	Afluente	124 b	121 b	427 ab	537 a	202 b	380 ab	336 ab	110	6**
	R1	479 c	551 bc	903 ab	1222 a	732 abc	1058 a	995 a	56	7**
	R2	373 a	187 a	287 a	455 a	393 a	320 a	362 a	127	1ns

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

Os valores Al/AP foram acima dos indicados para a estabilidade dos reatores anaeróbios no tratamento de esgoto sanitário (0,3) (RIPLEY et al., 1986). Porém a alcalinidade parcial (AP) aumentou do afluente de 260 para 505 e 1205 mg L⁻¹ do afluente para os efluentes do R1 e R2, respectivamente (Tabela 2), o que contribuiu para de remoção de DQOtotal de 39% no R1 e 70% no R2 e produção volumétrica de metano de até 0,15 e 0,16 m³ CH₄ m⁻³ d⁻¹ no R1 e R2, respectivamente.

A maior parte da matéria orgânica das águas residuárias de cervejaria é muito biodegradável, facilmente hidrolisável e transformada em ácidos, o que resulta em valores de pH muito baixos, próximo de 4,0, considerados inibitórios para o tratamento anaeróbio. A estratégia comum adotada para manter a estabilidade de sistemas anaeróbios que tratam águas residuárias de cervejaria tem sido a utilização de alcalinizantes (ARANTES et al., 2017; ENITAN et al., 2015; XIANGWEN et al., 2008b). Neste estudo, a adição de Ca(OH)₂ e recirculação do efluente do R2 como estratégias para correção e tamponamento do pH do afluente permitiu a manutenção de pH do afluente entre 6,8 e 7,6, dentro da faixa considerada ótima para os microorganismos metanogênicos.

As maiores concentrações de AVT foram observadas na fase III (Tabela 5 e Figura 8). Os valores médios dos AVT foram de 1221 mg L⁻¹ no efluente do R1 e 454 mg L⁻¹ no efluente do R2, que resultaram em valores de pH de 5,5 no R1 (Figura 4). Porém, no R2, os valores de pH foram mantidos acima de 6,5, em virtude ao consumo dos ácidos orgânicos e aumento da AP que promoveu a neutralização dos ácidos (Figura 7). As concentrações de AP foram de 359 mg L⁻¹ no afluente, 331 mg L⁻¹, no efluente do R1 e 1571 mg L⁻¹ no efluente do R2.

Após 325 dias de operação (Fase IV), a fim de melhorar o desempenho e a estabilidade da digestão anaeróbia, iniciou-se a suplementação com Fe, o efeito de várias concentrações de Fe foi avaliado, 0,8 mg L⁻¹ (Fase IV), 2,0 mg L⁻¹ (Fase V) e 5,0 mg L⁻¹ (Fase VI). Como resultado, uma redução expressiva da concentração dos AVT foi observada de 1221 para 732 mg L⁻¹ no efluente do R1 e de 455 para 393 mg L⁻¹ (Figura 8).

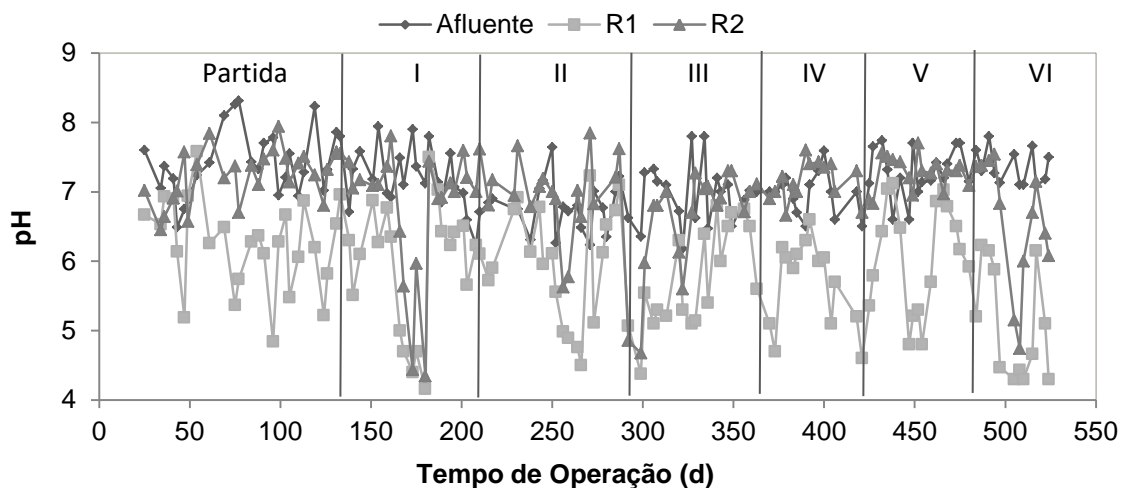


Figura 4. Valor de pH no afluente e efluente dos reatores UASB (R1 e R2) ao longo do experimento.

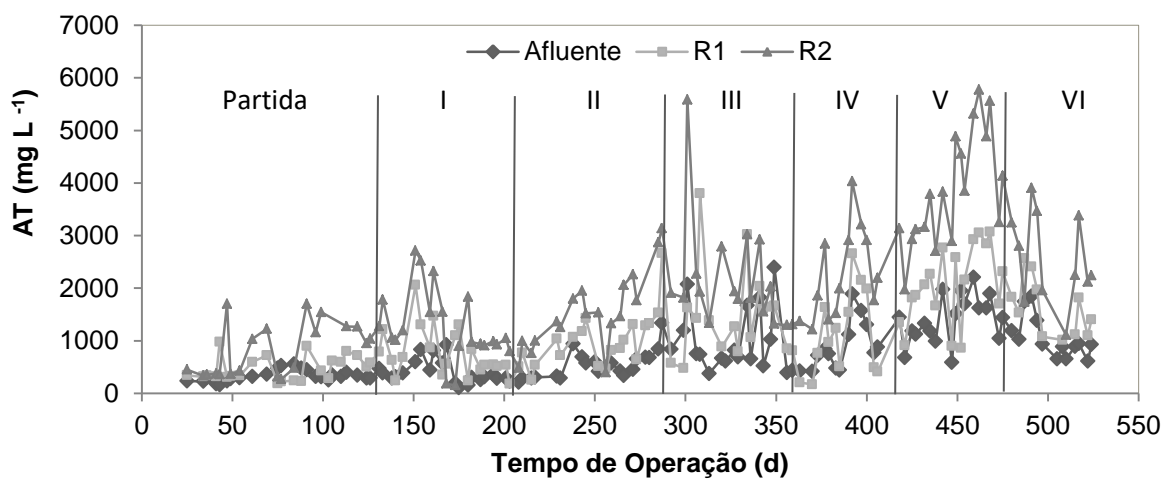


Figura 5. Concentrações de alcalinidade total (AT) nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).

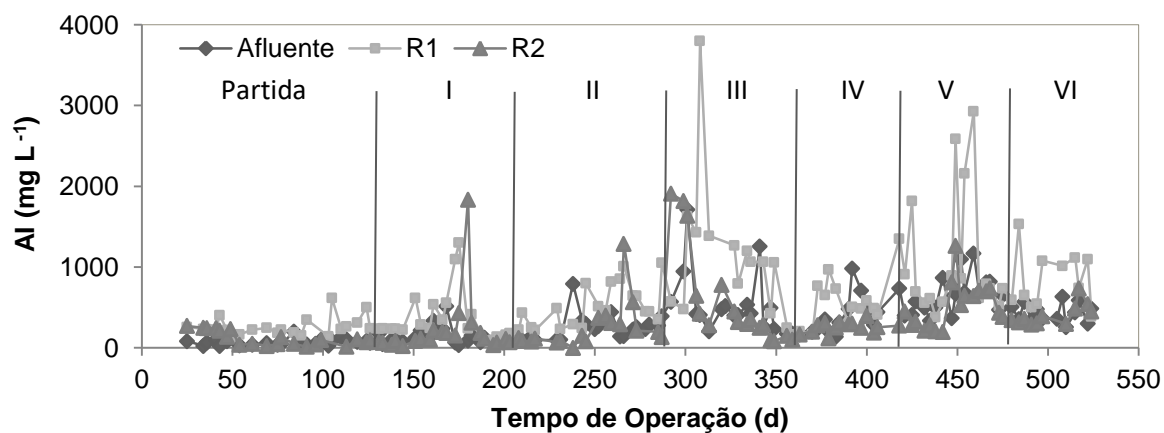


Figura 6. Concentrações da alcalinidade intermediária (AI) nos reatores UASB (R1 e R2).

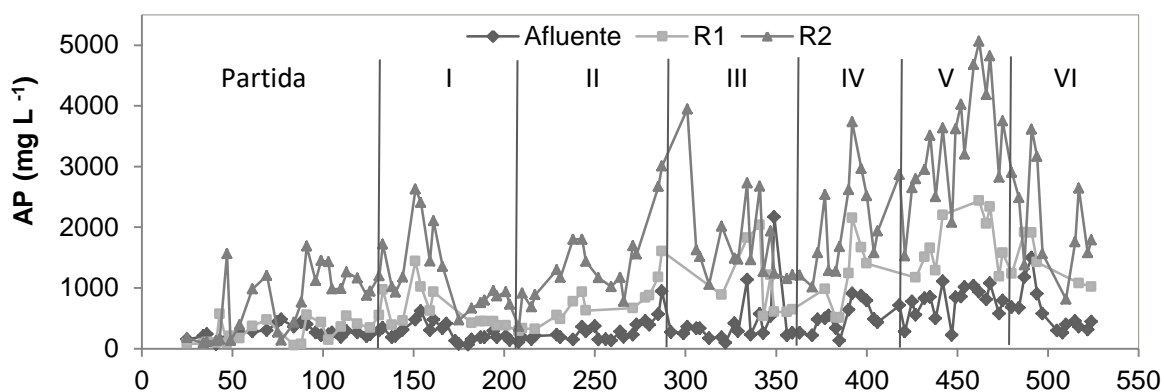


Figura 7. Concentração de alcalinidade parcial (AP) nos afluentes e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2).

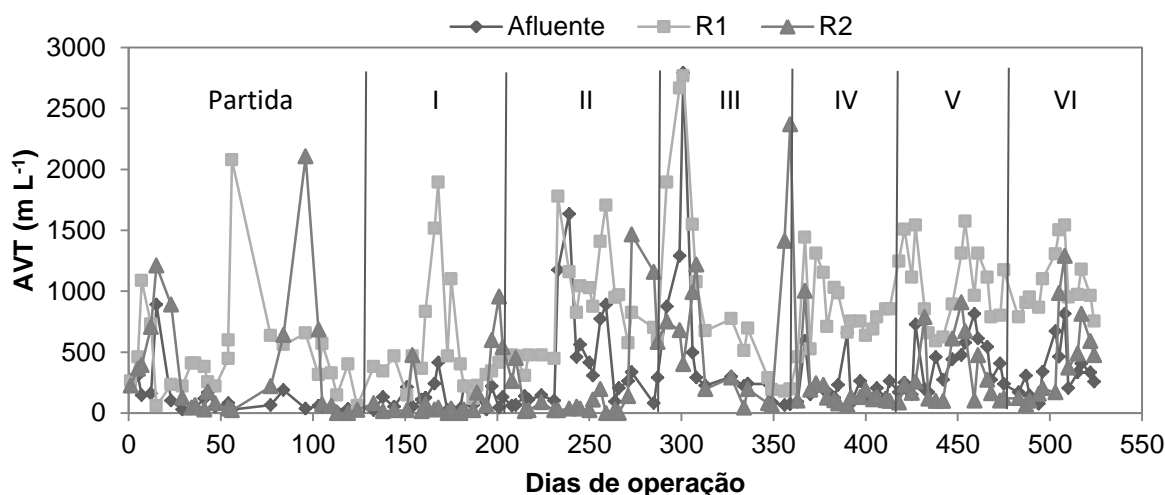


Figura 8. Concentração dos ácidos voláteis totais (AVT) nos afluentes e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2) durante o experimento.

Com adição do Fe aumentou-se a AP (Figura 7), maiores concentrações foram observadas na Fase V, que foram de 821 mg L^{-1} no R1 e 3006 mg L^{-1} no R2. SUÁREZ et al. (2018) avaliaram o efeito da COV no desempenho de um sistema UASB de dois estágios tratando águas residuárias de processamento de café e observaram que, com o aumento de Fe, melhorou a estabilidade e aumentou a produção de metano. Assim, a estratégia adotada baseada apenas na adição de Fe foi capaz de melhorar a estabilidade do processo de digestão anaeróbia.

Os teores de nitrogênio amoniacal aumentaram, ao longo do sistema, do afluente para o efluente, por serem produzidos ao longo da degradação anaeróbica

de compostos nitrogenados orgânicos, como proteínas ou aminoácidos (KHANAL, 2008). Neste estudo, as concentrações chegaram a 7,77 e 9,39 mg L⁻¹ (Tabela 5).

4.3 Demanda química de oxigênio (DQO)

4.3.1 DQO dos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).

Após a partida dos reatores, aumentou-se a COV aplicada no sistema de tratamento (R1+R2) gradativamente (Figura 9). Os valores médios da COV foram de 5,1 a 30,2 g DQOtotal (L d)⁻¹ no R1 e de 1,6 a 13,8 g DQOtotal (L d)⁻¹ no R2 (Tabela 6). Na Fase III, o aumento da COV foi proporcionado pela redução do TDH, de 8 h para 4,5 h no R1, de 15,5 h para 8,7 h no R2 e de 23,5 h para 13,2 h no sistema de tratamento (R1+R2). YAN E TAY (1996) avaliaram a variação do TDH em reator UASB (12,3 L) mesofílico (21,8 °C) no tratamento de águas residuárias de cervejaria e observaram que o TDH de 4h (similar ao observado neste estudo) favoreceu o crescimento e a sedimentabilidade dos grânulos de lodo.

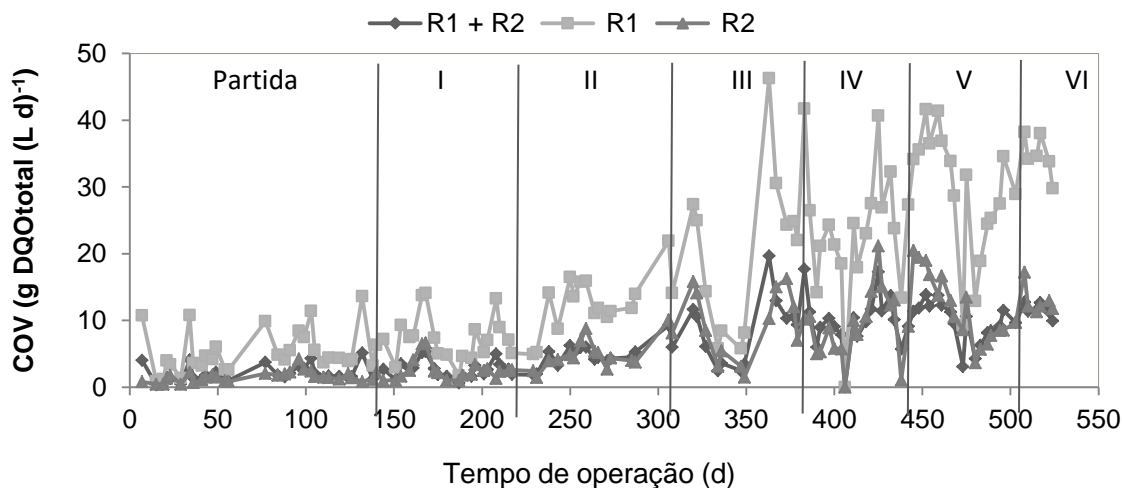


Figura 9. Valores de carga orgânica volumétrica (COV) aplicada nos reatores UASB (R1 e R2) ao longo do experimento.

Tabela 6. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) da DQOtotal, DQOdiss, DQOsusp e suas eficiências de remoção, do afluente e efluentes, para as faixas de carga orgânica volumétrica (COV), durante a operação dos reatores UASB.

Período de Operação (d)		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525		
COV (g DQOtot (L d) ⁻¹)	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
DQOtotal (mg L ⁻¹)	Afluente	1924 c	2668 bc	4198 ab	2947 bc	4918 a	5699 a	4876 a	39	19**
	R1	1053 d	1634 cd	2633 bc	2395 bc	2708 bc	4601 a	3521 ab	49	17**
	R2	288 c	622 bc	1315 abc	1683 ab	1397 ab	2025 a	1856 a	90	7**
DQOdiss (mg L ⁻¹)	Afluente	1563 a	2496 a	3585 a	2716 a	3738 a	4976 a	4407 a	46	2ns
	R1	992 a	1608 a	2435 a	2290 a	2224 a	3487 a	2954 a	54	1ns
	R2	285 a	573 a	1347 a	1460 a	844 a	1428 a	1474 a	101	1ns
DQOsusp (mg L ⁻¹)	Afluente	656 a	1143 a	1497 a	1337 a	863 a	347 a	804 a	81	1ns
	R1	206 a	599 a	1028 a	675 a	693 a	937 a	262 a	126	1ns
	R2	263 a	371 a	835 a	746 a	764 a	403 a	380 a	161	1ns

COV: Carga orgânica volumétrica. DQOtotal: Demanda química de oxigênio total; DQOdiss: Demanda química de oxigênio dissolvida; DQOsusp: = Demanda química de oxigênio dissolvida suspensa; c.v: coeficiente de variação (%). Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ns – não significativo ($p > 0,05$); p – probabilidade.

Os valores de DQO_{total} (Figura 10) e de DQO_{diss} (Figura 11) também aumentaram gradualmente no afluente durante a operação dos reatores. Os valores médios de DQO_{total} do afluente variaram de 1923 a 5699 mg L⁻¹ (Tabela 6). Os valores médios de DQO_{diss} do afluente corresponderam ao percentual entre 73 e 92% da DQO_{total}, indicando que a maior fração do material orgânico do foi encontrada na forma solúvel. As maiores concentrações de DQO_{total}, DQO_{diss}, foram observadas no efluente do R1, em virtude à aplicação de TDH menores e consequentemente maior velocidade do líquido e COV.

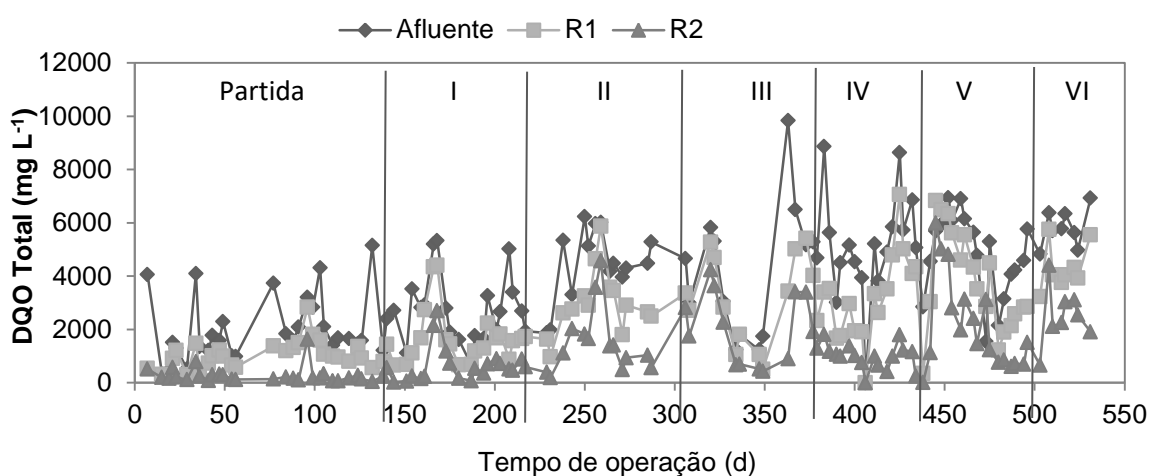


Figura 10. Valores de DQO_{total} no afluente e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).

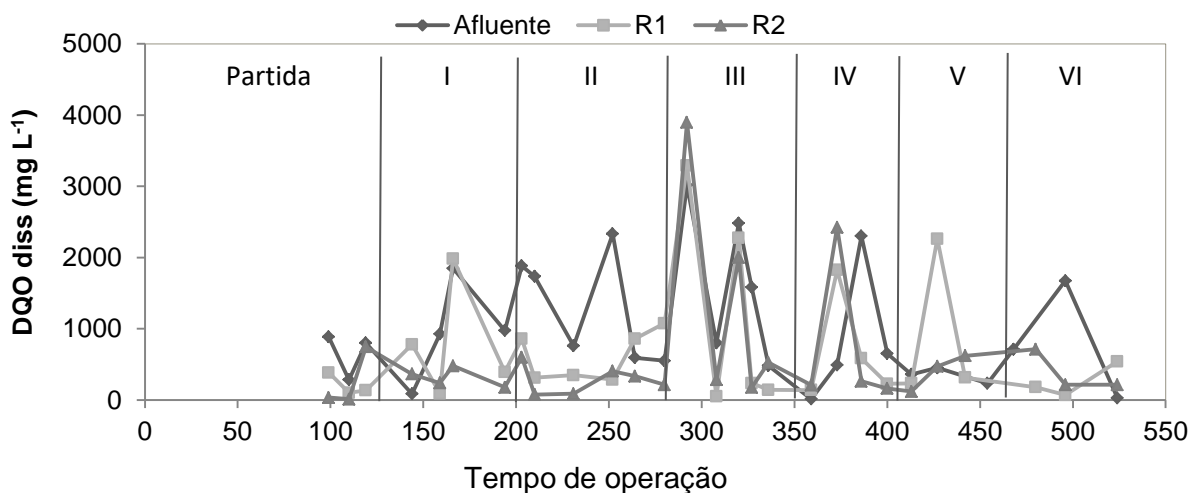


Figura 11. Valores de DQO_{diss} no afluente e efluentes nos reatores UASB (R1 e R2).

4.3.2 Eficiências de remoção de DQO nos reatores UASB (R1 e R2).

Foram observadas elevadas eficiências de remoção de DQO_{total}, DQO_{diss} ao longo do período experimental no sistema de tratamento, principalmente nos primeiros 200 dias de operação, de 83 e 82% na partida e 78 e 75% na fase I, respectivamente (Tabela 7). As eficiências elevadas são comumente observadas em reatores anaeróbios de alta taxa em condições de baixas COV, e podem ser observadas em outros estudos tratando diversos tipos de águas residuárias (BARROS; DUDA; OLIVEIRA, 2016; BRUNO; OLIVEIRA, 2013; SUÁREZ et al., 2018).

Na fase III, as eficiências de remoção de DQO_{total} e DQO_{diss} foram as mais baixas. Os valores médios das eficiências de remoção de DQO total foram de 12 % (R1), 33 % (R2) e 41 % (R1+R2). Já os valores de DQO_{diss} foram de 16 % (R1), 46 % (R2) e 52 % (R1+R2) (Tabela 7). Porém, com o início da suplementação de ferro na fase IV (0,8 mg L⁻¹ de Fe), foi observado o aumento da eficiência de remoção de DQO_{total}, que passou de 41,2 % (Fase III) para 70,5 % (Fase IV) no sistema de tratamento (R1+R2). SUÁREZ et al. (2018) tratando águas residuárias do processamento do café, aplicando elevada COV, em reatores UASB, relacionaram as condições de estabilidade com a proporção adequada de nutrientes (particularmente Fe) e aumento acentuado das bactérias sintróficas e metanogênicas.

Na fase IV, os dois estágios apresentaram uma participação equilibrada na remoção da DQO, considerando as eficiências de cada reator, de 45 e 47% no R1 e R2, respectivamente (Tabela 7). De modo geral, as eficiências de remoção de DQO no R2 foram superiores às do R1, que pode ser atribuída ao menor TDH aplicado no R1, disponibilizando elevadas quantidades remanescentes de DQO biodegradável para R2. Na fase V, com maior COV, os valores de eficiências de remoção de DQO total foram de 67 % no R2. No sistema de tratamento R1+R2 observou-se remoção de 73 e 74% de DQO_{total} e DQO_{diss}, respectivamente. Assim a aplicação dos reatores UASB em série foi adequada com objetivo inicial de atingir uma alta COV com efetiva eficiência de remoção.

Tabela 7. Valores médios de carga orgânica volumétrica (COV) e eficiências de remoção de DQOtotal e DQOdiss.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI		
Período de operação (d)		1 - 125	126 - 201	202 - 286	287 - 342	343 - 401	402 - 459	460 - 525	c.v.	F
COV	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
(g DQOtotal (L d) ⁻¹)	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
Eficiências de remoção (%)										
DQOtotal (%)	R1	39 ab	36 ab	36 ab	12 c	49 a	22 bc	33 abc	51	5**
	R2	70 a	68 ab	55 ab	33 c	48 bc	67 ab	56 abc	33	6**
	R1+ R2	83 a	78 a	70 a	41 b	74 a	73 a	70 a	22	8**
DQOdiss (%)	R1	32 a	27 a	32 a	16 a	41 a	31 a	35 a	57	1ns
	R2	77 a	70 a	56 a	46 a	48 a	66 a	56 a	41	2ns
	R1+R2	83 a	79 a	70 a	52 a	75 a	74 a	69 a	26	1ns

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

4.4 Sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)

As concentrações de SST e SSV do afluente aumentaram gradualmente até a fase II, diminuíram nas fases III e IV; e voltaram a aumentar nas fases V e VI. Os maiores valores foram observados na fase II com 1402 e 1106 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 8).

Nos efluentes, as maiores concentrações de SST e SSV foram observadas no R1, em virtude à aplicação de TDH menor e maior velocidade do líquido e COV neste reator.

As maiores eficiências de remoção dos SST, SSV e SSF foram obtidas com a suplementação de ferro nas concentrações de 2 e 5 mg L⁻¹, nas fases V e VI. No sistema de tratamento (R1+R2), os valores de eficiência de remoção de SST foram de 85% (fase V) e 89% (fase VI) e de SSV foram de 73 % (fase V) e 88 % (fase VI). FIREW et al (2018) atingiram eficiência de remoção de SST de até 79% tratando águas residuárias de cervejaria com UASB operado À 37,5°C e TDH de 6 horas.

As eficiências de remoção de SST e SSV foram superiores no R1, que pode ser ocorrido em virtude a pronta remoção de sólidos mais biodegradável no primeiro reator. LIU et al (2012) verificaram que a suplementação com o Fe no tratamento anaeróbio de águas residuárias estimula a fase acidogênica, onde os substratos orgânicos, presentes na fração do SSV, são degradados e transformados em AVT. Sendo assim, a suplementação com ferro utilizada neste estudo contribuiu para o aumento da remoção dos sólidos em suspensão das águas residuárias de cervejaria.

Tabela 8. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações dos sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF), nos afluentes e efluentes, e respectivas eficiências de remoção.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI		
Período de Operação (d)		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525	c.v.	F
COV (g DQOtotal (L d)⁻¹)	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
SST (mg L⁻¹)	A	195 b	618 ab	1402 a	468 ab	352 ab	980 ab	1032 ab	64	3*
	R1	165 a	304 a	439 a	235 a	200 a	178 a	150 a	58	2ns
	R2	105 a	181 a	310 a	179 a	155 a	130 a	116 a	63	2ns
SSV (mg L⁻¹)	A	97 b	281 b	1106 a	275 b	228 b	527 ab	827 ab	70	4**
	R1	74 b	258 ab	409 a	202 ab	177 b	157 ab	125 b	48	4**
	R2	59 b	140 ab	283 a	164 ab	110 ab	116 7 ab	107 ab	60	3*
SSF (mg L⁻¹)	A	83 a	396 a	321 a	239 a	124 a	453 a	206 a	112	1ns
	R1	71 a	51 a	31 a	32 a	23 a	21 a	25 a	95	2ns
	R2	44 a	31 a	24 a	10a	45 a	14 a	8a	148	1ns
Eficiências de remoção (%)										
SST	R1	35 a	36 a	62 a	44 a	38 a	78 a	80 a	45	3*
	R2	41 a	41 a	36 a	29 a	27 a	38 a	42 a	43	1ns
	R1+R2	56 a	61 a	76 a	60 a	55 a	85 a	89 a	28	2ns
SSV	R1	35 b	33 b	58 ab	27 b	42 ab	59 ab	80 a	33	6**
	R2	35 a	44 a	31 a	34 a	22 a	35 a	36 a	50	1ns
	R1+R2	58 ab	61 ab	72 ab	52 b	53 ab	73 ab	88 a	22	3*
SSF	R1	42 a	31 a	24 a	10a	45 a	14 a	8a	35	1ns
	R2	73 a	64 a	75 a	79 a	77 a	96 a	79 a	46	1ns
	R1+R2	34 a	51 a	54 a	70 a	56 a	98 a	71 a	10	1ns

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

4.5 Produção e composição de biogás

Os valores médios de produção volumétrica de metano aumentaram ao longo do período de operação dos reatores. Após a suplementação de ferro (a partir da fase IV), a produção volumétrica de metano foi mais acentuada, alcançando valores médios de 2,05 e 1,49 L CH₄ (L d)⁻¹ no R1 e R2, respectivamente, na Fase V (Figuras 12 e 13). De acordo com TAKASHIMA et al (2011), o ferro é um composto que propicia a metanogênese, facilita o metabolismo energético pelo estímulo à formação de ferridoxinas e citocromos e acelera o consumo dos ácidos orgânicos produzidos na acidogênese.

Os valores médios de produção específica de metano estão descritos na Tabela 9 e na Figura 14. Os maiores valores foram de 0,31 e 0,32 L CH₄ (g DQOremovida)⁻¹ no R1 e R2, respectivamente na fase V. Elevados valores de produção específica de metano tem sido observados com condições de COV mais baixas e TDH mais elevadas. XIANGWEN et al (2008), tratando águas residuárias concentradas de cervejaria utilizando reator ASBR, obtiveram valores de produção específica de metano de 0,33 L CH₄ (g DQOtotal)⁻¹ com COV de 5,0 g DQOtotal (L d)⁻¹ e TDH de 24h. CONNAUGHTON et al (2006), tratando águas residuárias de cervejaria em reator EGSB, com COV de 4,47 g DQOtotal (L d)⁻¹ e TDH de 18 h, observaram 80% de eficiência da produção teórica estimada.

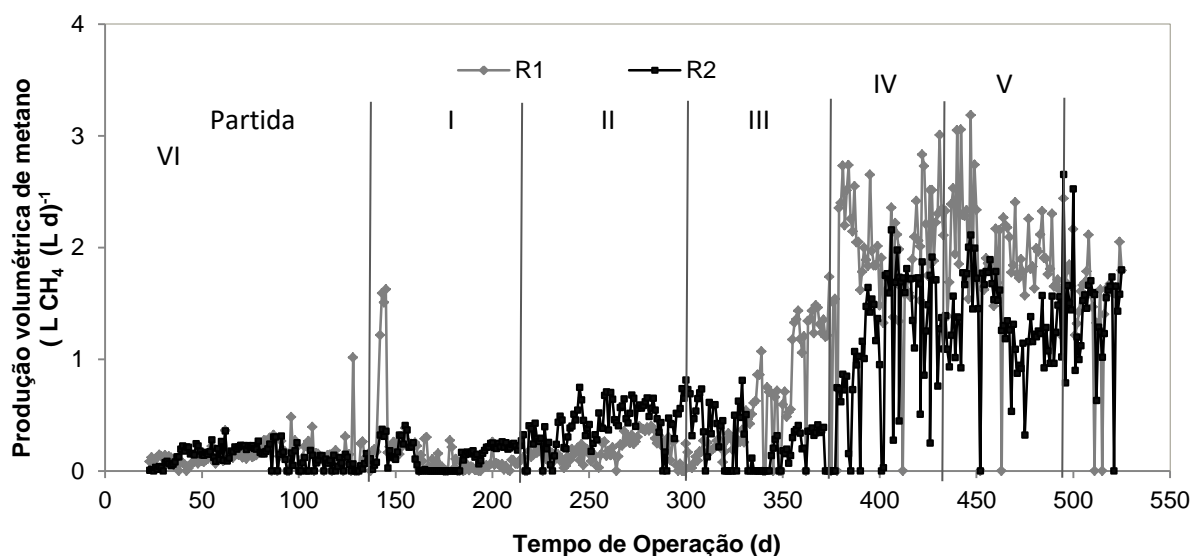


Figura 12. Produção volumétrica de metano durante a operação dos reatores UASB (R1 e R2) durante o período de experimento.

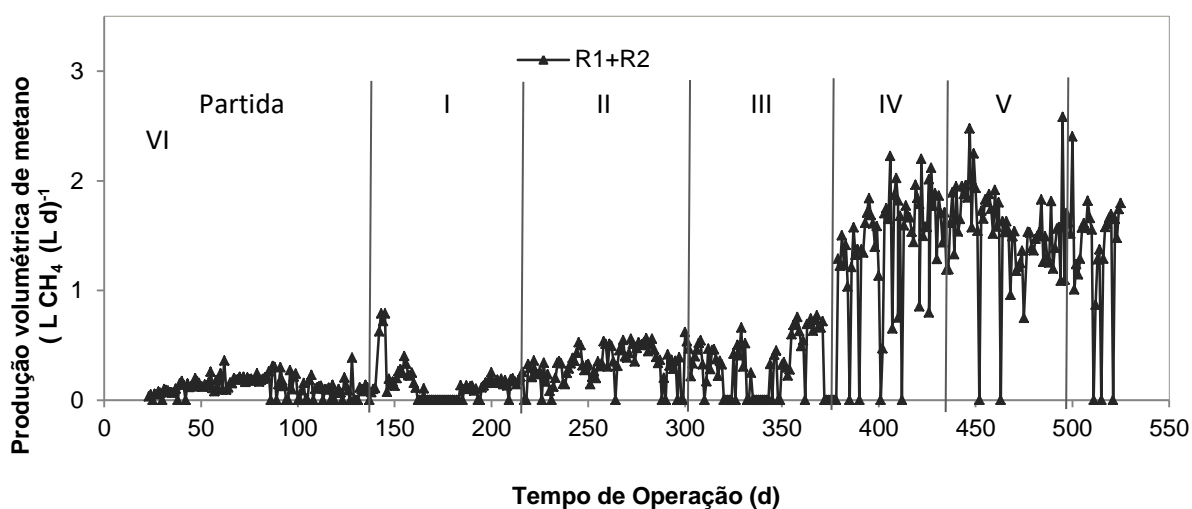


Figura 13. Produção volumétrica de metano durante a operação do sistema de reatores UASB (R1+R2) durante o período de experimento.

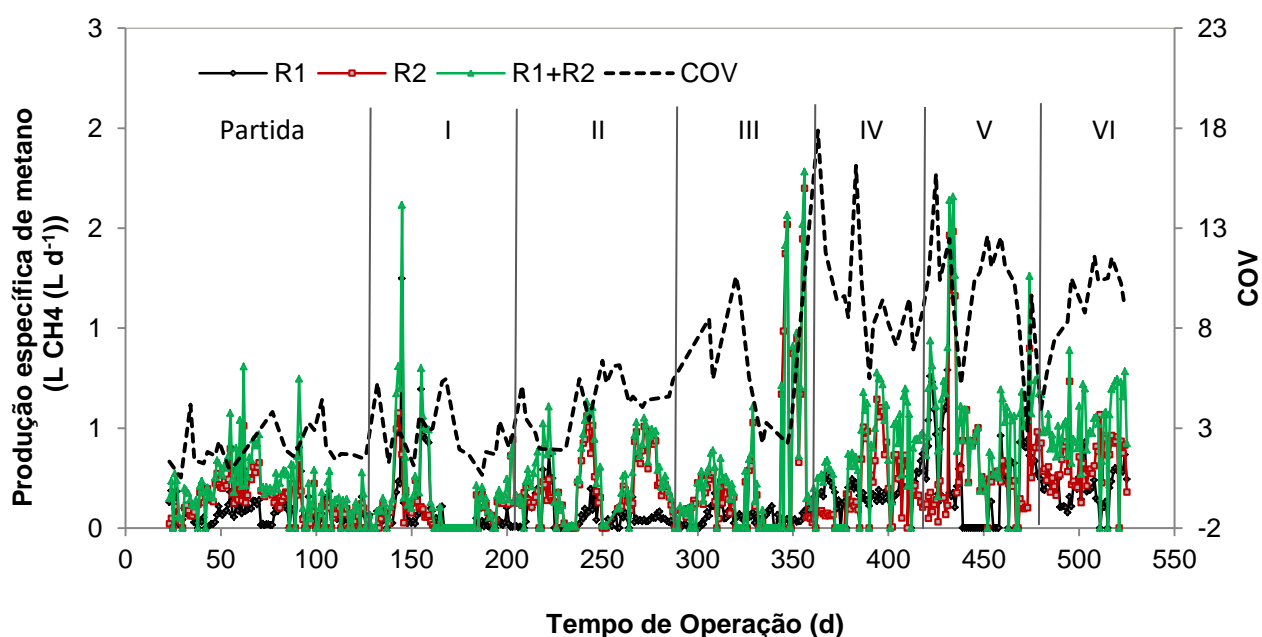


Figura 14. Produção específica de metano versus COV ($\text{g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$) aplicada durante a operação dos reatores UASB (R1 e R2).

Conforme OLIVEIRA E FORESTI (2004), a produção de metano é menor do que a prevista com base em considerações estequiométricas, em virtude das perdas de biogás na coleta e de metano dissolvido na fase líquida, cuja concentração depende da temperatura e da pressão parcial desse gás na fase gasosa (Lei de

Henry). A produção específica de metano máxima teórica que pode ser obtida na digestão anaeróbia corresponde a 0,35 L de CH₄ por g de DQO removida (MCCARTY, 1964). Assim, a produção específica alcançada neste estudo corresponde a eficiências de até 89% (R1) e 91% (R2) da produção teórica estimada.

Os percentuais de metano nos reatores R1 e R2 ao longo do experimento estiveram superiores no R2. O maior valor no R1 foi de 37,9 % enquanto que o menor valor do R2 foi de 55%. Isso era esperado em função da separação em dois estágios, que favorece a metanogênese no segundo reator. Mas também demonstra que, mesmo sendo majoritariamente acidogênico, a produção de metano no R1 ainda é considerável para o sistema.

A porcentagem máxima de CH₄ no biogás foi de 41,5 % no R1 e de 60,8 % no R2 (Tabela 8), próximo ao obtido por ENITAN et al. (2015), tratando águas residuárias de cervejaria em reator UASB com COV de até 8,26 g DQOtotal (L d)⁻¹, de 65,9%, indicando que a matéria orgânica foi convertida em biogás que pode ser aproveitado. O biogás com percentuais de CH₄ entre 55% e 70% pode fornecer a energia térmica necessária para o processo de fabricação e limpeza (FONTENELLE et al., 2017).

Portanto, a partir dos resultados apresentados é possível observar que o tratamento de águas residuárias de cervejaria em sistema mesofílico UASB em série com a suplementação de Fe pode obter biogás de maior valor energético, com a melhor dosagem de Fe de 2,0 mg L⁻¹ (fase V).

Além disso, nesta mesma fase, foi observado o maior potencial energético do sistema R1+R2 com 0,052 kWh d⁻¹ com a dosagem de 2 mg L⁻¹ de Fe na fase V (Tabela 9), aplicando 0,53 L de MC por dia. SANTOS E RIBEIRO (2005) indicam que o consumo energético na produção de cerveja em uma cervejaria otimizada para o menor gasto energético, seria de um valor médio de 0,01 kWh para a produção de cada litro de cerveja pronta. A estimativa da geração de MC é de 0,055 L de para cada L de cerveja (na cervejaria local). Levando-se em conta que a produção de 10 L de cerveja resulta em 0,5 L de MC e consome 0,1 kWh d⁻¹, e que o tratamento anaeróbio desses 0,5 L de MC tem potencial energético para produzir 0,05 kWh d⁻¹, é possível deduzir que o tratamento anaeróbio do MC, poderia suprir cerca de 50% da energia elétrica requerida a produção de cerveja.

Tabela 9. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %), das produções volumétrica (PVM) e específica de metano (PEM).

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
Período de Operação (d)		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525		
COV	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
(g DQOtotal (L d)⁻¹)	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
PVM	R1	0,1517 d	0,2405 d	0,1764 d	0,2073 d	0,2963 c	2,0456 a	1,8691 b	41	428**
(L CH₄ (L d)⁻¹)	R2	0,1551 d	0,1740 d	0,4082 c	0,1652 bc	0,4871 b	1,4946 a	1,2472 a	46	203**
	R1+R2	0,1524 f	0,2124 ef	0,3273 de	0,1846 d	0,3903 c	1,6621 a	1,4702 b	37	345**
PEM	R1	0,0879 d	0,1251 d	0,0748 d	0,1097 d	0,0602 c	0,31 a	0,2619 b	84	81**
(L CH₄ (g DQOremov))	R2	0,1590 c	0,1403 c	0,1662 bc	0,1584 bc	0,2061ab	0,3173 a	0,2861 ab	129	11**
	R1+R2	0,1407 b	0,1027 b	0,1490 b	0,1355 b	0,0759 a	0,1407 a	0,2172 a	86	30**
CH₄ %	R1	40,2 a	40,3 ab	35,0 d	41,1 cd	35,6 a	34,8 d	37,9 bc	12	30**
	R2	55,4 cd	55,3 cd	55,0 d	55,4 c	56,2 e	60,8 a	59,3 b	5	88**
Energia Elétrica (kW d⁻¹)	R1	0,0014 d	0,0021 d	0,0018 d	0,0029 d	0,0148 c	0,0210 a	0,0181 b	40	436**
	R2	0,0027 d	0,0023 f	0,0079 c	0,0067 bc	0,0102 b	0,0292 a	0,0265 a	46	209**
	R1+R2	0,0047 f	0,0066 ef	0,0102 de	0,0122 d	0,0288 c	0,0518 a	0,0461 b	37	348**

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

4.6 Sólidos totais e voláteis do lodo dos reatores UASB, R1 e R2.

As taxas de carregamento de lodo (TCL) aumentaram gradualmente da partida para a fase III e da fase IV a fase VI, alcançando valores máximos de 0,39 (R1) e 0,18 (R2) g DQO (g SV d)⁻¹. Durante a partida foram de 0,15 e 0,05 g DQO (g SV d)⁻¹, para os reatores UASB R1 e R2, respectivamente (Tabela 10). Estes valores de TCL estão dentro do intervalo recomendado por CHERNICHARO (2007) para a partida (0,05 a 0,15 kg kg⁻¹ d⁻¹), e condições estáveis (até 2,0 kg kg⁻¹ d⁻¹). A TCL não foi um fator limitante para o desempenho do sistema.

Tabela 10. Concentrações de sólidos totais (ST), nos pontos de coleta de lodo (apresentados na Figura 2) e taxas de carregamento orgânico no lodo (TCL) nos reatores UASB R1 e R2 e carga orgânica volumétrica (COV), durante a partida, fase III e VI.

		PARTIDA	FASE III		FASE VI	
Período de Operação (d)		1 a 125	287 a 342		460 a 525	
TCL	R1	0,15	0,22		0,39	
	R2	0,05	0,12		0,18	
		Inóculo	R1	R2	R1	R2
ST (g L⁻¹)	P4		41,26	21,15	20,54	40,01
	P3		52,26	48,44	46,53	53,78
	P2		69,27	33,48	42,98	53,89
	P1		71,38	68,86	45,93	65,02
	Média	34,63	70,32	51,17	44,46	59,45
SV (g L⁻¹)	P4		36,10	16,31	18,58	37,21
	P3		47,09	38,90	42,78	50,03
	P2		64,74	27,79	39,18	50,94
	P1		67,37	62,80	41,26	61,79
	Média	20,43	66,05	45,29	40,22	56,37
SV/ST	P4		0,87	0,77	0,90	0,93
	P3		0,90	0,80	0,92	0,93
	P2		0,93	0,83	0,91	0,95
	P1		0,94	0,91	0,90	0,95
	Média	0,59	0,91	0,83	0,91	0,94

Os valores médios de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) aumentaram durante a operação dos reatores. As concentrações de SV do lodo de inóculo na

partida dos reatores foram de $20,4 \text{ mg L}^{-1}$ e alcançou valores de médios de $66,5 \text{ mg L}^{-1}$ no R1 e $45,29 \text{ mg L}^{-1}$ no R2, indicando que houve crescimento na manta de lodo dos reatores (Tabela 10). As proporções dos ST e SV variaram entre os pontos de coletas, porém as concentrações de SV mais elevadas são observadas principalmente nos pontos inferiores de cada reator, indicando boa sedimentação do lodo. Apesar da variação das concentrações de SV nos quatro pontos de coleta analisados nos dois reatores, os valores médios de SV entre as fases III e VI foram similares. Assim, o desenvolvimento do lodo evidenciado durante o período experimental permitiu a geração e a manutenção de uma microbiota adaptada às condições impostas, contribuindo para um melhor desempenho e estabilidade dos reatores.

4.7 Teores de N e P nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)

Os valores de NTK e P-total do afluente variaram de 38 a 116 mg L^{-1} e de 6 a 44 mg L^{-1} , respectivamente. Com o aumento da COV, as concentrações de NTK e P-total no afluente aumentaram. A partir da fase III, as maiores concentrações NTK e P foram de 77 mg L^{-1} e $22,3 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 9). Os teores de nitrogênio e fósforo dependem diretamente dos maltes utilizados e do processo enzimático, que degrada o amido e as proteínas dos grãos, e ajudam a definir as características da cerveja (PRIEST E STEWART, 2006).

As proporções de NTK : P-total do afluente dos reatores foram predominantemente dentro ou próximas da faixa de valores ótimos recomendados (DQO:N:P = 350:5,0:1,0) para o crescimento adequado de microrganismos (CHERNICHARO, 2007). As proporções de NTK : P-total do afluente variaram de 21,2:2,3 a 2,7:0,9 no afluente (Tabela 11).

As maiores eficiências de remoção de P-total no sistema R1+R2 foram de 58 e 59% nas fases IV e V, respectivamente. Individualmente, os reatores apresentaram melhores remoções na fase VI, chegando a 48% no R1 e 67% no R2. Um dos mecanismos de remoção de nitrogênio e fósforo pode estar ligado a formação de estrovita ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), que precipitam e são imobilizadas na manta de lodo do reator (OLIVEIRA, 1997), com a suplementação de ferro favorecendo ainda mais o precipitação de vivianita.

Tabela 11. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações e das respectivas eficiências de remoção (em %) do nitrogênio Kjeldahl (NTK) e do fósforo total (P-total), do afluente e dos efluentes dos reatores R1 e R2.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
Período de Operação (d)		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525		
COV (g DQOtotal (L d) ⁻¹)	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
NTK (mg L ⁻¹)	Afluente	116 a	42 a	53 a	41 a	38 a	77 a	63 a	153	1ns
	R1	39 a	33 a	44 a	40 a	21 a	51 a	50 a	102	1ns
	R2	19 b	27 ab	36 ab	35 ab	25 ab	52 a	46 ab	55	3**
P-Total (mg L ⁻¹)	Afluente	13 b	9 b	44 a	22 b	13 b	6 b	17 b	63	11**
	R1	9 b	11 b	29 a	18 ab	11 b	5 b	12 b	72	6**
	R2	8 bc	7 c	28 a	19 ab	8 bc	3 c	11 bc	59	12**
NTK : P-total*	Afluente	21,2:2,3	5,6:1,2	4,4:3,7	4,8:2,7	2,7:0,9	4,7:0,2	4,5:1,0	-	-
	R1	13,1:2,6	18,4:2,3	11,8:3,8	14,2:2,6	5,4:1,5	8,9:0,4	9,4:1,2	-	-
	R2	22,6:12,9	15,2:3,8	9,5:7,4	7,2:3,9	6,2:2,1	9,0:0,5	8,6:1,9	-	-
Eficiências de remoção (%)										
NTK	R1	54 a	54 a	17 a	46 a	44 a	29 a	32 a	52	1ns
	R2	20 a	26 a	22 a	43 a	29 a	15 a	22 a	88	1ns
	R1+ R2	54 a	60 a	32 a	26 a	48 a	28 a	33 a	55	2ns
P-Total	R1	37 a	31 a	33 a	47 a	29 a	35 a	48 a	49	1ns
	R2	36 a	36 a	19 a	36 a	46 a	55 a	67 a	53	2ns
	R1+R2	41 a	52 a	34 a	28 a	58 a	59 a	48 a	49	2ns

*Para uma demanda química total de oxigênio (DQO) de 350 mg L⁻¹, Valores da relação DQO: N: P superiores ao recomendado 350: 5: 1 para o crescimento adequado de microrganismos (CHERNICHARO, 2007).

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

4.8 Teores de macro e micronutrientes nos afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)

Assim como os teores de nitrogênio e fósforo anteriormente mencionados, a variação dos nutrientes no afluente ao longo do experimento pode ser em função a composição dos maltes utilizados, além do aumento gradual da COV. As maiores concentrações médias no afluente de Ni, Co, Cu, Ca, Mg, Mn, Na, Zn e K foram de 2,66; 2,92; 0,05; 6,36; 1,77; 0,39; 143,25; 4,17 e 0,95 mg L⁻¹, respectivamente (Tabelas 12 e 13).

As concentrações dos nutrientes dos efluentes estão próximas aos valores obtidos no afluente, indicando que a maioria dos micronutrientes presentes no resíduo cervejeiro ainda permanece no efluente. As concentrações de NTK e P-total nos efluentes também se demonstraram similares às do afluente (Tabela 12), podendo ser aplicados no cultivo vegetal, como demonstrado por RIERA-VILA et.al (2019).

As concentrações de Fe do afluente variaram de 2,57 mg L⁻¹ (Fase II) a 7,56 mg L⁻¹ (Fase VI), o aumento de Fe em altas COV é consistente com a estabilidade e a alta produção de metano obtida pelo sistema de tratamento. Nas fases V e VI estão as maiores taxas de remoção de ferro, de 93% (4,3 para 0,31 mg L⁻¹ de Fe) e 75% (7,56 para 1,88 mg L⁻¹ de Fe). Esse resultado pode ser em virtude do Fe ser um elemento consumido por bactérias homoacetogênicas, bactérias utilizadoras de propionato, pelas arqueas metanogênicas (MENG et al., 2013; THANH et al., 2016), além da afinidade do elemento pelo fosfato podendo formar vivianitas (KORVING et al, 2019; OLIVEIRA, 1997). No entanto, de acordo com SUÁREZ (2018), os requisitos de micronutrientes na digestão anaeróbica são altamente variáveis, as necessidades de Fe recomendadas possui uma ampla faixa de variação, de 1,1 a 30,1 mg (g DQO removida)⁻¹.

Esse resultado indica que a concentração de 4,3 mg L⁻¹ de Fe no afluente, atingida com a suplementação de Fe na dosagem de 2 mg L⁻¹ feita na fase V, parece estar mais próxima da requerida pelo sistema.

Os valores dos nutrientes sofreram influência direta dos nutrientes obtidos nos grãos de malte utilizados pela cervejaria. Contudo, nenhum dos elementos parece ter interferido diretamente nos resultados obtidos pela suplementação com o Fe.

Tabela 12. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações de Fe, Ni, Co, Cu e Mn (mg L^{-1}) no afluente e nos efluentes e respectivas eficiências de remoção em % do sistema R1+R2.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
Período de Operação (d)		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525		
COV (g DQOtotal (L d)⁻¹)	R1+R2	1,9 c	2,7 c	4,2 bc	6,5 b	9,8 a	11,4 a	9,1 a	40	43**
	R1	5,1 c	7,1 c	11,1 bc	15,4 b	23,1 a	30,2 a	27,4 a	40	43**
	R2	1,6 d	2,3 d	3,9 cd	8,5 bc	8,1 b	13,8 a	9,8 ab	51	33**
Fe	Afluente	2,82 b	2,57 b	2,75 b	3,49 ab	3,12 ab	4,30 ab	7,56 a	70	2ns
	R1	1,24 a	1,33 a	1,83 a	1,87 a	2,77 a	1,26 a	2,08 a	63	2ns
	R2	1,11 ab	1,12 ab	1,76 ab	1,60 ab	2,03 a	0,31 b	1,88 ab	66	3*
Ni	Afluente	0,18 b	1,07 ab	0,29 b	1,53 ab	2,66 a	0,20 b	0,03 b	92	5**
	R1	0,13 b	0,54 ab	0,10 b	0,93 ab	1,67 a	0,06 b	0,01 b	76	9**
	R2	0,09 b	0,48 b	0,10 b	1,01 ab	2,19 a	0,01 b	<0,01	93	8**
Co	Afluente	0,08 c	0,64 bc	0,43 bc	2,92 a	2,50 ab	0,10 c	0,28 c	87	9**
	R1	0,04 a	0,63 a	0,38 a	0,83 a	1,04 a	0,25 a	0,03 a	107	4*
	R2	0,04 a	0,33 a	0,41 a	0,94 a	0,94 a	0,29 a	0,03 a	105	2ns
Cu	Afluente	0,03 a	0,03 a	0,05 a	0,04 a	0,05 a	<0,01	<0,01	25	3ns
	R1	0,01 a	0,02 a	0,04 a	0,06 a	0,02 a	<0,01	0,03 a	104	1ns
	R2	0,02 a	0,02 a	0,04 a	0,06 a	0,01 a	<0,01	<0,01	90	1ns
Mn	Afluente	0,31 a	0,21 a	0,18 a	0,39 a	0,39 a	0,06 a	0,22 a	98	1ns
	R1	0,18 a	0,19 a	0,17 a	0,28 a	0,21 a	0,07 a	0,10 a	97	1ns
	R2	0,11 ab	0,16 ab	0,17 ab	0,36 a	0,21 ab	0,04 b	0,11 ab	102	3*

Tabela 13. Valores médios e coeficientes de variação (c.v. em %) das concentrações de Mg, Ca, Na, Zn e K (mg L^{-1}) no afluente e nos efluentes e respectivas eficiências de remoção em % do sistema R1+R2.

		PARTIDA	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	c.v.	F
Período de Operação (d)		1 a 125	126 a 201	202 a 286	287 a 342	343 a 401	402 a 459	460 a 525		
Mg	Afluente	1,50 a	1,01 a	0,92 a	1,53 a	1,77 a	0,44 a	1,44 a	81	2ns
	R1	1,29 a	1,06 a	0,97 a	1,38 a	1,40 a	0,55 a	0,94 a	98	1ns
	R2	1,04 ab	0,83 ab	0,92 ab	1,83 a	1,67 a	0,49 b	0,68 ab	72	3*
Ca	Afluente	5,88 a	6,36 a	2,50 a	1,65 a	3,59 a	1,41 a	5,09 a	110	1ns
	R1	3,14 a	1,90 a	2,69 a	2,85 a	2,15a	2,05 a	3,03 a	63	1ns
	R2	2,69 a	1,31 a	2,40 a	2,79 a	1,70 a	0,99 a	2,98 a	66	2ns
Na	Afluente	122,88 a	32,50 a	57,00 a	143,25 a	28,25 a	16,61 a	95,54 a	145	1ns
	R1	126,88 a	31,77 a	31,02 a	96,50 a	32,75 a	14,55 a	64,38 a	142	2ns
	R2	127,88 a	30,25 a	29,43 a	88,75 a	34,63 a	12,32 a	25,45 a	142	2ns
Zn	Afluente	0,08 a	0,19 a	0,41 a	0,32 a	<0,01	<0,01	<0,01	328	1ns
	R1	0,06 a	0,14 a	0,28 a	0,19 a	<0,01	<0,01	0,06 a	405	1ns
	R2	0,09 a	0,13 a	0,18 a	0,29 a	<0,01	<0,01	0,01 a	402	1ns
K	Afluente	0,61 a	0,46 a	0,95 a	0,90 a	0,80 a	0,26 a	0,70 a	72	2ns
	R1	0,59 a	0,37 a	0,78 a	0,64 a	0,60 a	0,26 a	0,49 a	97	1ns
	R2	0,45 ab	0,33 b	0,74 ab	1,00 a	0,63 ab	0,24 b	0,39 b	66	4**

No afluente, a concentração média mais baixa de Na foi de 16,61 mg L⁻¹ na fase V. O Zn teve maior concentração no afluente na fase II com 0,41 mg L⁻¹ decrescendo nas fases seguintes, chegando a ter os menores valores nas fases IV, V e VI e estando abaixo do valor detectável pelo método (<0,01) algumas vezes.

O afluente teve maiores valores de Mn nas fases III e IV, com 0,39 mg L⁻¹ em ambas as fases, que foram seguidas de queda para 0,06 mg L⁻¹ na fase V, tornando a aumentar para 0,22 mg L⁻¹ na fase VI.

Os valores médios de Co no afluente chegaram a 2,92 e 2,5 mg L⁻¹ nas fases III e IV, respectivamente, mas decresceram nas fases seguintes para 0,10 na fase V e aumentaram ligeiramente para 0,28 mg L⁻¹ na fase VI.

O mesmo ocorreu com o Ni, onde a média mais alta do afluente, 2,66 mg L⁻¹, foi vista na fase IV e foi seguida de decréscimos nas fases V e VI, 0,20 e 0,03 mg L⁻¹ de Ni, respectivamente.

O aumento das concentrações no afluente nas fases III e IV observadas em Ni e Co e Mn podem ter sido em função da redução do TDH iniciada na fase III e pelo aumento da COV de 6,5 para 9,8 g DQOtotal L d⁻¹ na fase IV, diminuindo a remoção desses elementos no sistema, aumentando a sua concentração no efluente do R2 retornando ao afluente pela recirculação.

4.9 Microbiota do sistema R1 e R2

4.9.1 Análises da dinâmica da composição da comunidade microbiana

Para explorar melhor a população microbiana, a composição em nível de filo foi comparada utilizando amostras de lodo de R1 e R2 antes (Fase III) e após a suplementação de Fe (fase VI) (Figura 15). Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidetes foram os filos mais abundantes. Os Firmicutes foram 84,7% (R1) e 51,3% (R2) na Fase III e 96,0% (R1) e 83,8% (R2) na Fase VI. As concentrações de Actinobactérias foram de 5,3% (R1) e 35,7% (R2) na Fase III e 1,3% (R1) e 6,3% (R2) na Fase VI. Firmicutes e Actinobacteria são conhecidos por degradar compostos de alto peso molecular (YANG et al., 2019); e a sua maior abundância no R1 pode ter ocorrido devido à maior disponibilidade desses compostos.

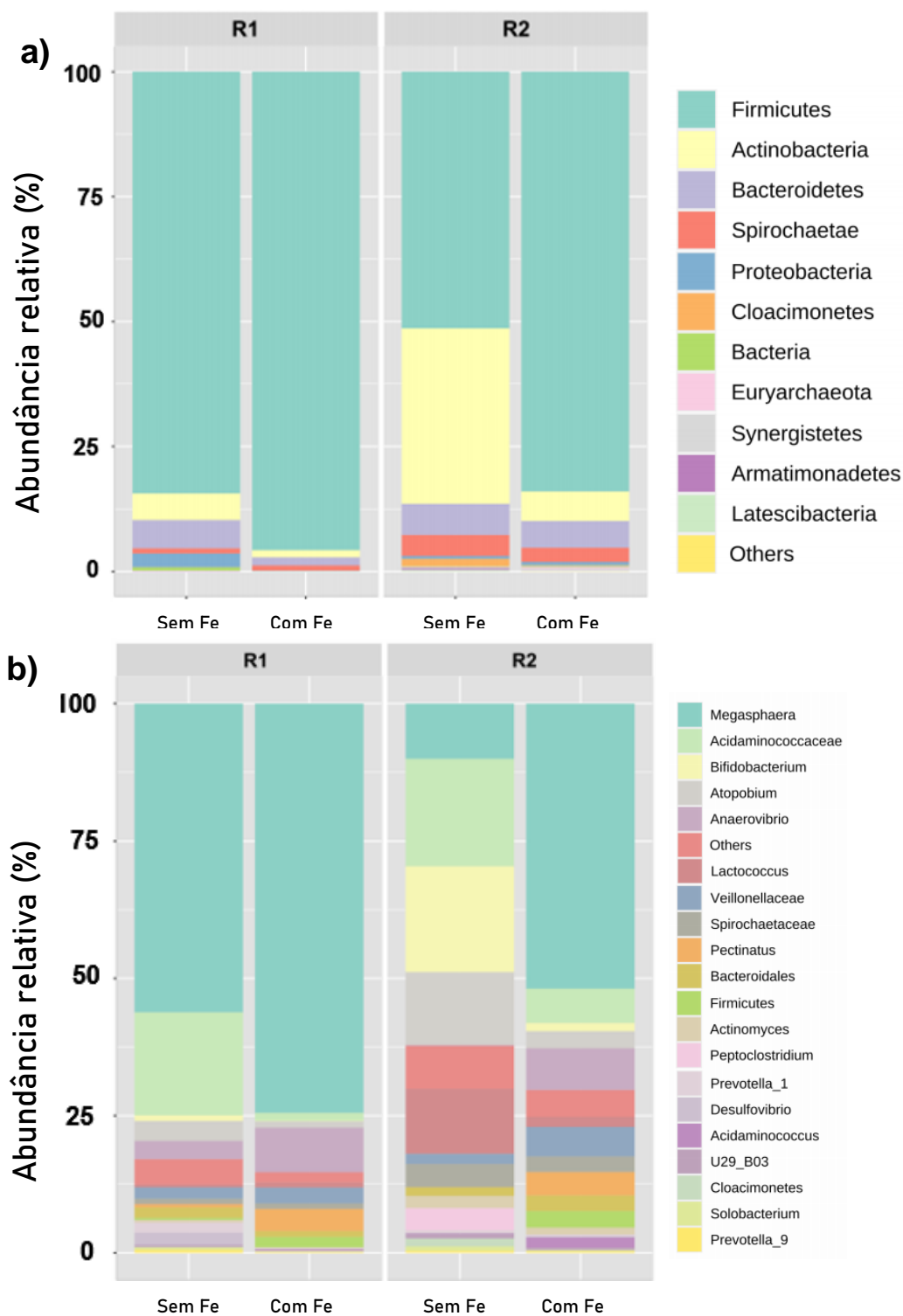


Figura 15. Distribuição taxonômica em nível de filo (a) e nível de gênero (b) nos reatores R1 e R2 com e sem a suplementação de Fe. Others: táxons com <1% da composição total.

A abundância relativa de bactérias também foi analisada em nível de gênero. Os resultados da análise sem suplementação de Fe mostraram que *Bifidobacterium* (1,0% no R1 e 19,5% no R2), *Atopobium* (3,6% no R1 e 13,6% no R2), *Megasphaera* (57,4% no R1 e 9,8% no R2) e *Lactococcus* (0,5% no R1 e 12,0% no R2) representaram um maior percentual do total de sequências bacterianas (Fase III). Após a suplementação de Fe (Fase VI), as sequências bacterianas mais abundantes foram *Megasphaera* (74,3% no R1 e 51,1% no R2), *Anaerovibrio* (8,0% no R1 e 7,8% no R2) e *Pectinatus* (4,0% no R1 e 4,5% no R2). Portanto, houve uma mudança na composição bacteriana; *Bifidobacterium* e *Atopobium* tiveram uma diminuição mais pronunciada enquanto *Megasphaera*, *Anaerovibrio* e *Pectinatus* aumentaram. *Bifidobacterium*, *Pectinatus* e *Megasphaera* foram dominantes no processo de digestão anaeróbia e mostraram a capacidade de metabolizar resíduos orgânicos complexos em H₂ e acetato, mesmo em condições ácidas ou um curto TDH (LI et al., 2016). Conseqüentemente, essa condição estimulou o desenvolvimento da metanogênese hidrogenotrófica e acetotrófica. Assim, o aumento proporcional em sua abundância pode ter sido favorecido pelo estímulo à conversão dos ácidos totais, aumentando também a produção de metano.

4.10.2 Análises da dinâmica de composição da comunidade microbiana qPCR em tempo real

Grupos importantes de microrganismos foram detectados por sequenciamento de próxima geração, quantificado por qPCR de amostras de lodo na Fase III (antes da suplementação com Fe) e na Fase VI (com suplementação com Fe). Foram quantificados os domínios Bacteria e Archaea, as ordens Methanobacteriales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales, bem como as famílias Methanosarcinaceae e Methanosaetacea. As bactérias predominaram em todas as amostras (Figura 15), as bactérias variaram de $9,5 \times 10^8$ a $11,1 \times 10^9$ cópias / g VS em R1 (fase III) e de $5,0 \times 10^8$ a $1,8 \times 10^9$ cópias / g VS em R2 (fase IV). Archaea variou de $2,8 \times 10^8$ a $1,1 \times 10^9$ cópias / g VS em R1 (fase III) e de $1,5 \times 10^9$ a $5,3 \times 10^9$ cópias / g VS em R2 (fase IV). Os níveis bacterianos e de Archaea aumentaram em todos os reatores com suplementação de Fe, em comparação aos níveis da fase

III e da fase VI. Com o uso de resíduo rico em ferro na digestão anaeróbia encontramos *Methanobacterium* como o grupo metanogênico mais abundante do grupo hidrogenotrófico e *Methanosaeta* e *Methanosarcina* entre os produtores de metano acetoclásticos (YANG et al., 2019)

Comparando as ordens de microrganismos metanogênicos em cada reator sob diferentes condições, o mesmo arranjo foi observado: *Methanosarcinales* foi mais observado que *Methanomicrobiales*, que foi maior que *Methanobacteriales*; e comparando o R1 com o R2, níveis mais elevados em todos os grupos metanogênicos foram observados em R2. A ordem *Methanosarcinales* é a mais abundante encontrada em UASB em dois estágios de tratamento de efluente industrial proveniente do processamento de café (SUÁREZ et al., 2018), vinhaça de cana-de-açúcar (BARROS et al., 2017).

Nos níveis da família, *Methanosarcinaceae* e *Methanosaetaceae* apresentaram padrão de concentração semelhante em todas as amostras, sendo que *Methanosarcinaceae* apresentou concentração ligeiramente superior em ambos os reatores. LI et al., (2015) indicou a dominância de *methanosarcina* com o aumento da produção de acetato dada pela alta taxa de COV, e o mesmo pode ter ocorrido com este experimento, em virtude as condições operacionais aplicadas, tais como maiores concentrações de AVT, alta taxa de COV e o consumo de outros compostos além do acetato. A via acetoclástica juntamente com a hidrogenotrófica podem ser as principais vias bioquímicas de metanogênese com suplementação de ferro (YANG et al., 2019). Neste estudo, o aumento de COV e a aplicação de ferro estimularam o aumento da população das arqueias identificadas em ambos os reatores (Figura 16 a). Assim, a distribuição entre microrganismos hidrogenotróficos e acetoclásticos no lodo dos reatores UASB R1 e R2 permitiu a alta produção de metano.

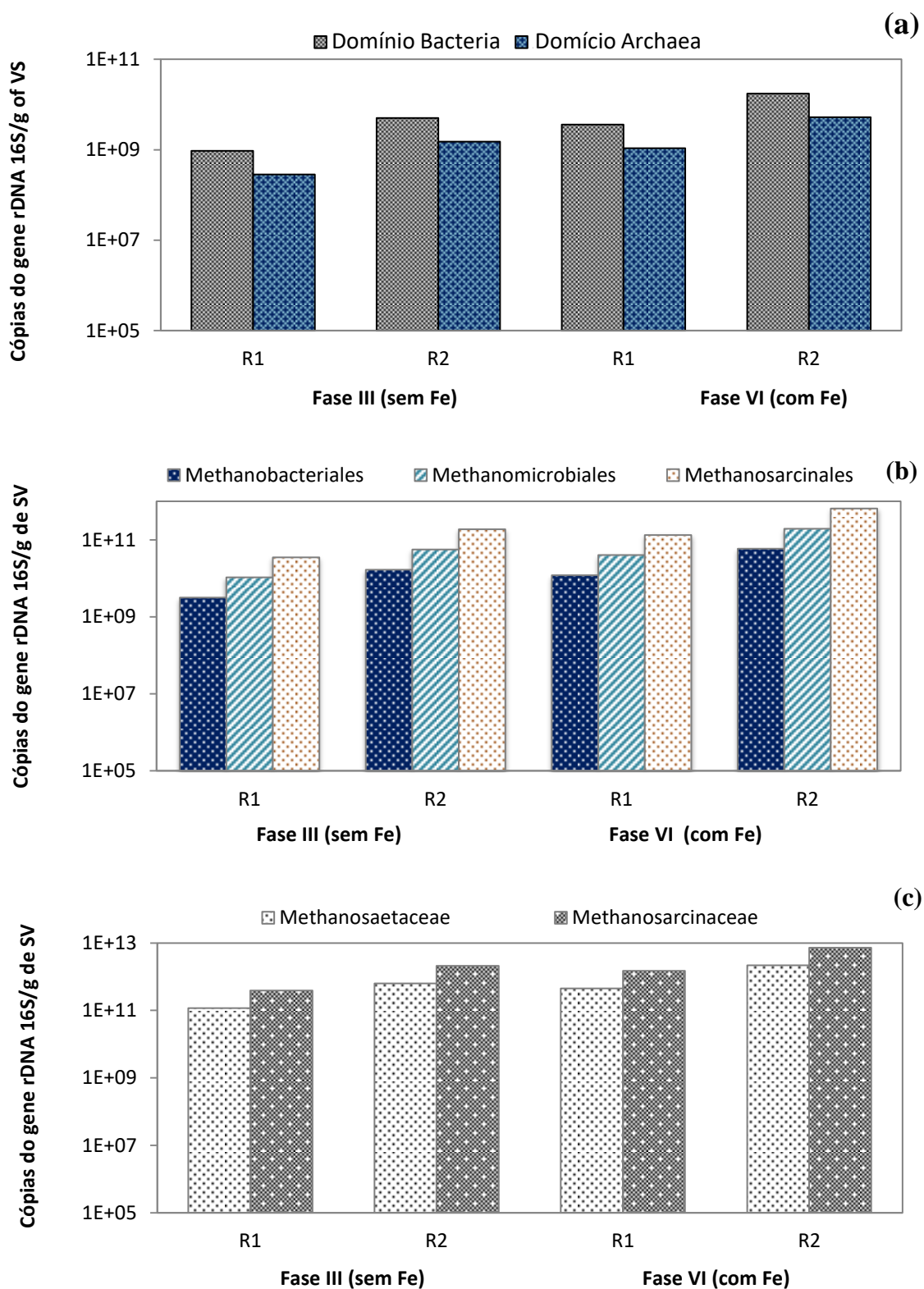


Figura 16. Quantificação absoluta dos microrganismos com qPCR dos domínios Bacteria e Archaea (a), três ordens (b) e duas famílias (c) do domínio arquea presente no lodo dos reatores UASB de dois estágios (R1 e R2). SV: Concentração de sólidos voláteis.

5. CONCLUSÃO

A suplementação de ferro no tratamento de ARC possui ótimo custo benefício contribuindo para maior estabilidade e produção de biogás de melhor qualidade. O sistema possuiu estabilidade operacional, obtendo uma produção máxima de metano 2,05 e 1,49 L CH₄ (L d)⁻¹ no R1 e R2, respectivamente, com as maiores COV de 30,2 e 13,8 g DQO total (L d)⁻¹ no R1 e R2, respectivamente. As maiores eficiências de remoções de DQO total foram de 70,5 % para o sistema de tratamento R1+R2 e a porcentagem máxima de CH₄ no biogás foram de 41,5 % no R1 e de 60,8 % no R2. Os reatores UASB em dois estágios com a suplementação adequada de Fe favoreceu o tratamento de águas residuárias de cervejaria com elevada COV e produção de metano em condições estáveis.

6. REFERÊNCIAS

- AHN, Y.H.; MIM, K.S.; SPEECE, R.E. Pre-acidification in anaerobic sludge bed process treating brewery wastewater, **Water Research**, v. 35, n. 18, p. 4267-4276. 2001.
- APHA. AWWA. WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed. Washington . **American Public Health Association** , 2005.
- ARANTES , M. K. et al. Treatment of brewery wastewater and its use for biological production of methane and hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 42, p. 26243–26256, 2017.
- BARTH-HAAS 2019. **The Barth Reports** (2018-2019). Disponível em:<<http://www.barthhaasgroup.com/images/mediacenter/downloads/pdfs/412/barthberic ht20162017en.pdf>> Acesso em: 11/2019.
- BARROS, V. G. DE; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. DE. Biomethane production from vinasse in UASB reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 1–12, 2016.
- BARROS, V. G. DE et al. Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors, with predominance of Methanothermobacter and Methanosarcina archaea and Thermotogae bacteria. **Bioresource technology**, v. 244, p. 371-381, 2017.
- BRUNO, M.; OLIVEIRA, R. A. DE. Performance of Uasb Reactors in Two Stages Followed By Post-Treatment With Activated Sludge in Wastewater Batch of Wet-Processed Coffee. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 4, p. 808–819, 2013.
- CAVALCANTI, P.F.F. et al.,. Excess sludge discharge frequency for UASB reactors. **Water Sci. Technol.** 40, 211–219, 1999.
- CHEN , H. et al. Brewery wastewater treatment using an anaerobic membrane bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 105, p. 321–331, 15 jan. 2016.
- CHEN , Y.; CHEN G, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, Barking, v. 99, n.10, p.4044-4064, 2008.
- CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG; 2007., 2016.
- CONNAUGHTON, S., et al. Psychrophilic and Mesophilic Anaerobic Digestion of Brewery Effluent : A Comparative Study. **Water Research** 40: 2503–10, 2006.

CRONIN, C.; LO, K.V. Anaerobic treatment of brewery wastewater using UASB reactors seeded with activated sludge, **Bioresource Technology**, v. 64, p. 33-38. 1998

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

DRIESSEN, W. J. B. M.; TIELBAARD, M. H.; VEREIJKEN, T. L. F. M. Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the uasb process. **Water Science and Technology**, London, v.30, n.12 , p.193-201,1994.

DUDA, R. M. et al. A balanced microbiota efficiently produces methane in a novel high-rate horizontal anaerobic reactor for the treatment of swine wastewater. **Bioresource technology**, v. 197, p. 152-160, 2015.

ENITAN, A. M. et al. Anaerobic Digestion Model to Enhance Treatment of Brewery Wastewater for Biogas Production Using UASB Reactor. **Environmental Modeling and Assessment**, v. 20, n. 6, p. 673–685, 2015.

ESPAÑA-GAMBOA, E. I. et al. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 82, 2012.

EVANGELISTA, A. et al. Improving the energy balance of the industry of ethanol with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. **Journal of Cleaner Production**, 2019.

FILAUDEAU, L.; BLANPAIN-AVET, P.; DAUFIN, G. Water , wastewater and waste management in brewing industries. v. 14, p. 463–471, 2006.

FIREW, T.; DANIEL, F.; SOLOMON, S. S. Performance assessment of wastewater treatment plant of Hawassa St. George Brewery, Hawassa, Ethiopia. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 22, n. 8, p. 1285, 2018.

FONTENELLE, M. et al. Evaluation of Corrosion Caused by the use of In Natura Biogas in Steam Generator Boilers of Carbon Steel Structural Elements. **Materials Research**, v. 20, n. 3, p. 725–735, 2017.

GUNES, B. et al. Pre-treatments to enhance biogas yield and quality from anaerobic digestion of whiskey distillery and brewery wastes: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 113, n. June, p. 109281, 2019.

JANKE, L. et al. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 10–20, 2016.

KHANAL SK (2008) **Anaerobic biotechnology for bioenergy production**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 306p.

- KANAGACHANDRAN, K.; JAYARATNE, R.; BREW, J. I. Utilization Potential of Brewery Waste Water Sludge as an Organic Fertilizer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 112, n. 2, p. 92–96, 2006.
- KORVING, L.; LOOSDRECHT, M. VAN; WILFERT, P. Effect of Iron on Phosphate Recovery from Sewage Sludge nroduction: The Role of Iron in Sewage Treatment. **Ohtake, H., Tsuneda, S. (Eds.), Phosphorus Recovery and Recycling. Springer Singapore, Singapore**, p. 303–326, 2019.
- KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. 3rd. ed. [s.l.] VLB Berlin, Germany, 2004.
- KYTHREOTOU, N, et al. An assessment of the biomass potential of Cyprus for energy production. **Energy**, v. 47, n. 1, p. 253-261, 2012.
- LI, Y. et al. Enhancement of anaerobic methanogenesis at a short hydraulic retention time via bioelectrochemical enrichment of hydrogenotrophic methanogens. **Bioresource technology**, v. 218, p. 505-511, 2016.
- LIN, Q. et al. Bioresource Technology Temperature affects microbial abundance , activity and interactions in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 228–236, 2016.
- LIU, Y, et al. Optimization of Anaerobic Acidogenesis by Adding Fe 0 Powder to Enhance Anaerobic Wastewater Treatment. **Chemical Engineering Journal**, 192: 179–85, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccej.2012.03.044>.
- MCCARTY, Perry L. Anaerobic waste treatment fundamentals. **Public works**, v. 95, n. 9, p. 107-112, 1964.
- MÉNDEZ-ACOSTA, H. O. et al. A hybrid cascade control scheme for the VFA and COD regulation in two-stage anaerobic digestion processes. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 1195–1202, 2016.
- MENG, X. et al. Adding Fe 0 powder to enhance the anaerobic conversion of propionate to acetate. v. 73, p. 80–85, 2013.
- MENG, X. et al. Methane production and characteristics of the microbial community in a two-stage fixed-bed anaerobic reactor using molasses. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1050–1059, 2017.
- MOTA, V.T. et al. Two-stage anaerobic membrane bioreactor for the treatment of sugarcane vinasse: assessment on biological activity and filtration performance. **Bioresource Technology**, 146, 494–503, 2013. doi:10.1016/j.biortech.2013.07.110
- OLAJIRE, A. A. The brewing industry and environmental challenges. **Journal of Cleaner Production**. p 1–21, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.03.003>,

OLIVEIRA, R. A. DE. **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura.** São Carlos: Escola de Engenharia, USP, 1997.

OLIVEIRA, R. A. de; FORESTI, E. Balanço de massa de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 3, p. 807-820, 2004.

PANJICKO, M. et al. Biogas production from brewery spent grain as a mono-substrate in a two-stage process composed of solid-state anaerobic digestion and granular biomass reactors. **Journal of cleaner production** 166, 519–529, 2017. doi:10.1016/j.jclepro.2017.07.197

PAP, B. et al. Bioresource Technology Temperature-dependent transformation of biogas-producing microbial communities points to the increased importance of hydrogenotrophic methanogenesis under thermophilic operation. **Bioresource Technology**, v. 177, p. 375–380, 2015.

PARAWIRA, W. et al. A study of industrial anaerobic treatment of opaque beer brewery wastewater in a tropical climate using a full-scale UASB reactor seeded with activated sludge, **Process Biochemistry**, v. 40, p. 593-599, 2005.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. Second ed. [s.l.] Taylor and Francis Ltd., 2006.

RAJAGOPAL, R. et al. Influence of pre-hydrolysis on sewage treatment in an Up-Flow Anaerobic Sludge BLANKET (UASB) reactor: A review. **Water (Switzerland)**, v. 11, n. 2, p. 3–7, 2019.

RAJESHWARI, K. . et al. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, n. 2, p. 135–156, jun. 2000.

RAO, A.G. et al. pH regulation of alkaline wastewater with carbon dioxide: a case study of treatment of brewery wastewater in UASB reactor coupled with absorber, **Bioresource Technology**, v. 98, p. 21312136. 2007.

REGUEIRO, L.; LEMA, J. M.; CARBALLA, M. Key microbial communities steering the functioning of anaerobic digesters during hydraulic and organic overloading shocks. **Bioresource technology**, v. 197, p. 208-216, 2015.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. , **Journal Water Pollution Control Federation**, Malden, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

RIERA-VILA, Ignasi et al. Anaerobically-Digested Brewery Wastewater as a Nutrient Solution for Substrate-Based Food Production. **Horticulturae**, v. 5, n. 2, p. 43, 2019.

RODRIGUEZ, L.; VILLASEÑOR, J.; FERNANDEZ, F. J. Influence of the cleaning additives on the methane production from brewery effluents. **Chemical Engineering Journal**, v. 215–216, p. 685–690, 2013.

SANTANA JUNIOR et al. Improving the energy balance of the industry of ethanol with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, p. 117577, 2019.
doi:10.1016/j.jclepro.2019.07.052

SANTOS, M. S. dos; RIBEIRO, F. de M. Cervejas e refrigerantes. **São Paulo: CETESB**, v. 58, 2005.

SONG, M.; SHIN, S. G.; HWANG, S. Methanogenic population dynamics assessed by real-time quantitative PCR in sludge granule in upflow anaerobic sludge blanket treating swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. S23-S28, 2010.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Vanderbilt Archae Press, 1995.

SPEECE, R. E., **Anaerobic Biotechnology and odor/corrosion control for municipalities and industries**, Achaea Press, 2008.

SUÁREZ, W. A. B. et al. Predominance of syntrophic bacteria , Methanosaeta and Methanoculleus in a two-stage up- fl ow anaerobic sludge blanket reactor treating coffee processing wastewater at high organic loading rate. **Bioresource Technology**, v. 268, n. July, p. 158–168, 2018.

SUBRAMANIAM, V. et al. Cultivation of Chlorella on brewery wastewater and nanoparticle biosynthesis by its biomass. **Bioresource technology**, v. 211, p. 698-703, 2016.

TAKASHIMA, M., et al. Minimum Requirements for Trace Metals (Iron , Nickel , Cobalt , and Zinc) in Thermophilic and Mesophilic Methane Fermentation from Glucose. **Water Environment Research**, 83(4), 339–346, 2011.
<https://doi.org/10.2175/106143010X12780288628895>

THANH, P. M. et al. Trace metal speciation and bioavailability in anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 2, p. 122–136, 2016.

VENKATA, M. S. et al. Firmicutes with iron dependent hydrogenase drive hydrogen production in anaerobic bioreactor using distillery wastewater. **International journal of hydrogen energy**, v. 36, n. 14, p. 8234-8242, 2011.

VINTILOIU, A. et al. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the bioavailability of trace elements during anaerobic digestion. **Chemical engineering journal**, v. 223, p. 436-441, 2013.

VILLA-MONTOYA, A. C. et al. Removal of phenols and methane production with coffee processing wastewater supplemented with phosphorous. **International journal of environmental science and technology**, v. 14, n. 1, p. 61-74, 2017.

XIANGWEN, S. et al. Treatment of brewery wastewater using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). v. 99, p. 3182–3186, 2008a.

XIANGWEN, S. et al. Treatment of brewery wastewater using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3182–3186, 2008b.

YAMADA, C. et al. Conductive iron oxides accelerate thermophilic methanogenesis from acetate and propionate. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 119, n. 6, p. 678-682, 2015.

YAN, Y.-G.; TAY, J.-H. Brewery Wastewater Treatment in UASB Reactor at Ambient Temperature. **Journal of Environmental Engineering**, v. 122, n. 6, p. 550–553, 1996.

YANG, G. et al. Enhanced anaerobic digestion of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) by blast furnace dust (BFD): feasibility and mechanism. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 33, p. 17709-17719, 2019.

YU, H.; GU, G. Biomethanation of brewery wastewater using an anaerobic upflow blanket filter, **Journal of Cleaner Production**, v. 4, n. 3-4, p. 219-223. 1996

ZVAUYA, R. et al. Aspects of aerobic thermophilic treatment of Zimbabwean traditional opaque-beer brewery wastewater. **Bioresource technology**, v. 48, n. 3, p. 273-274, 1994.