

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu*
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA CRISTINE TELES

REMOÇÃO DE DQO E NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA EM
BIORREATOR DE LEITO EMPACOTADO COM AERAÇÃO INTERMITENTE

PONTA GROSSA

2021

JÉSSICA CRISTINE TELES

REMOÇÃO DE DQO E NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA EM
BIORREATOR DE LEITO EMPACOTADO COM AERAÇÃO INTERMITENTE

Tese apresentada como requisito para obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Barana

PONTA GROSSA

2021

T268 Teles, Jéssica Cristine
Remoção de DQO e nitrogênio de efluente de microcervejaria em biorreator de leite empacotado com aeração intermitente / Jéssica Cristine Teles. Ponta Grossa, 2021.
113 f.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Barana.

1. Aeração intermitente. 2. Efluente cervejeiro. 3. Reator em batelada. 4. Nitrificação e desnitrificação simultânea. 5. Genotoxicidade. I. Barana, Ana Claudia. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

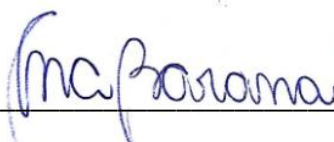
CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

JÉSSICA CRISTINE TELES

“Remoção de DQO e nitrogênio de efluente de microcervejaria em biorreator de leite empacotado com aeração intermitente”

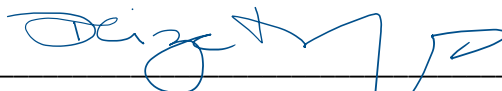
Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:



Prof^a. Dr^a. Ana Cláudia Barana – UEPG-PR



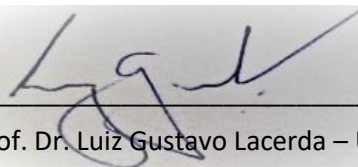
Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi – UNESP-SP



Prof^a. Dr^a. Deize Dias Lopes – UEL-PR



Prof^a. Dr^a. Giovana Tommaso – USP-SP



Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda – UEPG-PR

Ponta Grossa, 02 de setembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus por estar ao meu lado durante esta etapa, dando-me força e coragem para não desistir.

A minha professora e orientadora Ana Cláudia Barana, por todos estes anos me orientando e sendo uma inspiração para mim, como professora e pessoa. Sou grata por acreditar em mim, ser paciente e por sempre estar disponível para me ajudar durante todo este tempo.

A minha família por todo amor, apoio e incentivo, vocês são tudo na minha vida e sem vocês eu não chegaria até aqui.

Ao professor Guilherme Vuitik por todas as sugestões ao trabalho.

À Caroline, Lessandra, Giovana, Gabriela, Thaise, Tais, Priscila e João pela ajuda, convivência e companhia de cada dia no laboratório.

À Denise de Souza Mendes que sempre esteve disponível para me ajudar quando precisei.

À Cervejaria Heineken pela doação do lodo ativado, à Bioproj Tecnologia Ambiental pela doação dos miniBiobobs[®] e à Microcervejaria pela parceria e doação do efluente.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e à Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao C-LABMU pela estrutura disponibilizada.

A todos que contribuíram para que este sonho fosse realizado.

Gratidão!

RESUMO

A indústria cervejeira, seja de grande ou pequeno porte, gera grandes quantidades de efluente com elevadas concentrações de matéria orgânica, no qual parâmetros como Demanda Química de Oxigênio, pH, Nitrogênio Total e Sólidos Totais podem variar de acordo com a natureza e matérias-primas utilizadas, o tipo de cerveja produzida, processo realizado e a quantidade de água utilizada nas etapas de higienização. Este efluente gerado deve ser tratado adequadamente antes de disposto no meio ambiente. As microcervejarias muitas vezes não possuem espaço ou recursos para ter uma Estação de Tratamento de Efluentes e, devido ao crescimento do número de microcervejarias no país, é importante definir como este efluente irá ser disposto de forma adequada no meio ambiente. Estudos demonstram que é possível a utilização de um único reator para remoção de DQO e NT em esgoto sanitário, e essa configuração para tratar o efluente de microcervejaria, que normalmente opera em batelada e muitas vezes não possui condições para instalar uma ETE em seu espaço, pode ser promissora. Para abordar os diversos assuntos relacionados aos efluentes de cervejaria, esta tese se divide em 3 capítulos. O Capítulo I versa sobre a história da cerveja, o mercado, o processo produtivo e geração de efluentes na produção de cerveja. Em uma microcervejaria na cidade de Ponta Grossa-PR foi realizado o acompanhamento do processo produtivo de cervejas do tipo *American Pale Ale* e *Bernstein Amber Ale*. Observou-se que foram necessários cerca de 4,3L de água para produzir 1L de cerveja tipo *American Pale Ale* e 4,7L para produzir 1L de cerveja tipo *Bernstein Amber Ale*. Do total da água consumida, em torno de 70% torna-se um efluente poluente, com valores de DQO que podem variar entre 2.000 a 4000 mg L⁻¹ e de NTK entre 25-80 mg L⁻¹. No Capítulo II são relatados os resultados da avaliação de um reator de leito empacotado com aeração intermitente e recirculação para tratar efluente de microcervejaria, que apresentava DQO média de 2680 mgL⁻¹ e concentração de NTK de 60 mg L⁻¹. O reator foi operado com aeração intermitente, temperatura constante de 30°C e em regime de batelada. Como meio suporte para crescimento e aderência dos microrganismos foram usados miniBioBobs[®], que permitiu a formação de zonas aeróbias e anóxicas no reator. O reator foi operado com diferentes tempos de aeração total (h), variando entre 3h e 15h, TDH de 12h, 16h e 20h, relação DQO/NTK de 40 e 100. Foi possível obter valores de 74,6% a 98,1% para remoção de DQO e de 76,6% a 95,3% para NT. As melhores respostas foram obtidas na condição com TDH de 12h, relação DQO/NTK 40 e tempo de aeração total de 9h, com efluente apresentando 45 ± 9 mg DQO L⁻¹, 6,7 ± 0,7 mg NTK L⁻¹, 0,75 ± 0,15 mg N-NH₄⁺ L⁻¹ e 0,10 ± 0,01 mg N-NO₂ L⁻¹. O Capítulo 3 nos mostra os resultados da avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do efluente de microcervejaria tratado em reator em batelada de leito empacotado com aeração intermitente, através de testes com bulbos de *Allium cepa*. Constatou-se que o tratamento em reator de leito estruturado com aeração intermitente, em batelada e recirculação reduziu a toxicidade do efluente de cervejaria.

Palavras-chave: aeração intermitente, efluente cervejeiro, reator em batelada, nitrificação e desnitrificação simultânea, genotoxicidade, citotoxicidade.

ABSTRACT

The brewing industry, whether large or small, generates large amounts of effluent with high organic concentration, in which parameters such as Chemical Oxygen Demand, pH, Total Kjeldahl Nitrogen and Total Solids can vary according to the nature and raw materials used, the type of beer produced, the process carried out and the amount of water used in the cleaning steps. Thus, the effluent must be properly treated before being disposed of in the environment. Microbreweries often do not have the space or resources to have an Effluent Treatment Plant, and due to the growth in the number of microbreweries in the sector, it is important to think about how this effluent will be properly disposed of. Studies show that it is possible to use a single reactor to remove COD and NT in sanitary sewage, and this configuration to treat microbrewery effluent, which normally operates in batch and often does not have the conditions to install an ETE in its space, can be promising. To address the various issues related to brewery effluents, this thesis is divided into 3 chapters. Chapter I deals with the history of beer, the market, the production process and generation of effluents in beer production. In a microbrewery in the city of Ponta Grossa- PR, the production process of American Pale Ale and Bernstein Amber Ale beers was monitored. It was observed that it took about 4.3L of water to produce 1L of American Pale Ale beer and 4.7L to produce 1L of Bernstein Amber Ale beer. Of the total water consumed, around 70% becomes a polluting effluent, with COD values above that can vary between 2000 and 4000 mg L⁻¹ and NTK between 25-80 mg L⁻¹. Chapter II reports the results of the evaluation of a packed-bed reactor with intermittent aeration and recirculation to treat microbrewery effluent, which had an average COD of 2680 mgL⁻¹ and NTK concentration of 60 mg L⁻¹. The reactor was operated with intermittent aeration, constant temperature of 30°C and in a batch regime. Mini BioBobs® were used as a support medium for the growth and adherence of microorganisms, which allowed the formation of aerobic and anoxic zones in the reactor. The reactor was operated with different total aeration times (h), ranging from 3h to 15h, TDH of 12h, 16h and 20h, with a COD/TKN ratio varying between 40 and 100. It was possible to obtain values from 74.6% to 98.1% for COD removal and from 76.6% to 95.3% for NT. The best responses were obtained in the condition with 12h TDH, 40 COD/TKN ratio and 9h total aeration time, with effluent showing 45 ± 9 mg COD L⁻¹, 6.7 ± 0.7 mg NTK L⁻¹, 0.75 ± 0.15 mg N-NH₄⁺ L⁻¹ and 0.10 ± 0.01 mg N-NO₂L⁻¹. Chapter 3 shows the results of the evaluation of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of microbrewery effluent treated in a packed-bed batch reactor with intermittent aeration, through tests with *Allium cepa* bulbs. It was found that the treatment in a structured bed reactor with intermittent aeration, in batch and recirculation reduced the toxicity of the brewery effluent.

Keywords: intermittent aeration, brewing effluent, batch reactor, simultaneous nitrification and denitrification, genotoxicity, cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Fluxograma do processo geral de produção da cerveja.....	25
Figura 1.2	Fluxograma da produção da cerveja <i>American Pale Ale</i> (APA): balanço de massa, identificação e quantificação dos resíduos gerados no processo.....	29
Figura 1.3	Fluxograma da produção da cerveja <i>Bernstein Amber Ale</i> (BAA): balanço de massa, identificação e quantificação dos resíduos gerados no processo.....	30
Figura 2.1	Rotas de transformação do nitrogênio.....	51
Figura 2.2	Representação do processo NDS em biofilme aderido em suporte inerte.....	55
Figura 2.3	Gradiente de OD em diferentes profundidades de espuma de poliuretano utilizado como material suporte para adesão e crescimento de microrganismos nitrificantes e desnitrificantes.....	56
Figura 2.4	Representação esquemática do reator de leito empacotado utilizado....	60
Figura 2.5	Reator de leito empacotado com recirculação e aeração intermitente: estrutura real.....	61
Figura 2.6	Estrutura do mini BioBob®	62
Figura 2.7	Estrutura do meio suporte, os miniBiobobs®, inoculados.....	63
Figura 2.8	Concentração de DQO Afluente e Efluente das condições com relação DQO/NTK=40.....	68
Figura 2.9	Concentração de DQO Afluente e Efluente das condições com relação DQO/NTK=100.....	68
Figura 2.10	Eficiência de remoção de DQO.....	69
Figura 2.11	Concentrações de NTK no Afluente e Efluente em cada condição avaliada.....	71
Figura 2.12	Eficiência de Remoção de NT em cada condição avaliada.....	72
Figura 2.13	Recipientes contendo efluente bruto, afluente do reator e efluente do reator, respectivamente.....	79
Figura 2.14	Concentração de Sólidos Totais e Sólidos Suspensos Totais do afluente e efluente do reator.....	80
Figura 2.15	Eficiência de Remoção de Sólidos Totais e Sólidos Suspensos Totais do reator.....	80
Figura 3.1	Alterações celulares observadas pela análise de células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i>	95
Figura 3.2	Gráfico de tamanho mínimo, médio e máximo das raízes de <i>A. cepa</i> ...	101
Figura 3.3	Gráfico Box Plot de Índice Mitótico (IM) do afluente e efluente em comparação com o controle positivo e controle negativo.....	102
Figura 3.4	Gráfico Box Plot de Índice de Alteração Cromossômica (IAC) do afluente e efluente em comparação com o controle positivo e controle negativo.....	103
Figura 3.5	Percentual das fases do ciclo celular nas células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> submetidas ao tratamento com as amostras de afluente, efluente, controle negativo e controle positivo.....	104
Figura 3.6	Resultados das alterações celulares encontradas na análise de células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i>	105

Figura 3.7	Alterações cromossômicas encontradas nas amostras de Afluente (A) e Efluente (E1, E2, E3).....	106
------------	---	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Características do efluente de cervejaria segundo a literatura.....	26
Tabela 1.2	Parâmetros e Métodos de Análises.....	28
Tabela 1.3	Distribuição do consumo de água na fabricação de cerveja.....	32
Tabela 1.4	Composição média de parâmetros de caracterização do efluente bruto de cervejas tipo APA e BAA.....	33
Tabela 1.5	Caracterização físico-química do efluente de microcervejaria.....	33
Tabela 2.1	Tratamentos utilizados em efluentes de cervejaria e eficiências obtidas, encontrados em literatura.....	47
Tabela 2.2	Estratégia de alimentação para o sistema em batelada.....	61
Tabela 2.3	Estratégia Operacional.....	64
Tabela 2.4	Parâmetros analíticos.....	65
Tabela 2.5	Resultados da concentração de DQO do afluente e efluente do reator, eficiência de remoção de DQO.....	66
Tabela 2.6	Resultado das concentrações de NTK, NH_4^+ , N-NO_2^- , N-NO_3^- do afluente e efluente do reator.....	71
Tabela 2.7	Eficiências de nitrificação, desnitrificação e remoção de NT.....	72
Tabela 2.8	Resultados de pH afluente (A) e efluente (E), com as respectivas concentrações de alcalinidade.....	76
Tabela 2.9	Resultados da concentração de sólidos totais, sólidos totais fixos e sólidos totais voláteis do afluente (A) e efluente (E) do reator.....	78
Tabela 2.10	Resultado da concentração de sólidos suspensos totais, sólidos suspensos fixos e sólidos suspensos voláteis do afluente (A) e efluente (E) do reator.....	79
Tabela 3.1	Parâmetros analíticos.....	98
Tabela 3.2	Resultados da caracterização físico-química das amostras de afluente e efluente do reator.....	99
Tabela 3.3	Determinação do potencial citotóxico, potencial genotóxico e potencial mutagênico no controle positivo e negativo e das amostras afluente e efluente do reator de leito estruturado com aeração intermitente.....	102
Tabela 3.4	Matriz de correlação de Pearson.....	106

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRACERVA	Associação Brasileira de Cerveja Artesanal
AI	Aeração Intermitente
AMBBR	<i>Anaerobic Moving bed biofilm reactor</i> (Reator Anaeróbio Biológico com Leito Móvel)
AnMBR	<i>Anaerobi cmembrane bioreactor</i> (Reator de membrana anaeróbia)
APA	American Pale Ale
BAA	Bernstein Amber Ale
BSBRRIA	<i>Batch Structured Bed Reactor with Recirculation and Intermittent Aeration</i> (Reator de Leito Estruturado em Batelada com Recirculação e Aeração Intermitente)
CEMA	Conselho Estadual de Meio Ambiente
CIP	<i>Cleaning in place</i>
C/N	Relação Carbono/Nitrogênio
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CP	Controle Positivo
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Efluente
IAC	Índice de Alteração Cromossômica
IC	Circulação Interna
IM	Índice Mitótico
IMT	Índice de Mutagenicidade
MBR	<i>Membrane Biological Reactor</i> (Reator Biológico com membrana)
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
NT	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
pH	Potencial Hidrogeniônico
PU	Poliuretano

RO	Osmose Reversa
RUC	Resíduo Úmido de Cervejaria
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i> (Reator em Batelada Sequencial)
SMMA	Secretaria Municipal de Meio Ambiente
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
TA	Tempo de aeração
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TRC	Tempo de Retenção Celular
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
OBJETIVOS.....	15
CAPÍTULO 1- PRODUÇÃO DE CERVEJA: HISTÓRIA, MERCADO, QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS.....	16
RESUMO.....	16
ABBSTRACT.....	16
1.1 INTRODUÇÃO.....	17
1.2 ASPECTOS HISTÓRICOS E MERCADOLÓGICOS.....	18
1.3 PROCESSO PRODUTIVO.....	21
1.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
1.4.1 Quantificação dos resíduos.....	27
1.4.2 Caracterização físico-química do efluente.....	28
1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
1.6 CONCLUSÃO.....	35
CAPÍTULO 2 - REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA CARBONÁCEA E NITROGENADA EM REATOR BIOLÓGICO COMPACTO DE FASE ÚNICA: UMA ALTERNATIVA PARA MICROCERVEJARIAS.....	41
2.1 INTRODUÇÃO.....	42
2.2 TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA.....	43
2.3 NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEAS.....	49
2.4 REATOR DE LEITO EMPACOTADO.....	57
2.5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
2.5.1 Substrato.....	58
2.5.2 Reator de leito empacotado.....	59
2.5.3 Material suporte para fixação e crescimento dos microrganismos.....	62
2.5.4 Inóculo.....	62
2.5.5 Estratégia operacional e análise estatística.....	63
2.5.6 Métodos analíticos.....	64
2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
2.6.1 Remoção de DQO.....	66
2.6.2 Remoção de nitrogênio.....	70
2.6.3 Alcalinidade e pH.....	75
2.6.4 Avaliação dos Sólidos Totais e Sólidos Suspensos.....	77
2.7 CONCLUSÃO.....	81
CAPÍTULO 3 - ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO DE EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA.....	89
3.1 INTRODUÇÃO.....	90
3.2 ECOTOXICIDADE EM EFLUENTES.....	91
3.2.1 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE COM <i>Allium cepa</i>	93
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	96
3.3.1 Amostras.....	96
3.3.2 Análise Ecotoxicológica com <i>Allium cepa</i>	96
3.3.3 Caracterização físico-química das amostras.....	97
3.3.4 Análise estatística.....	98

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
3.4.1 Caracterização físico-química das amostras.....	98
3.4.2 Ensaio Ecotoxicológico com <i>Allium cepa</i>	99
3.5 CONCLUSÃO.....	107
REFERÊNCIAS.....	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	112
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	113

INTRODUÇÃO

As atividades industriais podem provocar impactos ambientais, interferindo e alterando as características físicas, químicas e biológicas do ambiente e causando danos à sobrevivência dos seres vivos. O lançamento de efluentes indevidamente tratados em um corpo d'água, implica na sua poluição e na depleção da concentração do oxigênio dissolvido, prejudicando a vida aquática. A presença de compostos de nitrogênio em corpos d'água, além de causar eutrofização, também pode tornar as águas de abastecimento impróprias para consumo, uma vez que nitritos e nitratos são responsáveis por causar uma série de doenças, inclusive alguns tipos de câncer.

A fabricação da cerveja exige grande quantidade de água, que é utilizada como matéria-prima e, também, para a limpeza e higienização de equipamentos e instalações. É importante que o efluente gerado seja tratado adequadamente, para que possa voltar ao corpo d'água sem gerar danos ambientais. O efluente proveniente das indústrias de cerveja é caracterizado por conter elevada carga orgânica, expressa em DQO, na faixa de 2.000 a 6.000 mg L⁻¹, e presença de NTK na faixa de 25-80 mg L⁻¹ (EYVAZ, 2016). Grandes cervejarias costumam tratar seus efluentes por processos biológicos, cujos sistemas de tratamento utilizam configurações composta de dois a três reatores sequenciais que promovem a remoção da DQO e, também, parte do nitrogênio.

Empresas que possuem um menor volume de produção, como as microcervejarias, muitas vezes não possuem Estação de Tratamento de Efluentes (ETE), devido à falta de espaço e, também, de recursos. Assim, a alternativa é contratar uma empresa terceirizada para coleta do efluente ou, quando permitido, descartar na rede coletora de esgotos. O lançamento de efluentes de microcervejarias em redes coletoras de esgoto pode ocasionar uma sobrecarga no sistema pois o efluente possui alta concentração de DQO e NT, visto que o número desse tipo de empreendimento cresceu entre 2015 e 2019 uma taxa média de 36,4% a cada ano. A região Sul-Sudeste possui mais de 85% destes estabelecimentos, sendo o Paraná a 5ª região com maior número de microcervejarias, segundo o Anuário da Cerveja de 2020 disponibilizado pelo MAPA.

Pesquisas recentes utilizando esgoto sanitário têm mostrado ser possível a redução de nitrogênio total (NTK, nitrito e nitrato) e DQO em um único reator (JENZURA *et al.*, 2018; LEICK *et al.*, 2017; MOURA *et al.* 2018; WOSIACK *et al.*, 2015). Essa tecnologia é composta por um biorreator que emprega a aeração intermitente e biomassa imobilizada, podendo resultar em diminuição dos custos de implantação e operação de uma ETE, além de reduzir o espaço

para operação. A partir das características deste reator, a possibilidade de uso desta configuração para tratar o efluente de uma microcervejaria, que normalmente opera em batelada e muitas vezes não possui condições para instalar uma ETE em seu espaço, pode ser promissora.

Assim, com o objetivo de se compreender as etapas de geração de efluentes em cervejarias, características deste efluente e as possibilidades de tratamento, este estudo foi dividido em três capítulos. O Capítulo 1 faz uma abordagem a respeito da história e do mercado cervejeiro, do processo produtivo da cerveja, quantificação e caracterização do efluente de uma microcervejaria. O Capítulo 2 mostra os resultados da avaliação de um reator compacto para tratar efluente de microcervejaria, utilizando-se diferentes condições de operação e avaliando-se a eficiência da remoção de nitrogênio e DQO. No Capítulo 3 estão apresentados os resultados da avaliação da ecotoxicidade do efluente tratado no reator utilizando a *Allium cepa* (cebola). Verificou-se o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do efluente tratado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estabelecer parâmetros para o tratamento de efluente de uma microcervejaria, utilizando um único reator com biomassa imobilizada e aeração intermitente, para promover a remoção concomitante de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Apresentar os aspectos da produção de uma microcervejaria e as etapas de geração de efluentes;
- Caracterizar os efluentes gerados durante a produção da cerveja;
- Avaliar a influência de diferentes tempos de aeração total na eficiência de remoção de nitrogênio e DQO do efluente;
- Avaliar a influência de diferentes TDH na eficiência de remoção de nitrogênio e DQO do efluente;
- Avaliar a influência de diferentes relações DQO/NTK na eficiência de remoção de nitrogênio e DQO do efluente;
- Avaliar a ecotoxicidade do efluente tratado.

CAPÍTULO 1- PRODUÇÃO DE CERVEJA: HISTÓRIA, MERCADO, QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS

RESUMO

A cerveja é uma bebida muito apreciada pela humanidade desde a antiguidade, obtida pela fermentação do mosto cervejeiro por leveduras específicas. O mercado cervejeiro é exigente e competitivo, além de ser um setor relevante na economia brasileira, representando, segundo a CervBrasil, 1,6 % do PIB nacional. O Brasil ocupa a terceira posição no ranking dos produtores de cerveja, estando atrás apenas da China e dos EUA. Atualmente há destaque para cervejas artesanais, que possuem características diferenciadas quando comparada com as cervejas tradicionais. A indústria cervejeira, seja de grande ou pequeno porte, gera grandes quantidades de efluente que possuem alta carga orgânica e, por isso, devem ser tratados adequadamente antes de dispostos no meio ambiente. Neste trabalho foi realizado um levantamento do aspecto histórico, mercadológico e processo produtivo da cerveja, além do acompanhamento do processo produtivo em uma microcervejaria no município de Ponta Grossa-PR, com o objetivo de se quantificar e caracterizar os efluentes gerados na produção de dois tipos de cerveja, *American Pale Ale* e *Bernstein Amber Ale*. Constatou-se que a produção de cerveja envolve uma grande quantidade de água: cerca de 4,3 L de água para produzir 1 L de cerveja tipo *American Pale Ale* e 4,7 L de água para cada litro de cerveja tipo *Bernstein Amber Ale*. Cerca de 70% da água consumida se torna efluente, com valores de Demanda Química de Oxigênio acima de 4.000 mg L⁻¹ e de Nitrogênio Total Kjeldahl entre 25-80 mg L⁻¹, sendo necessário um correto tratamento antes de ser lançado ao meio ambiente.

Palavras-chave: meio-ambiente, águas residuárias, cervejaria, microcervejaria, tratamento biológico, efluente cervejeiro.

ABSTRACT

Beer is a beverage highly appreciated by humanity since antiquity, obtained by fermenting the brewing wort with specific yeasts, being a very demanding and competitive market, in addition to being one of the most relevant sectors in the Brazilian economy. Currently there is an emphasis on craft beers, which have a higher quality when compared to traditional beers, but there is an audience for both types of beer. The brewing industry, whether large or small, during the production process generates large amounts of effluent that have a high organic concentration and must be treated properly before being disposed of in the environment, avoiding its contamination. The production process was monitored in a microbrewery in the city of Ponta Grossa-PR to verify the quantity and characteristics of the effluents generated in the production of two types of beer, *American Pale Ale* and *Bernstein Amber Ale*. It can be concluded that in this process a large amount of water is used, in which 4.26L of water was spent to produce 1L of beer type *American Pale Ale* and of 4.7L of water to produce 1L of beer type *Bernstein Amber Ale*, and of this value in around 70% of the water used ending up becoming an effluent that is highly polluting, with COD values above 4,000 mgL⁻¹, requiring a correct treatment to reduce its polluting potential before being released into the environment.

Keywords: environment, wastewater, brewery, microbrewery, biological treatment, brewing effluent.

1.1 INTRODUÇÃO

A cerveja tem muitos fãs ao redor do mundo e é uma das bebidas alcoólicas mais consumida mundialmente. No Brasil são consumidos cerca de 13 bilhões de litros/ano. Não se sabe exatamente quando ocorreu o surgimento da cerveja, mas acredita-se que a descoberta foi por acaso, quando pães foram deixados em água, acabaram fermentando e deram origem às primeiras cervejas. Segundo uma pesquisa realizada em 2020 pela Barth Hass Group, nos anos de 2018/2019 o Brasil foi o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, ficando atrás somente da China e dos EUA (STEPHAN BARTH, 2020). Segundo legislação brasileira, a cerveja é definida como “bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada maltada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro” (BRASIL, 2019).

O que diferencia as microcervejarias das multinacionais do setor cervejeiro, além do volume de cerveja produzido e de algumas etapas do processo produtivo, como a filtração, é que na produção de cerveja artesanal são utilizados ingredientes diferenciados, produzindo cervejas com características próprias e sabores únicos. A produção de cerveja artesanal tem sido importante para a economia e globalização, pois a expansão deste mercado acaba refletindo em setores como turismo e gastronomia (SILVA; CLEMENTE; TRINDADE, 2019).

Segundo Anuário da Cerveja de 2020 (BRASIL, 2021), nos últimos 10 anos houve grande crescimento no número de cervejarias registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), alcançando, no final do ano de 2020, um total de 1383 cervejarias registradas, sendo a maioria presente na região sul e sudeste do Brasil (85,6%).

A fabricação de cerveja pode ser dividida em operações essenciais como moagem, mosturação, filtração, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e envase. Durante o processamento há a geração de efluentes em diversas etapas da produção, desde a limpeza dos equipamentos até o processamento da cerveja. De maneira geral, tem-se que para cada litro de cerveja produzida é gerado entre 3 e 10 L de efluente. Esse efluente é rico em matéria orgânica proveniente dos restos de cerveja e levedura, além de compostos presentes nos produtos de limpeza, desinfecção e antiespumantes. A composição química deste efluente pode variar de

acordo com o processamento e matéria prima utilizada. É possível encontrar efluentes de cervejaria com valores de DQO (Demanda Química de Oxigênio) entre 2.000 e 6.000 mg L⁻¹ e de NTK de 25 a 80 mg L⁻¹ (ESSLINGER, 2009; EYVAZ, 2016; PRIEST; STEWART, 2006).

O descarte em corpos d'água de efluentes sem nenhum tratamento, ou submetidos a tratamentos indevidos, pode causar poluição e eutrofização, levando ao crescimento excessivo de algas e esgotando o oxigênio que a vida aquática necessita. Além do efluente líquido, as cervejarias também geram um resíduo sólido na etapa de filtração, chamado de bagaço de malte (EYVAZ, 2016; PRIEST; STEWART, 2006; TORRES; HANSEN, 2019).

Diante do exposto, este capítulo abrange diversos aspectos relacionados à cerveja, desde o seu histórico, importância econômica do setor cervejeiro, as matérias-primas mais utilizadas, processo geral da produção e um estudo de caso sobre as etapas de geração de efluente em uma microcervejaria e as características do mesmo.

1.2 ASPECTOS HISTÓRICOS E MERCADOLÓGICOS

Consta na literatura que a cerveja surgiu há séculos, por acidente, na Mesopotâmia, atual região do Iraque. É aceita a teoria de que pães foram deixados em água, acontecendo um processo fermentativo e originando as primeiras cervejas, que era considerada uma bebida divina e sempre ofertada aos deuses (HAMPSON, 2014). Em uma matéria publicada pela Newsweek em 2018 (GEORGIU, 2018), historiadores encontraram evidências da produção de cerveja de 13 mil anos em uma caverna perto da cidade de Haifa, em Israel. Estas evidências indicam que esta cerveja era bem diferente do que é produzida atualmente, assemelhando-se a um mingau.

No início a fabricação era bem rudimentar, sendo realizada uma moagem grosseira da cevada germinada, que posteriormente era molhada e adicionada de levedura. Após este processo, esta massa era quebrada e colocada em jarras com água para fermentar. A cerveja foi difundida junto com o cultivo de outros cereais pelos sumérios, babilônios e egípcios. Há relatos que no século XIII o lúpulo foi utilizado pela primeira vez na produção da cerveja, dando a esta bebida características básicas da bebida atual (CERVBRASIL, 2016; HAMPSON, 2014; MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

Na Idade Média a cerveja era vista como uma bebida para classes inferiores da sociedade e, nesta época, era responsabilidade das mulheres a sua produção caseira. A cerveja era uma opção de bebida alcoólica mais viável que o vinho, que era caro e de difícil acesso aos mais pobres. Mesmo assim, ainda havia a distinção das cervejas consumidas entre as classes sociais.

Cervejas mais aguadas eram destinadas às classes mais pobres e cervejas aromatizadas com especiarias e frutas eram destinadas às mais ricas. Devido à alta taxa de mortalidade causada pelas diversas doenças transmitidas pela água, a cerveja começou a ser muito consumida, pois além de ser uma opção mais segura para consumo, devido ao processamento térmico, também era nutritiva, sendo até considerada um alimento e fazendo parte do cotidiano das pessoas (GIORGI; JÚNIOR, 2016; SILVA; CLEMENTE; TRINDADE, 2019; SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

A igreja católica teve grande importância no aperfeiçoamento desta bebida, que era produzida em mosteiros. Com o objetivo de melhorar o aspecto sensorial e nutritivo da bebida, os monges variavam técnicas e ingredientes para conseguir diferentes tipos de cervejas (HAMPSON, 2014; SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

Muitas mudanças aconteceram na Europa durante a Revolução Industrial, com o setor cervejeiro não foi diferente. Com a invenção das máquinas a vapor e com o conhecimento dos princípios de refrigeração e pasteurização, foi possível modernizar a fabricação da cerveja, permitindo uma melhor padronização do produto e melhorando sua qualidade (CARLOS; HERMÓGENES, 2020).

Há relatos que a primeira cerveja foi trazida para o Brasil pelos holandeses no século XVII, porém a cultura cervejeira acabou não sendo consolidada devido à expulsão dos holandeses (GIORGI, 2015). Foi somente no século XIX, com os imigrantes europeus, que a cerveja começou a ser produzida novamente, mas em pequena escala e caráter artesanal, voltada para consumo familiar, pois ainda havia muita dificuldade na sua produção devido a falta de acesso a matéria-prima. Não se sabe com precisão quando a produção de cerveja teve início no Brasil, porém em 1836 há o registro de um documento, que é um anúncio no jornal do Comércio do Rio de Janeiro, sobre venda de cerveja brasileira (GIORGI, 2015; SILVA; CLEMENTE; TRINDADE, 2019). A partir de 1860, com o aumento de impostos que acabou dificultando a importação da bebida, há um crescimento na produção de cerveja no Brasil e empresas como a Companhia Cervejaria Brahma[®] e a Antarctica Paulista[®] surgem anos depois (SILVA; CLEMENTE; TRINDADE, 2019). Devido à Primeira Guerra Mundial, a obtenção de malte e lúpulo se tornou difícil, e a opção encontrada pelos cervejeiros locais foi de utilizar milho, arroz e trigo (SILVA; LEITE; PAULA, 2016). No século XX estas cervejarias acabaram abrindo filiais pelo país, controlando o mercado cervejeiro e, em 1999, surge a AMBEV[®], uma fusão entre a Brahma e Antarctica. De acordo com dados recentes, a AMBEV possui operações em 16 países, além de 30 cervejarias, maltarias, refrigeranteiras, fábrica de rótulos, rolha e vidro espalhados pelo Brasil (AMBEV, 2020).

A partir da década de 1990 ocorreu uma mudança no mercado cervejeiro nacional, devido à influência de um fenômeno chamado "renascimento cervejeiro", observado nos EUA e na Europa. Houve um crescimento na produção e no consumo de cervejas artesanais, principalmente a partir de 2010, com pessoas que buscam nesta bebida um sabor diferenciado, se comparada a aquelas comercializadas em grande escala (AQUILANI *et al.*, 2015; GIORGI, 2015). No Brasil, o setor de cervejas artesanais cresce em torno de 35% ao ano. Este crescimento ocorre devido ao seu potencial de negócio, hobby ou curiosidade pela produção. Além disso, há uma grande quantidade de festivais, cursos, concursos e eventos que envolvem este setor, mudando os hábitos de consumo e criando a “cultura cervejeira” (ou “cultura *craftbeer*”) (AQUILANI *et al.*, 2015; MARTINS; PANDOLFI; COIMBRA, 2018; RAMOS, PANDOLFI, 2019; ROTOLO, 2019; SEBRAE, 2016).

O público-alvo deste mercado não se importa em investir mais, pois ele busca uma experiência e, por isso, ainda é uma minoria da população brasileira que possui acesso a este tipo de bebida (CARVALHO; ROSA, 2015; RAMOS, PANDOLFI, 2019). Segundo o mestre cervejeiro Garrett Oliver, é importante levar a cerveja à condição de alimento e, com criatividade e técnica, é possível alcançar diferentes sabores, texturas e cores, identificando uma cerveja artesanal. Há diversas diferenças entre microcervejarias e indústrias gigantes no setor, desde imposto pago até a qualidade da matéria-prima utilizada, que acabam influenciando na qualidade e no preço final do produto (AQUILANI *et al.*, 2015; FERREIRA *et al.*, 2018; GIORGI, 2015).

As três líderes na produção de cerveja do mercado brasileiro são AMBEV, Heineken e Petrópolis, responsáveis por 5% de toda produção brasileira em 2017 (ALVARENGA, 2018; LAPOLLI, 2019; MAPA, 2018). Este é um setor que sempre está lançando tendências no mercado, como o caso dos *brewpubs*, cervejas de nicho (Cervejas de guarda, ácidas, de fermentação espontânea ou com madeiras e frutas) e o Turismo Cervejeiro. Mesmo em constante crescimento, existem diversos desafios no setor segundo a ABRACERVA, como as condições macroeconômicas, tributação e concorrência com outras bebidas (LAPOLLI, 2019; MARCUSSO; MULLER, 2018).

As multinacionais produzem anualmente bilhões de litros de cerveja, no qual muitas utilizam também adjuntos de grãos de milho e arroz, por exemplo, no lugar da cevada, afetando características como sabor e corpo da cerveja. Segundo Gunes *et al.* (2019), em países como Irlanda e Reino Unido é considerado uma microcervejaria ou cervejarias artesanais, aquelas que possuem uma produção inferior a 1760m³/ano. No município de Ponta Grossa há a Lei ^o 13.504, de 10/08/2019, que considera como micro cervejarias apenas as unidades de fabricação

artesanal de cervejas e chopes, que estejam enquadradas no Simples Nacional (Supersimples) (PONTA GROSSA, 2019). Esta diferença na produção afeta o valor final do produto e direciona a bebida para um público específico, de maior poder aquisitivo (ALVIM *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2018; GIORGI, 2015; SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

1.3 PROCESSO PRODUTIVO

Os insumos utilizados na produção da cerveja variam em função do estilo da cerveja a ser produzida, mas em geral são utilizados malte, lúpulo e água (ESSLINGER, 2009; HORN *et al.*, 2020; ROSA; AFONSO, 2015; TORRES; HANSEN, 2019). A qualidade da água é muito importante para a produção de uma boa cerveja, pois ela é utilizada em grandes quantidades no processo produtivo, constituindo mais de 90% da cerveja, devendo ser potável, sem sabor ou odor, isenta de microrganismos, partículas em suspensão e outros componentes indesejáveis. Cada tipo de cerveja é produzido com uma água específica, por exemplo, a água dura é indicada para cervejas escuras e já água mole para cervejas tipo Pilsen. A dureza da água está relacionada a quantidade de minerais dissolvidos nela, como bicarbonatos, carbonatos, sulfatos ou cloretos de cálcio e magnésio. Quanto maior a quantidade destes sais dissolvidos, maior a dureza da água. Por isso devem ser realizados tratamentos físico-químicos na água para obtê-la com as características desejáveis, principalmente com relação ao teor de sais minerais e pH. Além de fazer parte da composição da cerveja, a água é fundamental em outros processos da cervejaria, como na higienização dos equipamentos e instalações e no processo de resfriamento do mosto (ASSIS *et al.*, 2021; CAVALCANTI; SILVA; FONTGALLAND, 2021; ESSLINGER, 2009; PALMER, 2006; ROSA; AFONSO, 2015).

O malte é fundamental no processo de fabricação de cerveja e normalmente é proveniente da cevada, uma gramínea nativa de climas temperados. Além da cevada existem outros cereais que são aptos a passar por este processo de malteação, como centeio, trigo e aveia. É permitido também utilizar adjuntos no processo de fabricação da cerveja, como milho e arroz, que, além de ser fonte alternativa de amido, tem a vantagem de serem mais baratos que o malte. No processo de malteação, os grãos de cevada são colhidos e encaminhados para a maltaria, local no qual passa por um processo de germinação controlada que induz a ativação enzimática, principalmente das amilases, que são responsáveis pela clivagem das ligações glicosídicas que formam o amido. Após a malteação os grãos são submetidos ao processo de secagem e torrefação (ESSLINGER, 2009; PALMER, 2006; PRESTES *et al.*, 2019; TSCHOEKE *et al.*, 2019).

A moagem do malte é feita em moinho de rolo, no qual ocorre um corte na casca do grão, ocasionando exposição do conteúdo amiláceo e diminuição do tamanho do grânulo de amido, facilitando a hidrólise do mesmo para a etapa posterior. Deve-se atentar ao grau de moagem do malte. Em microcervejarias a moagem não pode ser muito fina, pois atrapalha o processo de filtração do mosto, nem muito grossa, pois pode acabar expondo muito pouco a parte amilácea, o que dificulta o processo de hidrólise (PALMER, 2006; PICCINI; MORESCO; MUNHOS, 2002; TSCHOEKE *et al.*, 2019). Outro ponto importante a se destacar é que a coloração da cerveja depende do tipo de malte que vai ser utilizado na produção. Para interromper o processo de germinação e tornar o grão estável, os maltes passam por secagem, e reações de Maillard e de caramelização ocorrem nos grãos dependendo das temperaturas utilizadas. Dependendo de como este processo é realizado, diferentes características de cor dos maltes são obtidas. Maltes escuros são usados para cervejas escuras e maltes mais claros para as mais claras. A cor do malte, além de influenciar na coloração, também influencia na turbidez e formação da espuma da cerveja (ESSLINGER, 2009).

Após a moagem o malte é adicionado a um tanque e misturado com água potável para realização da mosturação, onde a mistura passa por um processo de cozimento e os açúcares fermentescíveis são extraídos. Nesta etapa podem ser adicionados adjuntos cervejeiros, como milho e trigo, que são fontes alternativas para repor ou compensar alguma proporção do malte, fornecendo açúcares fermentescíveis, e, dependendo do adjunto utilizado, pode baratear o custo de produção. As amilases presentes no malte são liberadas no meio aquoso e promovem a hidrólise do amido, transformando-o em açúcares fermentescíveis, como glicose e maltose, além das dextrinas, que não é fermentescível. Além das amilases, são encontradas também proteases, que transformam as proteínas em aminoácidos e peptídeos, que serão nutrientes utilizados posteriormente pelas leveduras. As proteínas que acabam não sendo quebradas contribuem para dar estabilidade para a espuma (ASSIS *et al.*, 2021; DABIJA *et al.*, 2021; ESSLINGER, 2009; PRIEST; STEWART, 2006; TSCHOEKE *et al.*, 2019). Neste processo, o controle da temperatura é fundamental para que aconteçam reações químicas e enzimáticas para se obter um mosto com composição adequada ao tipo de cerveja que será produzida. Há a conversão do amido presente no malte em substâncias digeríveis pelas leveduras e ocorre a inativação de enzimas que podem extrair substâncias não desejáveis no produto final (PALMER, 2006; TSCHOEKE *et al.*, 2019).

O mosto pronto deve, então, passar pelo processo de filtração para remoção da parte sólida, que são partes insolúveis como restos do grão e cascas, chamada de bagaço de malte. A

filtração pode ser feita por gravidade ou, no caso de grandes cervejarias, por filtros prensa (PICCINI; MORESCO; MUNHOS, 2002; SANTOS; RIBEIRO, 2005).

O mosto cervejeiro filtrado segue para a etapa de fervura, onde ocorre a concentração do líquido devido a perdas por evaporação. Esta etapa dura em torno de 60 a 90 min. O lúpulo é adicionado na tina de fervura. Além de dar amargor e aroma para a cerveja, é um agente de conservação devido aos compostos antioxidantes presentes em sua composição química, como os β ácidos (ESSLINGER, 2009; OBERHOLSTER; TITUS, 2016; SCHUINA *et al.*, 2020). Nesta etapa, além do lúpulo, é possível adicionar outros ingredientes que podem dar características exclusivas para a cerveja, como mel e frutas. Para que o mosto fique estabilizado, temperaturas em torno de 100 °C são atingidas para inativação das amilases, proteases e microrganismos, além da eliminação de compostos voláteis indesejáveis, como os sulfurosos, proteínas, resinas e taninos e caramelização de alguns açúcares (OBERHOLSTER; TITUS, 2016; SANTOS; RIBEIRO, 2005).

Após a fervura devem-se separar os precipitados proteicos e outros componentes que não solubilizaram, gerando o trub grosso. Em geral, é gerado cerca de 0,2 a 0,4kg de trub grosso a cada hectolitro de cerveja produzido, que pode ser separado do líquido por decantação ou filtração (BRUST, 2015; PRIEST; STEWART, 2006).

Depois de filtrado o mosto é resfriado em trocadores de calor a placas e enviado para a etapa de fermentação (SANTOS; RIBEIRO, 2005; PRIEST; STEWART, 2006). No tanque de fermentação será adicionada a levedura selecionada para o tipo de cerveja que será produzida. O processo de fermentação tem como função a transformação dos açúcares fermentescíveis em álcool e dióxido de carbono, além de alguns ésteres, ácidos e álcoois superiores, que transmitirão propriedades sensoriais à cerveja, contribuindo para o sabor, aroma e carbonatação da bebida (ESSLINGER, 2009; IORIZZO *et al.*, 2021; TOZETTO *et al.*, 2019). A levedura mais utilizada é a *Saccharomyces* sp., podendo ser dividida em leveduras de alta e baixa fermentação. As primeiras agem em temperaturas entre 12 e 26 °C, as segundas entre 8 e 11 °C. A temperatura deve ser controlada para que a levedura tenha seu melhor desempenho. Neste processo a massa celular de levedura aumenta de três a seis vezes (IORIZZO *et al.*, 2021; PALMER, 2006).

Ao final da fermentação as leveduras são separadas por decantação, depositando-se no fundo do tanque. Nesta etapa é gerado em torno de 1,5 a 4kg de material decantado para cada 100 L de cerveja produzida. Esse material é um resíduo composto por leveduras e cerveja com concentrações variadas de álcool. Em seguida, o líquido é encaminhado para a maturação, onde a temperatura é mantida entre 0°C e 3°C para ocorrer o processo de maturação da cerveja,

estabilizando compostos de sabor e aroma, além de auxiliar na clarificação da mesma, devido à precipitação de leveduras e proteínas (COSTA *et al.*, 2020; HORN *et al.*, 2020; PRIEST; STEWART, 2006).

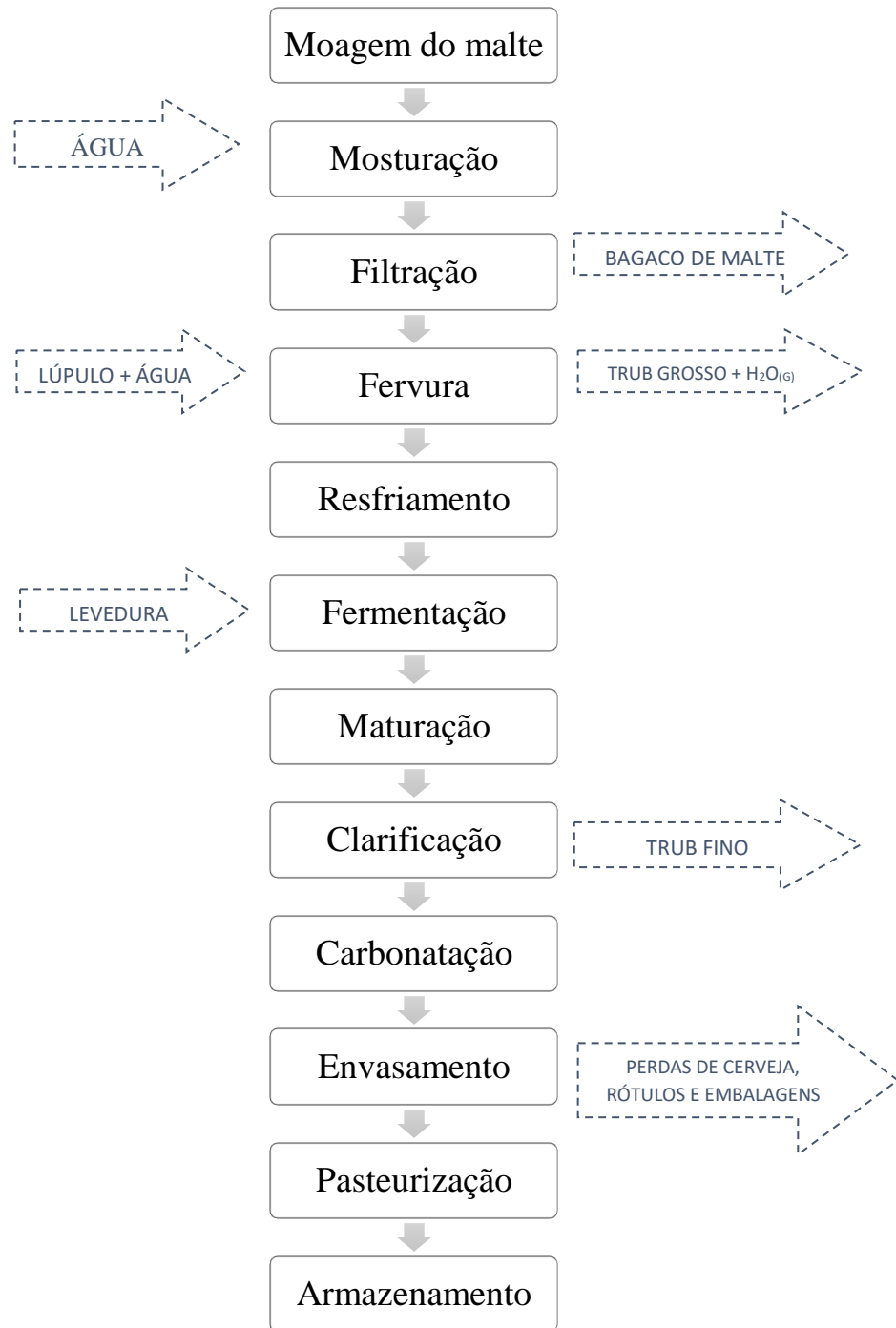
A levedura decantada ainda pode ser utilizada por algumas vezes para fermentação antes de ser descartada (BAIANO, 2020; PICCINI; MORESCO; MUNHOS, 2002). Normalmente ocorre a correção do gás carbônico através da carbonatação, realizado por contrapressão no mesmo tanque de maturação (ŠTULÍKOVÁ *et al.*, 2020). Deve-se ter cuidado para evitar a presença de oxigênio no meio, para que não ocorra a oxidação da cerveja.

Antes de ser envasada, a cerveja pode passar por clarificação por filtros de terra diatomácea para remoção de partículas em suspensão, chamado de *trub* fino. Após esta etapa a cerveja fica transparente e brilhante, pronta para seguir para o envasamento, seja em barris, latas ou em garrafas. Após a filtração pode ser realizada a carbonatação para garantir as necessidades do produto (ROSA; AFONSO, 2015).

Para ter uma maior durabilidade a cerveja pode ser pasteurizada após a carbonatação, um processo que consiste no aumento da temperatura da cerveja para 72°C por poucos segundos e, em seguida, um rápido resfriamento, eliminando microrganismos indesejáveis que alterariam as características sensoriais da cerveja (CIMINI; MORESI, 2018). A cerveja que não passa por pasteurização é denominada de chope no Brasil, sendo necessária sua refrigeração, além de ter uma vida útil menor quando comparada com a cerveja pasteurizada (PRIEST; STEWART, 2006; ROSA; AFONSO, 2015).

Ao finalizar todo o processo, a cerveja segue para armazenamento e expedição, pronta para ser comercializada (HORN *et al.*, 2020). Na Figura 1.1 está o fluxograma com as etapas do processo da produção de cerveja com as respectivas indicações de entradas de matéria-prima e insumos e saídas do produto e resíduos gerados.

Figura 1.1 Fluxograma do processo geral de produção da cerveja



Fonte: Autor.

Como visto no fluxograma da Figura 1.1, na produção da cerveja é inevitável a geração de resíduos e efluentes, que são gerados em diversas etapas, desde o processamento até a limpeza dos equipamentos (BAIANO, 2020).

Os processos de higienização e sanitização são essenciais para remoção de sujidades, microrganismos e outros contaminantes e devem ser realizados em todas as superfícies do

processo produtivo, como equipamentos, utensílios e pisos. A limpeza interna dos equipamentos pode ser realizada manualmente, de forma semiautomática ou automática pelo processo *Cleaning In Place* (CIP) (DąBROWSKI; KAROLINCZAK, 2019; MILBURN; GUERTIN-MARTÍN, 2019). Em geral realiza-se um pré-enxágue, circulação de detergente alcalino, enxágue, circulação ácida e enxágue. Para evitar a formação de biofilmes é recomendada utilização de agentes oxidantes como ácido peracético, cloro ou peróxido de hidrogênio (MILBURN; GUERTIN-MARTÍN, 2019; PIMENTA *et al.*, 2020).

Além do bagaço de malte, *trub* grosso e fino, resíduos sólidos gerados nas etapas de filtração e clarificação, há a geração de efluentes líquidos. Os principais componentes deste efluente são os restos de cerveja, restos do *trub* grosso e fino, produtos de limpeza e sanitização, restos de leveduras e o próprio esgoto sanitário da indústria. Na Tabela 1.1 encontram-se as características para este tipo de efluente (BRIGGS *et al.*, 2004; EYVAZ, 2016; SERENO FILHO *et al.*, 2013; TORRES; HANSEN, 2019).

Tabela 1.1 Características de efluente de cervejaria segundo a literatura.

Autor	Parâmetros					
	Demanda Química de Oxigênio (mg L ⁻¹)	Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	Nitrogênio Total Kjeldahl (mg L ⁻¹)	Nitrogênio Amoniacal (mg L ⁻¹)	Temperatura (°C)	pH
Eyvaz (2016)	2000-6000	200 -1000	25-80	-	18-40	3-12
Bakare, Shabangu e Chetty (2017)	2280 – 10210	200- 563.8	-	0.84 – 15,31	-	5-11
Sigh <i>et al.</i> (2019)	2917	-	-	31,04	-	-
Papadopoulos <i>et al.</i> (2020)	1420	420	84	5,2	-	7,7
Espinoza-Quinones <i>et al.</i> (2021)	6900	-	88	14	-	4,84

Observa-se na Tabela 1.1 que há uma grande variação das características nos efluentes de cervejaria. Estes parâmetros dependem da natureza e quantidade das matérias-primas utilizadas, do tipo de cerveja produzido, processos realizados, dos tipos de produtos utilizados na higienização e, principalmente, da quantidade de água utilizada nas etapas de higienização (BRIGGS *et al.*, 2004; PRIEST; STEWART, 2006).

Desta forma, além de uma revisão sobre os aspectos históricos, mercadológicos e do processo produtivo da cerveja, este capítulo ainda visa avaliar a produção de dois tipos de

cerveja em uma microcervejaria, com foco na identificação das etapas que há geração de efluentes, além da caracterização dos mesmos.

1.4 MATERIAIS E MÉTODOS

1.4.1 Quantificação dos resíduos

Para quantificar a geração de resíduos gerados no processo de fabricação de cerveja artesanal, foi realizado o acompanhamento do processo produtivo da fabricação de cerveja em uma microcervejaria localizada no município de Ponta Grossa, Paraná. Esta microcervejaria possui um terreno de aproximadamente 1200 m², com área construída de 900 m². A microcervejaria conta com uma produção de mais de 30 estilos diferentes de cervejas e no local, além da fábrica, também funciona um bar aberto ao público. A empresa tem uma produção mensal de cerca de 20 mil litros de cerveja, todas produzidas em batelada conforme demanda do mercado.

Durante esta primeira etapa, foi realizada *in loco* a quantificação dos resíduos gerados no processo produtivo com coleta de amostras dos efluentes para posterior a caracterização físico-química.

Os efluentes foram coletados manualmente nas etapas de filtração, fervura e maturação, transportados em galões de polipropileno de 5L e armazenados sob refrigeração no Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA) do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus Uvaranas. As amostras foram mantidas refrigeradas a 6°C por 15 h até a realização das análises de caracterização. A caracterização foi realizada no efluente bruto, ou seja, efluente que saiu direto dos equipamentos da microcervejaria, e no efluente diluído. O efluente foi diluído baseado na quantidade de água utilizada durante o processo produtivo e de higienização. Nesta diluição não foram incluídos produtos de higienização.

Para quantificação dos resíduos gerados foram utilizadas balanças para quantificar resíduo sólido e balde graduado para medição dos efluentes líquidos. Além disso, verificou-se o medidor de volume de água (hidrômetro) da empresa antes de iniciar o processo produtivo e ao final do mesmo. Desta forma, através da leitura do hidrômetro, foi possível quantificar o volume de água gasto na produção da cerveja, higienização de equipamentos e instalações e dos sanitários.

1.4.2 Caracterização físico-química do efluente

Os parâmetros analisados para caracterização do efluente foram pH, Sólidos Totais (ST), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) e Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄). As análises foram determinadas segundo métodos especificados na Tabela 1.2, todos do APHA (1998).

Tabela 1.2 Parâmetros e Métodos de Análises

Parâmetro	Unidade	Método
pH	-	Potenciométrico - APHA (4500h + B)
ST e SST	mgL ⁻¹	Gravimétrico - APHA (2540 G)
DQO	mgL ⁻¹	Colorimétrico - APHA (5220D)
NTK	mgL ⁻¹	Micro Kjeldahl - APHA (4500 Norg C)
N-NH ₄	mgL ⁻¹	Titulométrico - APHA (4500 NH ₃ C)

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após medição das quantidades de resíduos gerados, foi realizado o balanço hídrico e mássico do processamento de dois tipos de cervejas. Os resultados estão apresentados nas Figuras 1.2 e 1.3.

Figura 1.2 Fluxograma da produção da cerveja *American Pale Ale* (APA): balanço de massa, identificação e quantificação dos resíduos gerados no processo.

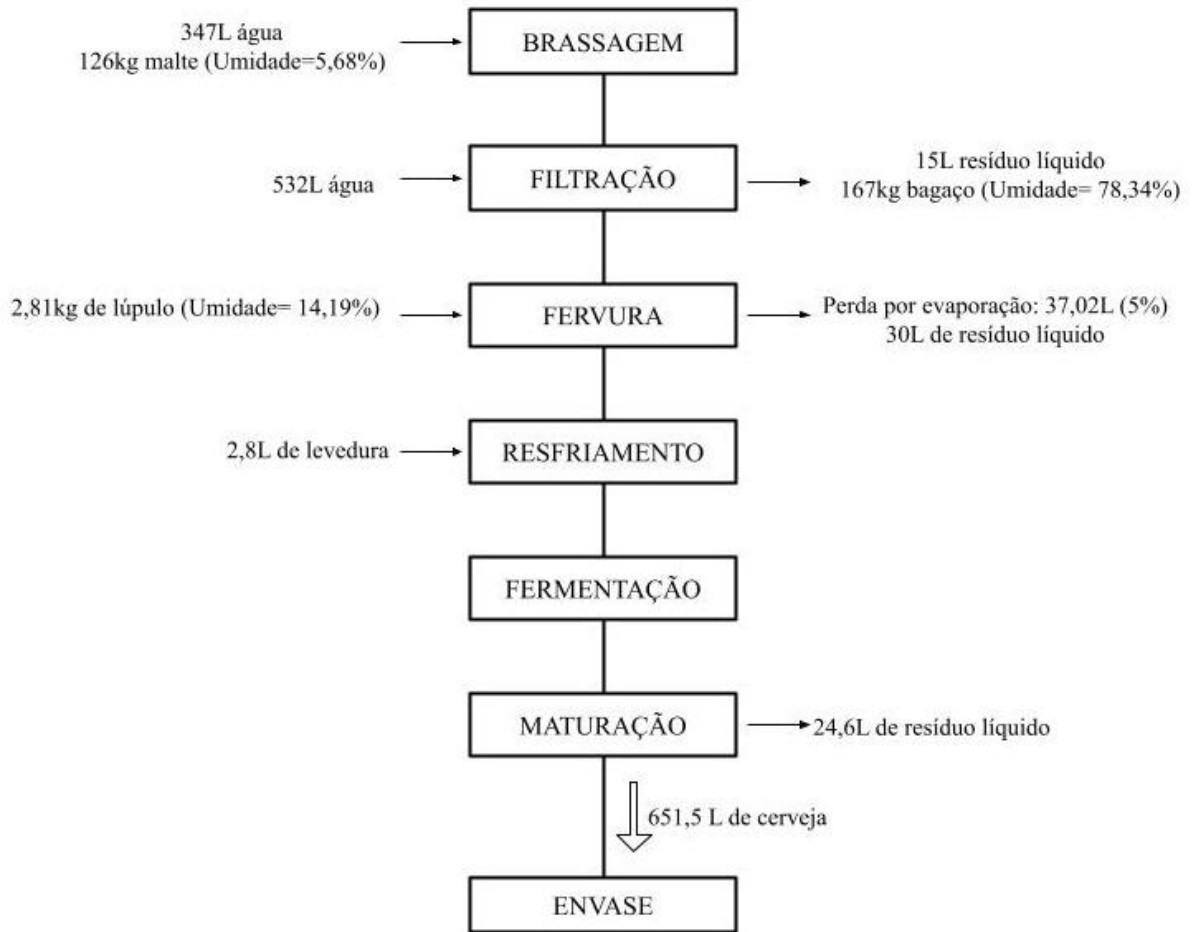
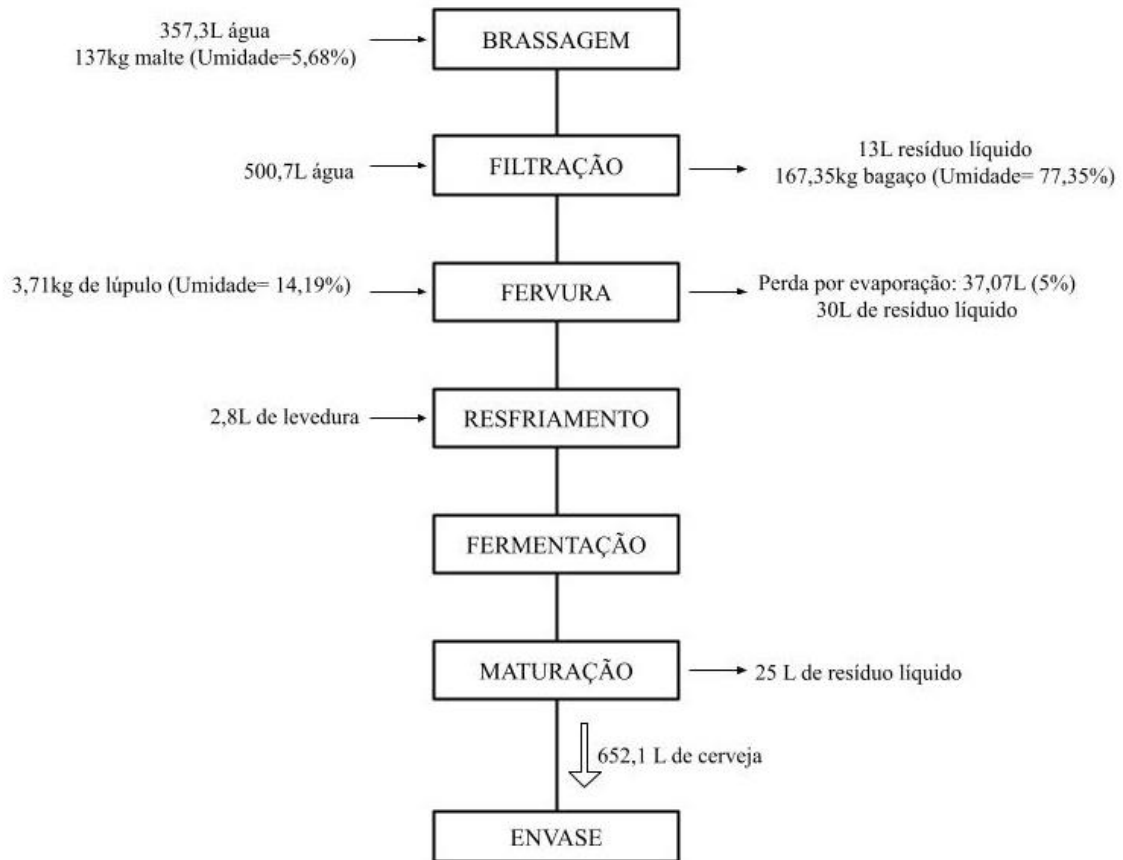


Figura 1.3 Fluxograma da produção da cerveja *Bernstein Amber Ale* (BAA): balanço de massa, identificação e quantificação dos resíduos gerados no processo.



Sabe-se que a água é o ingrediente principal na produção de cerveja, constituindo cerca de 90 a 95% da sua composição. Durante o processo de produção de cerveja, a água é adicionada em duas etapas: na mosturação (chamada de água primária) e depois na lavagem do bagaço no processo de filtração (chamada de água secundária) (CAVALCANTI; SILVA; FONTGALLAND, 2021; LARA, 2018; PRIEST; STEWART, 2006).

Na brassagem da cerveja tipo APA foram adicionados cerca de 2,75 L de água para cada quilo de malte, totalizando 347L de água adicionados nesta etapa. Foram utilizados 4 tipos de maltes característicos para este tipo de cerveja. Para a cerveja tipo BAA, foram adicionados 2,60 L de água para cada quilo de malte adicionado, totalizando 357,3L de água. Foram adicionados 6 tipos de maltes em diferentes proporções, característicos para este tipo de bebida. Estes valores estão de acordo com a literatura, que cita que os valores devem se situar entre 2 e 3,5 L kg⁻¹ de malte. Acima de 3,5 L kg⁻¹ a conversão do amido em açúcares solúveis pode ser prejudicada pois as enzimas ficam dispersas na água, afetando negativamente na eficiência do processo, já se ficar abaixo de 2 L kg⁻¹ há uma concentração do mosto, afetando a conversão do

amido e na característica que os grãos proporcionam para a cerveja (AZEVEDO; SOUZA, 2021). Durante a brassagem não foi gerado resíduo e a mistura foi transferida para a filtração.

Na etapa de filtração ocorre a separação entre malte e mosto. Na produção da cerveja tipo APA foram adicionados 532 L de água durante a filtração, ou seja, 4,22 L de água por quilo de malte. Já para a cerveja tipo BAA foram adicionados 500,7L de água, ou seja, 3,65 L de água por quilo de malte. A literatura cita que o valor desta água secundária deve ser equivalente a 1,5 L da água primária, o que foi um valor muito próximo obtido em ambos os processos, já que este valor pode variar conforme a cerveja produzida. Um valor acima de 1,5 L pode reduzir a densidade do mosto (AZEVEDO; SOUZA, 2021; LARA, 2018). A água adicionada ajuda na extração de açúcares e proteínas ainda retidos no malte, aumentando o volume final (ASSIS *et al.*, 2021; PIMENTA *et al.*, 2020).

O malte retido na filtração é chamado de bagaço ou resíduo úmido de cervejaria (RUC), sendo um material com alto teor de umidade e rico em proteínas e fibras (BAIANO, 2020). Nesta cervejaria este material é doado para um produtor de suínos, pois atendem às exigências nutricionais desses animais. A quantidade de bagaço gerado na produção da cerveja tipo APA foi de 167 kg com umidade de 78,34 %, ou seja, havia retido no bagaço 123,67 L de água. Na produção da cerveja tipo BAA foi gerado 167,35 kg de bagaço com umidade de 77,35 %, ficando retido 121,67 L de água, no qual o restante do peso é do malte que não foi dissolvido no mosto. No processo de filtração da cerveja tipo APA foram gerados cerca de 15 L de resíduo líquido. Na produção da cerveja tipo BAA foram gerados 13 L de resíduo líquido, rico em matéria orgânica carbonácea e nitrogenada.

Depois de filtrado o mosto foi transferido para a dorna de fervura. Na produção da cerveja tipo APA foram adicionados 2,81 kg de lúpulo e na cerveja tipo BAA foram adicionados 3,71 kg de lúpulo, com umidade de 14,19 %. Durante o processo de fervura, a literatura cita que existe uma perda de água por evaporação de 4 a 10 % (BRIGGS *et al.*, 2004). Nesta cervejaria a perda foi de, aproximadamente, 5 %. Após resfriado o mosto foi transferido para a dorna de fermentação e, ao final desta etapa, foi gerado cerca de 30L de resíduo líquido. Este resíduo líquido ficou no fundo da dorna de fervura em ambas as produções de cerveja, sendo posteriormente descartado no ralo da indústria.

O volume total de água total adicionado para produção de cerveja tipo APA foi de 879L e, considerando as perdas durante o processo, sobraram cerca de 673 L de mosto. Este volume foi transferido para a etapa de fermentação, no qual foram adicionados 2,8L de uma suspensão de levedura cervejeira com uma concentração de aproximadamente 100 bilhões de células viáveis por 50ml, que é retirada no final do processo de fermentação e reutilizada, em média,

de 3 a 4 vezes pela indústria. Nesta etapa ocorre um aumento da massa da levedura de até 5 vezes (BRIGGS *et al.*, 2004). Após a fermentação o produto passa pelo processo de maturação, e, então, é envasado.

Já para a produção de cerveja tipo BAA, foram adicionados no total 858 L de água, gerando cerca de 674 L de mosto que seguiu para a dorna de fermentação, no qual foram adicionadas 2,8 L de levedura em suspensão. Após a fermentação, o produto é maturado e envasado.

Ao longo de todo o processo uma grande quantidade de água é requerida, tanto para a fabricação da cerveja, como ingrediente, quanto para uso nos processos de lavagem e limpeza de pisos e equipamentos (MILBURN; GUERTIN-MARTÍN, 2019). A água utilizada na empresa vem de dois locais: de uma caixa d'água que armazena a água distribuída pela rede municipal e a água que vem direto da rua. A água armazenada na caixa passa por um filtro de carvão ativado e é usada na produção de cerveja. Neste caso, foram 879 L para cerveja tipo APA e 858 L para cerveja tipo BAA. A água vinda diretamente da rede de distribuição é utilizada para limpeza de pisos e equipamentos, sem passar por filtração. A partir da medição realizada no hidrômetro, para quantificar o volume de água utilizada no processo de limpeza e higienização de pisos e equipamentos, foram obtidos valores de 1.900 L para a produção da cerveja tipo APA e 2.000 L para a produção da cerveja tipo BAA. Somando estes valores com o volume de água utilizada como matéria-prima da cerveja, tem-se que o volume total de água utilizada na produção de cerveja tipo APA foram de 2.779 L e para a produção de cerveja tipo BAA foram de 2.858 L de água. Desta maneira, foram necessários 4,26 L de água para produzir 1 L de cerveja tipo APA e 4,57 L de água para produzir 1 L de cerveja tipo BAA (Tabela 1.3). Estes valores estão de acordo com os valores encontrados em literatura, na faixa de 3 a 10 L (BAIANO, 2020; SIMATE *et al.*, 2011).

Tabela 1.3 Distribuição do consumo de água na fabricação de cerveja.

Tipo de cerveja	Total de água utilizada para produzir 1 L de cerveja (L)	Uso da água (%)			
		Cerveja	Evaporação	Bagaço	Efluente
APA	4,26	23,5	1,4	4,5	70,6
BAA	4,70	22,7	1,1	4,2	72,0

Analisando-se a Tabela 1.3 é possível observar que a maior parte da água utilizada resulta em efluente, gerado durante o processo de produção, limpeza e sanitização. Essa relação se manteve a mesma nos dois tipos de cerveja produzida.

A partir do balanço de massa, foi verificado que os efluentes que saem diretamente dos equipamentos das etapas de filtração, fervura e maturação, chamados de efluentes brutos, representam em torno de 2,5 % dos efluentes totais, tanto para cerveja APA quanto para cerveja BAA. Mesmo representando uma porcentagem pequena, o efluente bruto é responsável pela alta concentração de DQO e NTK do efluente final (Tabela 1.4). Após os processos de limpeza e higienização, os quais utilizam uma grande quantidade de água, este efluente bruto é diluído, o que facilita seu tratamento posteriormente.

Tabela 1.4 Composição média de parâmetros de caracterização do efluente bruto de cervejas tipo APA e BAA.

Parâmetros	Efluente bruto
DQO (mg L ⁻¹)	102378
pH	4,7
NTK (mg L ⁻¹)	1000
N-NH ₄ (mg L ⁻¹)	46
ST (g L ⁻¹)	38
STV (g L ⁻¹)	29

A Tabela 1.5 apresenta o resultado da caracterização físico-química do efluente brutogerado na produção das cervejas *American Pale Ale* (APA) e *Bernstein Amber Ale* (BAA) após a diluição conforme a quantidade de água utilizada no processo produtivo. Este efluente diluído representa o efluente final, que seria a mistura dos efluentes gerados em processo com os gerados nas etapas de higiene e sanitização da empresa.

Tabela 1.5 Caracterização físico-química do efluente de microcervejaria

Parâmetros	Efluente		Literatura ¹	Legislação
	APA	BAA		
NTK (mg L ⁻¹)	45,6	51,8	20 a 80	-
N-NH ₄ (mg L ⁻¹)	1,76	1,45	0,48 a 13,05	até 20 ²
DQO (mg L ⁻¹)	4131	4.654	1800 a 15000	até 200 ³
pH	4,7	5,8	3 a 12	5 a 9 ²
Sólidos Totais	1839	2035	-	-
Sólidos Suspensos Totais	214	238	200-1000	-

¹Fonte: Eyvaz (2016)

²Resolução CONAMA N° 430/2011

³Resolução CEMA 070/09

O efluente da produção de cerveja é rico em matéria orgânica e por isso deve ser tratado para posterior lançamento em corpos d'água (DąBROWSKI; KAROLINCZAK, 2019; MILBURN; GUERTIN-MARTÍN, 2019). No Paraná, a Resolução CEMA 070/09 (PARANÁ, 2009), em seu Anexo 7, dispõe sobre os padrões de lançamento de efluentes líquidos industriais. Para indústria de bebidas é permitido o lançamento de efluente com DQO máxima de 200 mg L⁻¹. Neste trabalho foram obtidos valores de DQO do efluente acima de 4000 mg L⁻¹, que está dentro da faixa encontrada em literatura, mas fora do exigido em legislação (AYUB; SHARMA, 2017; BRIGGS *et al.*, 2004; MATA *et al.*, 2012; RADU *et al.*, 2014). Com relação aos valores de pH, os valores encontrados estão dentro da faixa encontrado na literatura e próximos da faixa Resolução CONAMA N° 430/2011 (BRASIL, 2011; BRIGGS *et al.*, 2004; EVYVAZ, 2016). Os valores de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) obtidos foram de 45,6 mg L⁻¹ e 51,82 mg L⁻¹, estando de acordo com a literatura (BRIGGS *et al.*, 2004). Os valores do nitrogênio amoniacal ficaram abaixo do permitido pela Resolução CONAMA N° 430/2011 (BRASIL, 2011) e dentro da faixa relatado por Enitan *et al.* (2018).

Com relação aos sólidos totais, os valores encontrados foram de 1839 mg L⁻¹ (APA) e de 2035 mg L⁻¹ (BAA). Os valores encontrados para sólidos suspensos totais foram de 214 mg L⁻¹ (APA) e de 238 mg L⁻¹ (BAA), valores de sólidos suspensos abaixo quando comprado com o efluente utilizado em estudo de Papadopoulos *et al.* (2020), que coletou amostra do tanque de equalização de uma cervejaria, mas de acordo com os valores citados por Eyvaz (2016). A presença de sólidos suspensos pode levar ao desenvolvimento de depósitos de lodos e desenvolvimento de condições anaeróbias quando o efluente é lançado sem tratamento no meio ambiente, desta forma confirmando que é necessária a redução deste parâmetro.

Foram realizadas análises de NTK nos maltes adicionados, obtendo um valor médio de 1,7g/100g. Para o lúpulo, o valor de NTK foi de 2,1g/100g. A partir destes valores é possível concluir que estes insumos contribuem para um alto valor nitrogenado do efluente. Além disso, verificou-se que o bagaço APA contém 0,66g de NTK para cada 100 g de bagaço gerado e o bagaço BAA contém 0,76 g de NTK para 100g bagaço gerado.

A microcervejaria estudada possui autorização da Prefeitura Municipal de Ponta Grossa e da Sanepar (Companhia de Saneamento do Paraná) para descartar todo o efluente líquido gerado na rede coletora de esgoto sem tratamento prévio. É importante destacar o crescente surgimento de novas microcervejarias no município, que pode sobrecarregar as ETEs existentes e, assim, em um futuro próximo, pode haver necessidade de tratamento adequado deste efluente antes de ser descartado, ou até mesmo um pré-tratamento antes de ser lançado na rede pública de esgoto.

1.6 CONCLUSÃO

A cerveja é um produto muito popular, sendo um importante produto para a economia brasileira. Nos últimos anos as microcervejarias ganharam muito destaque neste mercado devido as características diferenciadas das cervejas artesanais. O processo produtivo envolve várias etapas e diferentes matérias-primas, sendo realizado diferentes combinações que geram cervejas únicas.

Durante o processo produtivo, verificou-se que são necessários 4,26 L de água para produção de 1 L de cerveja tipo APA e 4,70 L de água para produção de 1 L de cerveja tipo BAA, no qual a maior parte da água torna-se efluente, aproximadamente 70%. Analisando os resultados de balanço hídrico e mássico e de caracterização dos resíduos gerados, pode-se concluir que efluentes de cervejaria são poluentes devido às elevadas concentrações de DQO e NTK, com uma média de 4392 mg L⁻¹ e de 48 mg L⁻¹, respectivamente, necessitando de um correto tratamento para reduzir seu potencial poluidor. Foi possível verificar também que os maiores volumes de efluente são gerados durante as etapas de limpeza e sanitização dos equipamentos e instalações.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, D. **Número de cervejarias no Brasil quase dobra em 3 anos e setor volta criar empregos**. G1, 2018. Disponível em <https://g1.globo.com/economia/pme/noticia/numero-de-cervejarias-no-brasil-quase-dobra-em-3-anos-e-setor-volta-criar-empregos.ghtml>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- ALVIM, R. P. R.; GOMES, F. C. O.; GARCIA, C. F.; VIEIRA, M. L. A.; MACHADO, A. M. R. Identification of volatile organic compounds extracted by headspace solid-phase micro extraction in specialty beers produced in Brazil. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 219–225, mar. 2017.
- AMBEV. **Nossa história**. Disponível em <https://www.ambev.com.br/sobre/nossa-historia/>. Acesso em: 27 mar. 2020.
- APHA. American Public Health Association, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 th. Edition, Washington, 1998.
- AQUILANI, B.; SECONDI, L.; POPONI, S.; LAURETI, T. Beer choice and consumption determinants when craft beers are tasted: An exploratory study of consumer preferences. **Food Quality and Preference**, v. 41, p. 214–224, abr. 2015.

- ASSIS, H. M.; CAVALCANTI, M. T.; GONÇALVES, M. C.; LIMA, T. L. S.; QUEIROGA, I. M. B. N. Craft beer: components and production processes. *In: Anais II CIAGRO 2021*, Recife, p. 1-20, 2021. II Congresso Internacional da Agroindústria, 2021, Recife.
- AYUB, S.; SHARMA, V. Status and Impact of Brewery Effluent on Ground Water Quality of Adjoining Communities- A Case Study. **Journal of Applied Sciences Research**. v. 13, n.5, p. 1-6, mai. 2017.
- AZEVEDO, L. F. S.; SOUZA, P. G. de. Evaluation of loss of beer extract in brewhouse in a microbrewery of Manaus. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 34537-34556, abr. 2021.
- BAIANO, A. Craftbeer: An overview. **Food Science and Food Safety**, Foggia, v. 20, n. 2021, p. 1829-1856, nov. 2020.
- BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente – Resolução nº430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre classificação de corpos d’água e estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2011.
- BRASIL. MAPA. **Decreto nº 9902, de 8 de julho de 2019**. Diário Oficial da União, Brasília. 2019.
- BRASIL. MAPA. **Anuário da Cerveja 2020**. Brasília, 2021.
- BRIGGS, D.; BOULTON, C.; BROOKES, P.; STEVENS, R. **Brewing Science and practice**. Abington: Woodhead Publishing Limited, 2004. 983 p.
- BRUST, L. A. C.; ARAGÃO, A. P.; BEZERRA JR., P. S.; GALVÃO, A.; FRANÇA, T. N.; GRAÇA, F. A. S.; PEIXOTO, P. V. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 35, n. 12, p. 956-964, dez. 2015.
- CARLOS, L.; HERMÓGENES, R. **Indústria de fermentação - A evolução da cerveja**. Dom Total, 2017. Disponível em: <https://domtotal.com/>. Acesso em: 02 nov. 2020.
- CARVALHO, D. M.; ROSA, S. S. Aumento de consumo de cerveja artesanal importada. *In: Jornada Científica e Tecnológica da Fatec de Botucatu, nº4, 2015, Botucatu. Anais. IV Jornacitec*. Fatec Botucatu. 2015.
- CAVALCANTI, R. F. R. M.; SILVA, J. E. da; FONTGALLAND, I. L. Custos da água na produção de cerveja: uma análise econômica comparativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. 1-11, fev. 2021.
- CERVBRASIL. **Anuário**. 2016. Disponível em http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016_WEB.pdf. Acesso em: 03 mar. 2019.
- CIMINI, A.; MORESI, M. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. **Lwt**, v. 90, p. 132-137, abr. 2018.

COSTA, B. R. S.; GOMES, Y. S.; CAZUZA, C. A. C.; TASHIMA, L.; SANTOS, L. Marcondes R. dos. Development of witbier with added ginger (*Zingiber officinalis*) and its influence on fermentation. **Revista Teccen**, v. 2, n. 13, p. 52-56, dez. 2020.

DABIJA, A.; CIOCAN, M. E.; CHETRARIU, A.; CODINĂ, G. G. Maize and Sorghum as raw materials for brewing, a Review. **Applied Sciences**, v. 11, n. 7, p. 3139, abr. 2021.

DaBROWSKI, W.; KAROLINCZAK, B. Application of trickling filter and vertical flow constructed wetland bed to treat sewage from craft brewery. **Journal of Ecological Engineering**, v. 20, n. 9, p. 211-217, out. 2019.

ENITAN, A. M.; KUMARI, S.; ODIYO, J. O.; BUX, F.; SWALAHA, F.M. Principal component analysis and characterization of methane community in a full-scale bioenergy producing UASB reactor treating brewery wastewater. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/b/c**, v. 108, p. 1-8, dez. 2018.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; DALL'OGGIO, I. C.; PAULI, A. R. de; ROMANI, M.; MÓDENES, A. N.; TRIGUEROS, D. E. G. Insights into brewery wastewater treatment by the electro-Fenton hybrid process: how to get a significant decrease in organic matter and toxicity. **Chemosphere**, v. 263, p. 128367, jan. 2021.

ESSLINGER, H.M. **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**, v. 1 Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2009.

EYVAZ, M. Treatment of brewery wastewater with electrocoagulation: Improving the process performance by using alternating pulse current. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 11, p. 4988 – 5008, jun. 2016.

FERREIRA, A. C.; PEREIRA, M. M. O.; REZENDE, D. C.; VIERIA, A. S. Simbolismo e construção da identidade por meio do consumo de cerveja artesanal. **Revista de Negócios**, v. 23, n. 3, p. 19-35, nov. 2018.

GEORGIU, A. **Oldest evidence of alcohol production found from 13,000 Years ago**. 2018. Disponível em: <https://www.newsweek.com/oldest-evidence-beer-brewing-13000-years-ago-uneearthed-israeli-cave-1133931>. Acesso em: 07 ago. 2021.

GIORGI, V. V. “Cultos em cerveja”: Discursos sobre a cerveja artesanal no Brasil. **Sociedade e Cultura**, Goiânia, v. 18, n. 1, p.101-111, jun. 2015.

GIORGI, V. V.; CONCEIÇÃO JÚNIOR, J. O. C. A produção cervejeira como patrimônio inatingível. Universidade Federal de Alfenas. **Cultura Histórica & Patrimônio**, Minas Gerais, v. 3, n. 2., p. 140-164, jul. 2016.

GUNES, B.; STOKES, J.; DAVIS, P.; CONNOLLY, C.; LAWLER, J. 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, p. 1-15, out. 2019.

HAMPSON, T. **O grande livro da cerveja - Informações atualizadas sobre cervejas e as grandes cervejarias em todo o mundo**. São Paulo: Publifolha, 2014.

HORN, P. A.; PEDRON, N. B.; JUNGES, L. H.; REBELO, A. M.; SILVA FILHO, H. H. da; ZENI, A. L. B. Antioxidant profile at the different stages of craft beers production: the role of phenolic compounds. **European Food Research and Technology**, v. 247, n. 2, p. 439-452, nov. 2020.

IORIZZO, M.; COPPOLA, F.; LETIZIA, F.; TESTA, B.; SORRENTINO, E. Role of yeasts in the brewing process: tradition and innovation. **Processes**, v. 9, n. 5, p. 839, maio 2021.

LAPOLLI, C. **Mercado da cerveja 2018**. ABRACERVA, 2019. Disponível em: <https://abracerva.com.br/>. Acesso em: 15 jul. 2019.

LARA, C. **Quantidade de água na cerveja**. Homini Lupulo, 2018. Disponível em: <https://www.hominilupulo.com.br/>. Acessado em: 25 mai. 2018.

MAPA. **A Cerveja no Brasil**. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/publicacoes/a-cerveja-no-brasil>. Acesso em: 10 abr. 2018.

MARCUSSO, E. F.; MULLER, C. V. A cerveja no Brasil: O ministério da agricultura informando e esclarecendo. **Revista MAPA**, Brasília, 2018.

MARTINS, L. F.; PANDOLFI, M. A.; COIMBRA, C. C. Análise Dos Indicadores Do Mercado Cervejeiro Brasileiro. **Simtec**, v. 4, n. 1, p. 13, mai. 2018.

MATA, T. M.; MELO, A. C.; SIMÕES, M.; CAETANO, N. S. Parametric study of a brewery effluent treatment by microalgae *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 107, p.151-158, mar. 2012.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção da cerveja no Brasil. **Citino**, Barra do Bugres, v. 1, n. 1, p.34-42, nov. 2011.

MILBURN, T.; GUERTIN-MARTÍN, F. A. Tapping into Environmental Harm in Brewing: an exploration of pollution and waste in beer production. **Critical Criminology**, v. 28, n. 3, p. 407-423, out. 2019.

OBERHOLSTER, A.; TITUS, B. M. Annals of food processing and preservation review: Impact of dry hopping on beer flavor stability. **Ann Food Process Preserv**, v. 1, n. 1, p. 1–6, set 2016.

PALMER, J. J. **How to brew: Everything you need to know to brew beer right the first time**. 3 ed. Brewers Publications, 2006.

PAPADOPOULOS, K. P.; ECONOMOU, C. N.; TEKERLEKOPOULOU, A. G.; VAYENAS, D.V. Two-step treatment of brewery wastewater using electrocoagulation and cyanobacteria-based cultivation. **Journal of Environmental Management**, v. 265, p. 1-7, jul. 2020.

PARANÁ. **Resolução CEMA N° 0070/2009**. Dispõe sobre o licenciamento ambiental, estabelece condições e critérios e dá outras providências, para empreendimentos industriais. Diário Oficial do Estado do Paraná, 01 out. 2009.

PICCINI, A. R.; MORESCO, C.; MUNHOS, L. **Fermentação**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/>. Acesso em: 21 out. 2013.

PIMENTA, L. B.; RODRIGUES, J. K. L. A.; SENA, M. D. D.; CORRÊA, A. L. A.; PEREIRA, R. L. G. A história e o processo da produção da cerveja: uma revisão. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 37, n. 3, p. 26715, nov. 2020.

PONTA GROSSA. **Lei nº 13.504, de 2019**. Dispõe sobre licenciamento e regulamentação da atividade de micro cervejarias e seus respectivos bares e restaurantes cervejeiros, no Município de Ponta Grossa. Sistema Leis Municipais: Ponta Grossa, 19 ago. 2019.

PRESTES, D. N.; SPESSATO, A.; TALHAMENTO, A.; GULARTE, M. A.; SCHIRMER, M. Artigas; VANIER, N. L.; ROMBALDI, C. V. The addition of defatted rice bran to malted rice improves the quality of rice beer. **Lwt**, v. 112, p. 108262, set. 2019.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.

RADU, T.; BLANCHARD, R. E.; SMEDLEY, H.; WHEATLEY, A. D. Anaerobic digestion of brewery effluent: two-year operating experiences. *In: 9th International Water Association World Water Congress and Exhibition, 2014, Loughborough University. Proceedings of 2014*, Lisboa, Portugal, set. 2014. Disponível em: <https://hdl.handle.net/2134/15426>. Acesso em: 05 mai. 2018.

RAMOS, G. C. B.; PANDOLFI, M. A. C. A evolução do mercado de cervejas artesanais no Brasil. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 1, p. 480-488, jun. 2019.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 98-105, ago. 2015.

ROTOLO, T. Brewing culture: a brief history of craft beer in Brazil Tatiana. *In: Simpósio Internacional de Pesquisa em Alimentação, 2., 2019, São Paulo. Caderno de Resumos do II Simpósio Internacional de Pesquisa em Alimentação*. São Paulo: Revista Ingesta, 2019. v. 1, p. 141 - 142.

SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e refrigerantes**. CETESB, São Paulo, 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 07 nov. 2019.

SCHUINA, G. L.; QUELHAS, J. O. F.; CARVALHO, G. B. M.; BIANCHI, V. L. del. Use of carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC. *Asteraceae*) as a total substitute for hops in the production of lager beer. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 10, p. 1-8, 9 jul. 2020.

SEBRAE. **Microcervejarias no Brasil**. Sebrae, 2016.

SERENO FILHO, J. A.; SANTOS, A. F. M. S.; BAHÉ, J. M. C. F.; GOBBI, C. N.; LINS, G. A.; ALMEIDA, J.R. Wastewater treatment of beverage industry in na aerobic reactor for internal circulation (CI). **Revista Internacional de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p. 1-20, jun. 2013.

SILVA, C. C. C.; CLEMENTE, S. H. M.; TRINDADE, B.S. Cerveja artesanal: a história e produção de cerveja em Santa Vitória do Palmar-RS. *In: IV Seminário de Atuação Profissional em Eventos*, 2019, Santa Vitória do Palmar. **Anais IV Seminário de Atuação Profissional em Eventos**, 2019, Santa Vitória do Palmar.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R.V. Beer and society. **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**. Juiz de Fora, v. 4, n. 2, p. 85-91. mar. 2016.

SIMATE, G. S., CLUETT, J., IYUKE, S. E., MUSAPATIKA, E. T., NDLOVU, S., WALUBITA, L. F., ALVAREZ, A. E. The treatment of brewery wastewater for reuse: State of the art. **Desalination**, v. 273, n. 2, p. 235-247, jun. 2011.

STEPHAN BARTH. **The Barth Report**. Barth Hass, Nuremberga, 2020. Disponível em: <https://www.barthhaas.com>. Acesso em: 06 ago. 2020.

ŠTULÍKOVÁ, K.; NOVÁK, J.; VLČEK, J.; ŠAVEL, J.; KOŠIN, P.; DOSTÁLEK, P. Bottle Conditioning: technology and mechanisms applied in refermented beers. **Beverages**, v. 6, n. 3, p. 56, set. 2020.

TORRES, I. C.; HANSEN, E. Environmental licensing in microbreweries: an assesment based on industry performance indicators. **Revista Tecnologia e Tendências**, Novo Hamburgo, v. 10, n. 1, p. 182-199, jan. 2019.

TOZETTO, L. M.; NASCIMENTO, R. F. do; OLIVEIRA, M. H. de; VAN BEIK, J.; CANTERI, M. H. G. Production and physicochemical characterization of craft beer with ginger (*Zingiber officinale*). **Food Science and Technology**, v. 39, n. 4, p. 962-970, dez. 2019.

TSCHOEKE, I. C.P.; SILVA, R. J.M.C.L.; SILVA, J. P. da; MARQUES, O. M.; VINHAS, G. M.; SANTOS, A. M.P.; SOUZA, T. P.C. Kinetic modelling of a brewery mashing: a multidimensional approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 116, p. 130-139, jul. 2019.

CAPÍTULO 2 - REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA CARBONÁCEA E NITROGENADA EM REATOR BIOLÓGICO COMPACTO DE FASE ÚNICA: UMA ALTERNATIVA PARA MICROCERVEJARIAS

RESUMO

O efluente da indústria cervejeira contém elevadas concentrações de DQO e nitrogênio. As grandes cervejarias têm estações de tratamento de efluente (ETE) onde o efluente é tratado adequadamente. As cervejarias artesanais, porém, devido à falta de recurso ou espaço, nem sempre possuem uma ETE, assim, ou contratam empresas especializadas para coleta e destinação dos efluentes ou os descartam na rede coletora de esgoto, o que pode trazer problemas de sobrecarga à ETE local. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar um biorreator compacto para remover DQO e nitrogênio, em um único compartimento, de efluente de microcervejaria. Utilizou-se um reator de leito empacotado, com aeração intermitente, recirculação e alimentação em batelada. Como meio suporte para fixação das bactérias foram usados miniBioBobs[®], que permitiu a criação de zonas aeróbias e anóxicas no reator. Para analisar o efeito do TDH, tempo de aeração total e relação DQO/NTK, foram realizados 13 experimentos, no qual o TDH variou de 12h a 20h, tempo de aeração total de 3h a 15h e relação DQO/NTK de 40 e 100. Para avaliar a eficiência do reator foram analisadas as remoções de DQO e NT. Foi possível obter valores de 75% a 98% para remoção de DQO e de 77% a 95% para NT. As melhores respostas foram obtidas na condição três, com TDH de 12h, aeração total de 9h e relação DQO/NTK de 40. Nessas condições obteve-se efluente com 45 ± 9 mg DQO L⁻¹, $6,7 \pm 0,7$ mg NTK L⁻¹, $0,75 \pm 0,15$ mg N-NH₄⁺ L⁻¹ e $0,10 \pm 0,01$ mg N-NO₂⁻ L⁻¹. Devido às elevadas taxas de desnitrificação, acima de 98%, o nitrato não foi detectado no efluente de nenhuma das condições avaliadas. Os resultados obtidos demonstraram que o reator de leito empacotado, com recirculação e aeração intermitente, foi eficiente na remoção de DQO e NT, sendo uma alternativa compacta para o tratamento secundário e terciário de microcervejarias.

Palavras-chave: reator em batelada, aeração intermitente, DQO, NTK, nitrificação e desnitrificação simultânea, tratamento biológico, tratamento secundário.

ABSTRACT

The effluent from the brewing industry contains high organic loads due to the presence of proteins, carbohydrates, ethanol and suspended solids. The large breweries have an effluent treatment station (ETS) where the effluent is properly treated. Craft breweries, on the other hand, do not always have a ETS and / or need to hire specialized companies to collect and properly dispose of effluents or dispose of them in the sewage collection network, which can cause problems with overload at the station. Large breweries usually treat their effluents using anaerobic and aerobic processes in physically separate environments, making both the installation and the operation of the ETS more expensive. Thus, the objective of this work was to evaluate a compact reactor to treat effluent from microbreweries. The reactor was formed by a packed bed, with intermittent aeration and batch feeding. MiniBioBobs[®] were used as a support medium, which allowed the creation of aerobic and anoxic zones in the reactor. To analyze the effect of TDH, total aeration time and COD/TKN ratio, 15 experiments were carried out, where TDH ranged from 12h to 20h, total aeration time from 3h to 15h and COD/TKN ratio of 40 and 100. In order to evaluate the reactor efficiency, COD and NT removals were analyzed. It was possible to obtain values from 75% to 98% for COD removal and from 77%

to 95% for NT. The best responses were obtained in condition three, with 12h TDH, 9h total aeration and 40 COD/TKN ratio. Under these conditions, effluent was obtained with 45 ± 9 mg COD L⁻¹, 6.7 ± 0.7 mg TKN L⁻¹, 0.75 ± 0.15 mg N-NH₄⁺ L⁻¹ and 0.10 ± 0.01 mg N-NO₂⁻ L⁻¹. Due to the high denitrification rates, above 98%, nitrate was not detected in the effluent of any of the evaluated conditions. The results obtained demonstrated that the packaged bed reactor, with recirculation and intermittent aeration, was efficient in the removal of COD and TN, being a compact alternative for the secondary and tertiary treatment of microbreweries.

Keywords: batch reactor, intermittent aeration, COD, TKN, simultaneous nitrification and denitrification, biological treatment, secondary treatment.

2.1 INTRODUÇÃO

Na fabricação da cerveja, de maneira geral, tem-se que para cada litro produzido é gerado em torno de 3 a 10 litros de efluente. A água, além de ser matéria-prima, também é utilizada nas etapas de limpeza e higienização dos equipamentos e instalações. O efluente gerado é caracterizado por conter elevada concentração de matéria orgânica expressa em DQO, de 2000 a 6000 mg L⁻¹, e de nitrogênio, entre 25 e 80 mg L⁻¹. O descarte desse efluente sem nenhum tratamento em corpos d'água, além de causar a depleção da concentração de oxigênio dissolvido, também pode causar eutrofização, devido ao excesso de nitrogênio lançado.

As indústrias cervejeiras de grande porte costumam tratar este efluente por processos biológicos, utilizando uma configuração composta por dois a três reatores sequenciais, que visam a redução de DQO e parte do nitrogênio. Porém, em microcervejarias, a realidade é outra. Muitas vezes não há espaço e os recursos disponíveis são escassos. A maioria contrata empresas especializadas na coleta de efluentes, outras os despejam na rede coletora de esgoto da cidade, que pode não estar preparada para receber uma alta carga orgânica. Algumas concessionárias que fazem o tratamento dos esgotos municipais podem exigir um pré-tratamento dos efluentes para que possam ser lançados na rede.

Nos últimos anos, pesquisadores têm relatado ser possível a remoção conjunta de nitrogênio total e DQO de efluentes em um único compartimento (CORREA *et al.*, 2018; JENZURA *et al.*, 2018; MOURA *et al.*, 2012; MOURA *et al.*, 2018; WOSIACK *et al.*, 2015). Os reatores utilizados por estes pesquisadores têm em comum a biomassa imobilizada em um suporte que permite a ocorrência de Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas (NDS). Além disso, eles apresentam recirculação interna e aeração intermitente. Esta configuração proporciona economia de espaço e energia, pois em um mesmo reator é possível acontecer as etapas de nitrificação e desnitrificação junto com a remoção da DQO (CHAI *et al.*, 2019; CHANG *et al.*, 2019). A utilização de reatores com biomassa imobilizada é mais interessante

quando comparada a reatores que utilizam microrganismos em suspensão. Os microrganismos em suspensão estão em contato direto com o efluente, móveis no meio líquido. No sistema fixo, os microrganismos formam um biofilme aderido ao suporte inerte, conferindo maior resistência a choques de carga, impedindo que os mesmos sejam arrastados com o efluente (LEICK *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2012; SILVA; DAMIANOVIC; FORESTI, 2018; WOSIACK *et al.*, 2015).

A utilização de um reator único e compacto que possibilita remover DQO e NT de efluentes, ainda é novidade no setor cervejeiro. É importante destacar que pequenas cervejarias, muitas vezes, produzem em regime de batelada. Por isso, o uso de um sistema de tratamento de efluentes também em batelada, possibilita a adaptação do tratamento de efluente ao tempo de produção.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de um reator de leito empacotado operado em batelada e com aeração intermitente, variando parâmetros de tempo de aeração total, relação DQO/NTK e TDH, na remoção de DQO e NT do efluente gerado por uma microcervejaria.

2.2 TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA

Toda indústria gera resíduos em seu processo produtivo e na produção de cerveja não é diferente. O resíduo gerado em maior volume pelas cervejarias é representado pelos efluentes líquidos, que são biodegradáveis, com uma relação DQO/DBO de cerca de 1,7. Com esta relação entre DQO e DBO é possível estimar a biodegradabilidade do efluente, auxiliando na escolha do tratamento a ser utilizado. Um alto valor desta relação, acima de 3, indica que grande parte do efluente é inerte, ou seja, sua biodegradabilidade é baixa. Quanto menor esta relação, maior a fração biodegradável do efluente, indicando a possibilidade de um tratamento biológico (RAO *et al.*, 2007).

Na produção de cerveja há grande consumo de água, usada tanto para elaboração do produto quanto para processos de limpeza e desinfecção, e cerca de 70% da água utilizada acaba se tornando efluente (BREWERS ASSOCIATION, 2014). O efluente gerado, que varia entre de 3 e 10 L por litro de cerveja produzido, apresenta elevada concentração de DQO, que pode variar de 2000 a 6000 mg L⁻¹ (EYVAZ, 2016). Essa DQO é formada pela alta quantidade de nutrientes orgânicos e biodegradáveis, como açúcares, células de levedura, proteína e álcool, exigindo um tratamento adequado antes de ser descartado (BASSIN *et al.*, 2019; DIZGE *et al.*, 2018; GUNES *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2019). A resolução CONAMA nº 430/2011

(BRASIL, 2011), que dispõe sobre os padrões de lançamento de efluentes, e complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005), estabelece que efluentes de qualquer fonte poluidora devem apresentar pH com valores entre 5 e 9, temperatura inferior a 40°C, remoção mínima de 60% da DBO (sendo que este limite só poderá ser reduzido no caso de existência de estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor) e teor de nitrogênio amoniacal máximo de 20 mg L⁻¹.

Os órgãos ambientais ligados aos estados e municípios costumam ser mais restritivos que os federais. Dessa maneira, tem-se que a Prefeitura Municipal de Ponta Grossa, através da Instrução Normativa (IN) nº 03 – 001 da Secretaria Municipal de Meio Ambiente (PONTA GROSSA, 2018), em seu Anexo 11, estabelece padrões para o lançamento de efluentes líquidos, direta ou indiretamente, nos corpos d'água de acordo com o tipo de indústria e o efluente gerado. Segundo essa IN, a indústria cervejeira está dentro da categoria bebidas, que tem como padrão de lançamento para DQO o limite de 200 mg L⁻¹.

BRIGGS *et al.* (2004) relatam que a composição do efluente de cervejaria pode variar muito e que uma cervejaria com produção de 106 hL pode gerar efluente com equivalente populacional igual a 50000 habitantes. Para evitar grandes danos ambientais sugere-se alguns limites de lançamento para efluentes de cervejaria, como DQO de 127 mg L⁻¹ e DBO de 25 mg L⁻¹, SS 35 mg L⁻¹, NT 10 mg L⁻¹ e fósforo 1 mg L⁻¹.

As grandes cervejarias têm Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) que tratam seus efluentes de maneira eficiente, permitindo a saída de uma água residuária com padrão adequado para lançamento. No Brasil, as ETEs que tratam efluentes das cervejarias são formadas, normalmente, por um tratamento preliminar (grades, caixa de areia e peneiras), que visa à remoção de areia, rótulos, tampas de garrafas, pedaços de plásticos e vidro e restos de bagaço e levedura. Posteriormente vem o tanque de equalização, que tem por objetivo equalizar a vazão e minimizar choques de carga para as etapas posteriores. Na sequência tem-se os processos biológicos, que compreendem um biorreator anaeróbio seguido de um aeróbio. As etapas biológicas são as mais complexas para o tratamento dos efluentes de uma cervejaria, pois são as responsáveis pela remoção da DQO e NT. Após essas etapas o efluente segue para um decantador para clarificação do efluente final, que, então, poderá ser lançado em um corpo receptor (SERENO FILHO *et al.*, 2013).

O tratamento secundário é formado por processos biológicos, cujo objetivo é remover a DQO e DBO. Os processos biológicos podem envolver etapas anaeróbias e/ou aeróbias. A digestão anaeróbia é um processo complexo que envolve uma variedade de bactérias e arqueas

que, além de tratar o efluente, também gera biogás que pode ser utilizada na geração de energia e melhorado balanço energético da empresa (BASSIN *et al.*, 2019; ENITAN *et al.*, 2018; GUNES *et al.*, 2019). Esta tecnologia é bastante utilizada na estabilização de efluentes, pois gera menos lodoetembaixo consumo de energia, quando comparado com o processo aeróbio. Como desvantagens tem o tempo maior de partida do sistema, pois os microrganismos anaeróbios se multiplicam com velocidade menor que os aeróbios em condições adequadas para cada um, além da menor remoção da carga orgânica, necessitando, muitas vezes de uma etapa aeróbia para completar o tratamento (ENITAN *et al.*, 2018; GUNES *et al.*, 2019).

O processo de digestão anaeróbia envolve várias etapas e microrganismos que agem sequencialmente e em simbiose. Neste processo parte da matéria orgânica é convertida a metano, considerado um biogás, que pode ser utilizado como fonte de energia alternativa. Este tipo de sistema remove em torno de 60 a 75% da DQO e não elimina o nitrogênio ou fósforo do efluente. A maioria das empresas não consegue enquadrar os padrões de lançamento de DQO e DBO de seus efluentes apenas com processos anaeróbios. Desta maneira, uma configuração muito utilizada é o tratamento anaeróbio seguido de uma etapa aeróbia (BASSIN *et al.*, 2019; BRIGGS *et al.*, 2004; DIZGE *et al.*, 2018; GUNES *et al.*, 2019).

Um modelo de reator anaeróbio já bem estabelecido e muito utilizado mundialmente paratratar efluentes com baixa concentração de sólidos suspensos é o UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket ou Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo). Neste reator o efluente entra pela parte inferior e é degradada pelos microrganismos presentes na manta de lodo conforme seguem fluxo ascendente até o topo do mesmo, por onde sai clarificado. É um processo que apresenta menor eficiência de remoção de matéria orgânica quando comparado com o sistema aeróbio, em torno de 65% para DQO, então é comumente utilizado antes de um tratamento aeróbio de lodos ativados. O reator UASB tem como desvantagem a eventual perda de biomassa quando é aplicado a tratamento de efluentes com muitas partículas suspensas e coloidais, pois o lodo pode formar flocos que serão arrastados com o efluente, além da geração excessiva de H₂S, que causa mau cheiro (DI BIASE *et al.*, 2018; PRIEST; STEWART, 2006; VON SPERLING, 2017).

Outro modelo de reator anaeróbio é o AMBBR (Reator Biológico Anaeróbio de Leito Móvel). Neste modelo os microrganismos ficam aderidos a suportes que se movem por todo o reator e, devido a isso, evita entupimentos de bombas e tubulação da estrutura, tem aumento da área superficial para desenvolvimento do biofilme e maior estabilidade. Porém mesmo com estes benefícios, o reator UASB ainda acaba sendo o mais utilizado devido aos baixos custos de implantação (BASSIN *et al.*, 2019; DI BIASE *et al.*, 2018).

O tratamento por via aeróbia é bastante utilizado para o tratamento de efluentes, pois é eficiente para a remoção da DQO, chegando a eficiências acima de 90%. Neste processo ocorre a oxidação da matéria orgânica pelos microrganismos aeróbios, gerando lodo, que deve ser removido do sistema e ter destinação adequada. O tratamento biológico aeróbio é, normalmente, posicionado logo após o tratamento anaeróbio e é utilizado quando se deseja aumentar remoção de DQO. Por ser um processo que necessita de oxigênio livre, acaba tendo grande consumo energético e nível de mecanização, se comparado aos processos anaeróbios. Os processos aeróbios têm como vantagem a possibilidade de se tratar grandes quantidades de efluentes em áreas reduzidas. O lodo gerado nos processos aeróbios deve ser estabilizado, podendo ser utilizada a digestão anaeróbia para este fim, ou ainda incineração ou enviado para aterros sanitários (CHERNICHARO, 2016; VON SPERLING, 2017).

Além da combinação do processo biológico anaeróbio e aeróbio, existem várias alternativas de tratamentos que estão sendo estudadas e aplicadas no setor cervejeiro. É possível utilizar filtração por membrana no tratamento de efluentes de cervejaria. Os sistemas de membrana podem ser classificados de acordo com o tamanho dos poros e sua efetividade: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa (RO). De todos estes métodos, a osmose reversa, segundo literatura, seria o melhor para tratamento de efluentes de cervejaria, pois necessita de pouco espaço e são eficientes, porém devido aos altos custos de implantação e operação ainda não é viável economicamente (MESHKSAR; ROOSTAEE; RAHIMPOUR, 2020).

O sistema MBR (Membrane Biological Reactor) combina a tecnologia do sistema biológico convencional, sistema aeróbio, com tratamento físico por filtração por membranas. Esse sistema tem alta eficiência, pois possibilita a retenção de toda a biomassa. O sistema pode ser de forma interna, no qual as membranas ficam submersas, ou externa no reator, possuindo uma eficiência de remoção de DBO e sólidos suspensos acima de 99%. Porém, tem como desvantagem, o alto custo de implantação e operação (ZANDI *et al*, 2019).

A eletrocoagulação tem sido uma alternativa também para o tratamento de efluente de cervejaria. É um processo de baixo custo, tem boa eficiência, fácil operação e menor geração de lodo (AZIZ; ASAITHAMBI, 2015; EYVAZ, 2016). Na tabela 2.1 está listada uma série de estudos sobre tratamento de efluente de cervejaria, com diferentes configurações.

Tabela 2.1 Tratamentos utilizados em efluentes de cervejaria e eficiências obtidas, encontrados na literatura

Autor	Tipo de tratamento	Eficiência de remoção (%)
Santos <i>et al.</i> (2019)	Biorreatores com <i>Phormidium autumnale</i>	DQO = 75 NT = 64
Enitan <i>et al.</i> (2018)	UASB	DQO = 79
Bassin <i>et al.</i> (2019)	Reator anaeróbio de leito móvel com biofilme (AMBBR)	DQO = 80
Rissardo <i>et al.</i> (2019)	Eletrocoagulação	DQO = 60
Sereno Filho <i>et al.</i> (2013)	Reator anaeróbio com circulação interna	DQO = 83
Borgo <i>et al.</i> (2019)	Coagulante alternativo de origem vegetal (<i>Moringa Oleifera</i>)	Turbidez = 94
Chen <i>et al.</i> (2016)	Reator anaeróbio de membrana (AnMBR)	DQO = 98 NT = 54
Bakare, Shabangu e Chetty (2017)	Reator em Batelada Sequencial com baixa aeração contínua	DQO = acima de 90
Singh, Bhunia e Dash (2019)	Vermifiltração	DQO= 95 NT= 20-23
Papadopoulos <i>et al.</i> (2020)	Eletrocoagulação + Reator com cianobactérias	NH ₄ ⁺ = 100 NTK= 89,4 Fósforo= 98,5 DQO= 91,6
Hultberg e Bodin (2019)	Cultivo submerso de fungos filamentosos	NT= 91,5 NH ₄ ⁺ = 86,9 DQO= 61,4

Santos *et al.* (2019) relatam que o efluente gerado por cervejarias possuem características adequadas para suportar o cultivo heterotrófico de cianobactérias devido à alta presença de nutrientes, e utilizaram um processo de biorremediação com foco no cultivo heterotrófico de *Phormidium autumnale* para tratamento do efluente de cervejaria em uma única etapa, utilizando diferentes razões de C/N (20, 40 e 60), que foram ajustadas com NaNO₃. O biorreator utilizado no estudo operou com um volume de 2 L, com difusão de ar constante, pH de 7,6, temperatura de 30°C e ausência de luminosidade. A composição do efluente inicial era de DQO= 1430,66 mg L⁻¹ e NT= 17,38 mg L⁻¹, e após o tratamento com a relação de C/N=60, a DQO ficou em 357,32mg L⁻¹ e o NT em 6,95 mg L⁻¹, ficando dentro da legislação vigente para emissão no local do estudo (Rio Grande do Sul). Desta forma os autores concluíram que o tratamento com biorreatores heterotróficos por *Phormidium autumnale* é uma tecnologia que tem potencial para ser desenvolvida.

Rissardo *et al.* (2019) avaliaram o tratamento de efluente de cervejaria por eletrocoagulação, com o objetivo de reduzir a matéria orgânica e a toxicidade presente no

efluente. Através de um planejamento experimental variaram o tempo de eletrólise, a densidade de corrente elétrica e o pH inicial. Observaram que, na melhor condição, obteve-se 60% de remoção de DQO. Também observaram redução da toxicidade com 90 min de tratamento e os autores sugerem a integração deste tipo de processo com outro para melhorar a eficiência do processo.

Em trabalho realizado por Sereno Filho *et al.* (2013), foi avaliado um sistema em escala real de tratamento de efluente de uma indústria de bebidas (cervejas e refrigerantes) composto por tratamento primário em um reator anaeróbio de circulação interna (IC), seguido de tratamento secundário em sistema de lagoa de aeração-polimento. O reator anaeróbio IC possui um sistema de distribuição onde o efluente é misturado com o efluente tratado e o lodo anaeróbio recirculados, o qual apresenta como características a presença de uma zona de mistura, zona de leito expandido de lodo anaeróbio granulado, zona de polimento e o sistema automático de recirculação. Foi realizado acompanhamento por três meses na indústria para avaliar a eficiência de DQO e DBO do reator IC e a eficiência global após a lagoa de aeração/polimento. Foram obtidos resultados satisfatórios, com eficiência média de remoção no reator IC de 83% para DQO e de 81% para DBO e uma eficiência média global de 89% para a DQO e de 92% para DBO, sendo uma alternativa viável para o tratamento de efluente da indústria de bebidas.

Chen *et al.* (2016) pesquisaram o uso de um reator anaeróbio de membrana avançado (AnMBR) para remoção de matéria orgânica de águas residuárias de cervejaria (sintético e real), operado com controle de pH, alcalinidade e temperatura de 35 °C. Neste estudo foram obtidas remoção de DQO superior a 98% e remoção de NT de 54%, além de bom rendimento de biogás. Este reator alia a digestão anaeróbia com processo de filtração por membrana, no qual esta membrana retém todos os sólidos suspensos, eliminando o risco de lavagem da biomassa e aumentando a eficiência do processo.

Bakare; Shabangu e Chetty (2017) avaliaram o uso de dois reatores em batelada sequencial em série (SBR) em escala de bancada, operando com temperatura entre 20 e 25 °C, controle de pH entre 6 e 8 e diferentes condições de aeração. Eficiências acima de 90 % para remoção de DQO foram obtidas com aeração contínua, porém baixa, sendo mais efetivo que o esquema de aeração cíclica, pois, segundo os autores, a atividade microbiana de degradação da matéria orgânica foi aumentada devido ao constante fornecimento de oxigênio.

O estudo realizado por Singh; Bhunia e Dash (2019) investigou o uso de vermifiltração para tratamento de efluente de cervejaria. Esta é uma tecnologia considerada ecologicamente sustentável e que não produz nenhum subproduto prejudicial, no qual os vermifiltros atuam de

forma simbiótica entre os microrganismos e minhocas, removendo compostos orgânicos, nutrientes, metais pesados e sólidos. Este processo é influenciado pela carga orgânica do efluente, densidade de minhoca (EWD) e pela taxa de aplicação hidráulica e, desta forma, os autores investigaram a influência dos parâmetros na remoção da DQO. Obtiveram eficiência de remoção de DQO de 95% e observaram que o maior tempo de retenção hidráulica favoreceu o tratamento por vermifiltração.

Papadopoulos *et al.* (2020) combinaram duas tecnologias neste estudo, eletrocoagulação e o cultivo com cianobactérias, que normalmente são estudados separadamente, com o objetivo de desenvolver uma alternativa viável à tecnologia convencional de lodos ativados. O tratamento de eletrocoagulação foi utilizado como um pré-tratamento para redução da turbidez, necessária para o cultivo fotossintético adequado. Foi possível verificar que o processo combinado foi eficaz na remoção de poluentes: 100% de nitrogênio amoniacal, 89,4% de NTK, 98,5% de fósforo e 91,6% para DQO. Além disso, observou-se remoção de metais residuais provenientes do tratamento de eletrocoagulação. A biomassa gerada, pode ser usada como matéria-prima para produção de bioetanol, devido ao alto teor de carboidratos, aproximadamente 50% (Papadopoulos *et al.*, 2020).

Hultberg e Bodin (2019) avaliaram o cultivo submerso de fungos filamentosos como um método de tratamento para efluentes de microcervejarias, comparando os resultados com legislação local e verificando a qualidade da biomassa produzida. Foi obtida uma redução de até 91,5% de NT, 86,9% de nitrogênio amoniacal e até 61,4% de DQO, concluindo que este sistema de tratamento é promissor, mas necessita de melhorias para torná-lo viável tecnologicamente e economicamente, como por exemplo a combinação ideal de pH para uma remoção mais eficiente de nitrogênio.

Nota-se que na maioria dos estudos citados os processos utilizados foram eficientes na remoção da DQO, indicando a falta de estudos sobre tratamento biológico de efluentes de cervejarias que possam remover DQO e NT em um único compartimento. A remoção de nitrogênio segue rotas e microrganismos diferentes dos utilizados na remoção de DQO, portanto, a compreensão desses mecanismos é importante para o aperfeiçoamento dos processos biológicos de tratamento de efluentes de cervejarias.

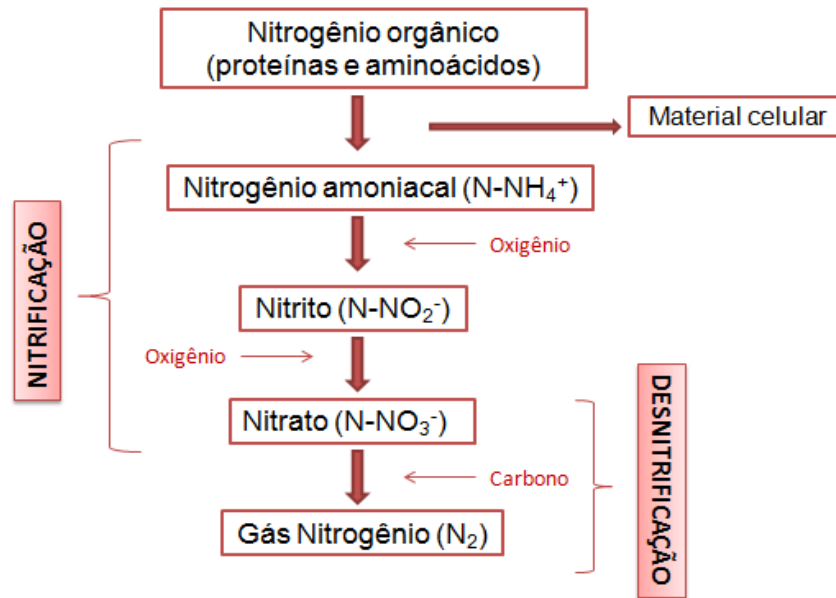
2.3 NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEAS

Compostos como aminoácidos e proteínas fazem parte da fração orgânica do nitrogênio, podem se apresentar na forma solúvel ou particulada e, quando em contato com os

microrganismos, são convertidos em nitrogênio amoniacal. O nitrogênio possui vários estados de oxidação, mas as formas mais comuns de nitrogênio nas águas residuárias são a amônia (NH_3) e o íon amônio (NH_4^+), na qual a concentração de cada um irá variar em função do pH do meio. Em pH menores ou iguais a 7 predomina-se a forma ionizada (NH_4^+). Na faixa de pH entre 8 e 9 tem-se a predominância da forma não ionizada, em torno de 70% aproximadamente. Em pH superior a 11, a forma NH_3 é a dominante. A presença da amônia é considerada um problema, pois provoca consumo de oxigênio dissolvido ao ser oxidada biologicamente. Os íons nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) são encontrados em baixas concentrações em águas residuárias. O excesso de nitrato pode ser tóxico e causar doenças na população consumidora dessa água, como a metahemoglobinemia, ou síndrome do bebê azul. Esta doença ocorre pela presença de um nível mais alto do que o normal de meta-hemoglobina no sangue, ou seja, ocorre quando a hemoglobina é oxidada, por agentes como nitrato e nitrito, em uma velocidade maior que a capacidade enzimática normal para a redução da hemoglobina (METCALF; EDDY, 2003; NASCIMENTO *et al.*, 2008; VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O processo convencional de remoção biológica de matéria nitrogenada é mais eficaz e econômico que os processos físico-químicos (AHN, 2006). A remoção biológica de compostos nitrogenados contido nas águas residuárias envolve duas etapas principais: em condições aeróbias ocorre a oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrato (nitrificação) e, em seguida, na ausência de oxigênio livre, ocorre a conversão de nitrato a nitrogênio gasoso (desnitrificação) (Figura 2.1) (ARAÚJO, 2006; FOCO; NOUR, 2014; VON SPERLING, 2017).

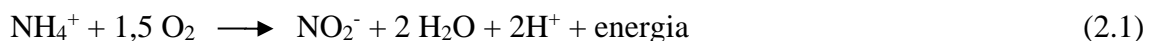
Figura 2.1 Rotas de transformação do nitrogênio.



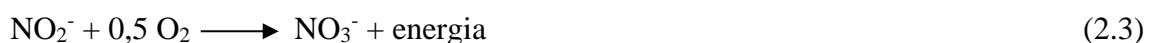
Fonte: Araújo (2006).

Uma parcela do nitrogênio amoniacal pode ser assimilada na síntese celular, porém esta contribuição para redução do nitrogênio total é muito pequena, por isso processos biológicos com remoção de material nitrogenado, como os fenômenos de nitrificação e desnitrificação, são necessários (ARAÚJO, 2006).

A nitrificação é um processo composto por duas etapas de conversão biológica: oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrito (nitritação) e a oxidação do nitrito a nitrato (nitratção). Ambas as etapas acontecem na presença de oxigênio molecular, através da ação de bactérias autotróficas. No processo de nitrificação há a tendência de redução do pH do meio devido à liberação de íons H^+ (Equação 2.1) por isso a adição de um agente alcalinizante pode ser necessária para manter o pH do meio estabilizado. No processo de nitrificação 1 mg de NH_4^+ consome 7,14 mg L^{-1} de alcalinidade na forma de $CaCO_3$, pois sabe-se que a produção de 1 mol de H^+ (acidez) equivale ao consumo de 1 mol de alcalinidade (50 g de $CaCO_3$). Desta forma, na nitrificação há consumo de 2 mol de alcalinidade, pois há produção de 2 mol de H^+ , e assim há 100 g de $CaCO_3$ por mol de N (14 g) (Equação 2.2) (BUENO *et al.*, 2019; COATS *et al.*, 2011; FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; WOSIACK *et al.*, 2015).



$$(\Delta alc/\Delta N)_n = -100/14 = -7,14 \text{ mg } CaCO_3 \text{ mgN}^{-1} \quad (2.2)$$



No qual:

($\Delta\text{alc}/\Delta\text{N}$): variação da alcalinidade por mg N.

n:nitrificação

As proporções molares para oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrito e deste último a nitrato são, respectivamente, representadas pelas equações químicas 2.1 e 2.3 (FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; WOSIACK *et al.*, 2015).

Os gêneros bacterianos que participam da nitrificação são *Nitrossomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosorobrio*. Já na nitratação, os gêneros bacterianos envolvidos são *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitroeystis*.

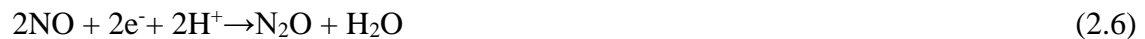
As reações de nitrificação podem ser afetadas por vários fatores, como temperatura, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido, concentração de matéria carbonácea e nitrogênio. Estes fatores podem ter uma ação direta na atividade enzimática, na velocidade de crescimento microbiano, velocidade de difusão e solubilidade do oxigênio (WOSIACK *et al.*, 2015).

Com relação à temperatura, a faixa ótima para crescimento para bactérias nitrificantes é entre 25-36 °C. Microrganismos imobilizados são mais resistentes a mudanças de temperatura. Porém, em temperaturas abaixo de 15 °C há redução da atividade de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (WOSIACK *et al.*, 2015; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

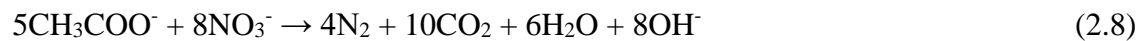
A faixa de pH ideal é de 7,0 a 9,0. Em valores de pH abaixo de 5,0 as bactérias nitrificantes não conseguem realizar a nitrificação. A alcalinidade do meio deve ser de aproximadamente 7,14 mg CaCO₃ por mg de nitrogênio amoniacal (Equações 2.1 e 2.2) para manutenção do pH e, conseqüentemente, do sistema estável (FLECK; EYNG; TAVARES, 2015).

A velocidade máxima de nitrificação ocorre em concentrações de oxigênio dissolvido acima de 2 mg L⁻¹. Já em concentrações de OD abaixo de 0,5 mg L⁻¹, a velocidade de nitrificação é reduzida drasticamente, podendo ser interrompido o processo. É importante ressaltar que as bactérias heterotróficas aeróbias, responsáveis pela remoção de matéria orgânica carbonácea, possuem uma velocidade de crescimento maior do que as bactérias nitrificantes autotróficas, ou seja, estas últimas necessitam de um tempo maior no reator para oxidar o nitrogênio amoniacal (GUJER, 2010; HOSSAKA *et al.*, 2012; FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; WOSIACK *et al.*, 2015).

A segunda e última etapa do processo da remoção biológica de nitrogênio é a desnitrificação, na qual ocorre redução do nitrato a nitrito e, deste último, a nitrogênio gasoso (N₂) (Equações 2.4 a Equação 2.7).



Este processo ocorre em meio anóxico, na ausência de oxigênio livre. É realizado por bactérias heterótrofas facultativas, que utilizam os óxidos de nitrogênio ao invés do oxigênio como receptor final de elétrons e a matéria orgânica, de fonte endógena ou exógena, como fonte de carbono e energia. A presença de matéria orgânica também é necessária para fornecer alcalinidade ao meio, como no exemplo a seguir, utilizando o acetato como fonte de carbono (Equação 2.8) (CHERNICHARO, 2007; FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; VON SPERLING, 2017; ZOPPAS, BERNARDES, MENEGUZZI; 2016).



A rota simplificada da reação de desnitrificação é apresentada na Equação 2.9 (CHERNICHARO, 2007; VON SPERLING, 2017; FLECK; EYNG; TAVARES, 2015).



As espécies de bactérias desnitrificantes ou desnitrificantes parciais são do gênero *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, dentre outras. Estas culturas apresentam desenvolvimento relativamente fácil nos reatores biológicos, por serem menos sensíveis às condições ambientais (FLECK; EYNG; TAVARES, 2015).

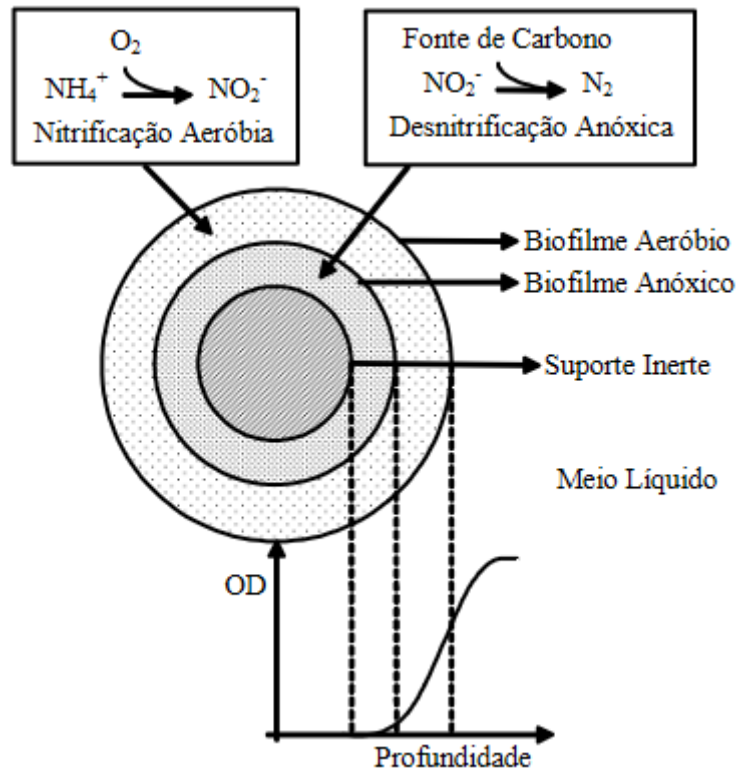
Os fatores mais importantes na desnitrificação são a temperatura, pH, OD e relação C/N. Durante a desnitrificação há geração de alcalinidade devido a redução de nitrato, que equivale a 3,57g mg CaCO₃ mgN⁻¹, e com isso há uma tendência no aumento do pH do meio. A velocidade de desnitrificação é máxima para uma faixa de pH entre 6,5 e 7,5 e em valores abaixo de 6,0 e acima de 8,5 há uma diminuição considerável na atividade desnitrificante. A desnitrificação possui uma faixa ótima de temperatura de operação entre 35 e 50 °C, porém temperaturas entre 20 e 30 °C são normalmente aplicadas, pois são as utilizadas nas estações de tratamento de efluentes líquidos (FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; METCALF; EDDY, 2003).

O processo de desnitrificação ocorre apenas em ambientes anóxicos e, por isso, a concentração de OD é um fator que deve ser verificado. Este processo é realizado, principalmente, por bactérias facultativas heterotróficas, que podem utilizar tanto oxigênio quanto nitrato como receptor de elétrons, dependendo da disponibilidade dos mesmos. Porém, na presença de oxigênio livre, este será o receptor utilizado, já que resulta em maior rendimento energético que o uso do nitrito ou nitrato, diminuindo a eficiência da desnitrificação. Para a desnitrificação, recomenda-se valores inferiores a $0,5 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ (CHERNICHARO, 2007; VON SPERLING, 2017; WOSIACK *et al.*, 2015; ZOPPAS, BERNARDES, MENEGUZZI; 2016). Fontes de carbono biodegradável devem estar disponíveis na zona anóxica, para que a relação carbono/nitrogênio seja suficiente para ocorrer a desnitrificação de todo o nitrato gerado no processo de nitrificação. Segundo Peng; Ma e Wang (2007), são necessários de 4 a 15 g DQO/g N para atingir ou alcançar boa eficiência de desnitrificação e, caso isso não seja possível devido a característica do afluente do processo, será necessário adicionar uma fonte externa de carbono. Deve-se escolher uma fonte externa de carbono que seja econômica e de fácil manuseio e armazenamento. As fontes mais utilizadas são acetato, metanol e etanol (FLECK; EYNG; TAVARES, 2015; SURAMPALLI *et al.*, 1997 WOSIACK *et al.*, 2015).

A desvantagem do processo convencional de nitrificação e desnitrificação em ambientes fisicamente separados são os elevados custos de construção e operação, pois será necessário um compartimento aeróbio para ocorrência da nitrificação e outro anóxico para a desnitrificação. A utilização de um sistema que combine estas duas etapas em um único compartimento, pode ser uma alternativa mais viável para remoção biológica conjunta de nitrogênio e DQO (MORITA *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2007).

No processo de NDS, a nitrificação e desnitrificação ocorrem em um mesmo compartimento, sob mesmas condições operacionais. Neste método, a nitrificação gera como produto nitrito ou nitrato, que são os reagentes da reação de desnitrificação. A alcalinidade consumida na nitrificação é, então, recuperada pelo processo de desnitrificação e, assim, ocorre a manutenção do pH na faixa ótima, entre 7,5 e 8,0, para as bactérias nitrificantes se desenvolverem. No biofilme microbiano formado, a população se distribui de acordo com a concentração de oxigênio dissolvido (OD). Na região com altas concentrações de OD fixam-se as bactérias nitrificantes, já na região interna do biofilme, com baixas concentrações de OD, fixam-se as desnitrificantes (Figura 2.2) (BARANA *et al.*, 2013; LIM *et al.*, 2012; MUNCH *et al.*, 1996; WOSIACK *et al.*, 2015).

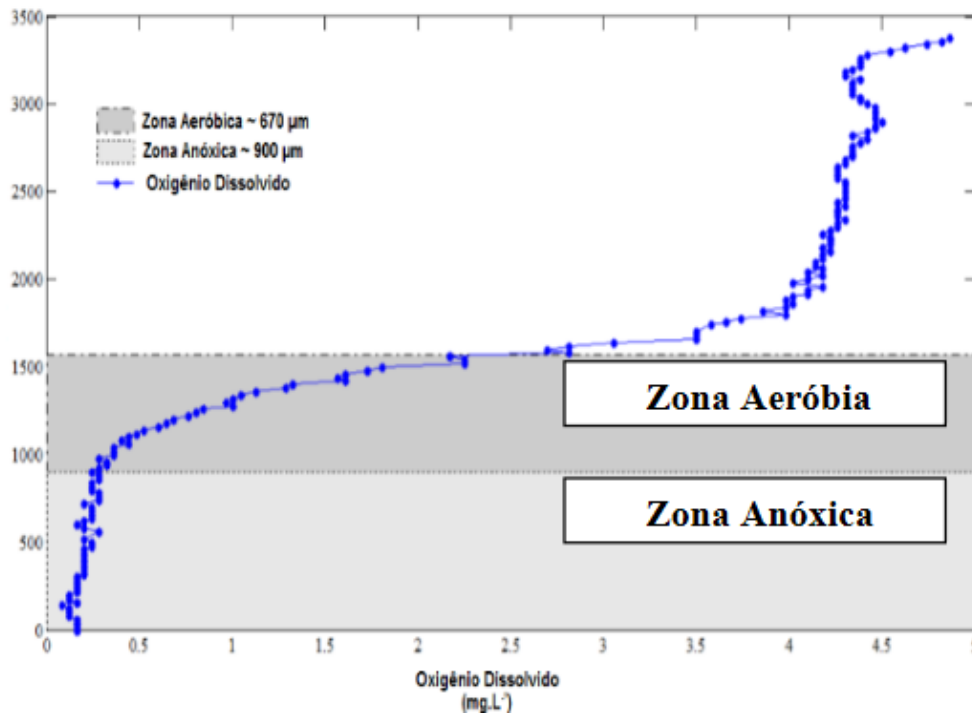
Figura 2.2 Representação do processo NDS em biofilme aderido em suporte inerte.



Fonte: ONO (2007)

Santos (2014), avaliando a influência da relação C/N e da fonte de carbono no processo NDS em um reator de fluxo contínuo e leito fixo estruturado de espuma de poliuretano, mediu a concentração de oxigênio em várias profundidades de uma amostra da espuma do leito fixo, utilizando um micros sensor de OD. A pesquisadora constatou que a adoção da espuma de poliuretano como meio suporte, mesmo com aeração, possibilitou um gradiente de concentração de oxigênio dissolvido (Figura 2.3), promovendo ao mesmo tempo condições aeróbias e anóxicas, adequadas para o desenvolvimento e a retenção da biomassa nitrificante e desnitrificantes, respectivamente.

Figura 2.3 Gradiente de OD em diferentes profundidades de espuma de poliuretano utilizado como material suporte para adesão e crescimento de microrganismos nitrificantes e desnitrificantes



Fonte: SANTOS (2014)

A utilização de reatores com biomassa imobilizada, como o reator de leito empacotado, é mais interessante quando comparada a reatores que utilizam microrganismos em suspensão. Os microrganismos em suspensão estão em contato direto com o efluente, móveis no meio líquido e podem ser descartados com o efluente tratado. Já no sistema de biomassa imobilizada, os microrganismos formam um biofilme aderido ao suporte inerte, conferindo maior resistência aos choques de carga e dificultando seu arraste com o efluente. Isso acontece pois os microrganismos presentes no biofilme liberam substâncias extracelulares, como proteínas, polissacarídeos e lipídios para facilitar sua adesão ao material suporte (ABREU; ZAIAT, 2008; HENRIQUE *et al.*, 2014; LEICK *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2012; SILVA; DAMIANOVIC; FORESTI, 2018; WOSIACK *et al.*, 2015).

Os fatores que influenciam o processo de NDS são a disponibilidade de carbono, a concentração de oxigênio e a espessura do biofilme. Como a concentração de oxigênio é um fator que influencia o processo de NDS, a aeração intermitente, juntamente com o gradiente de OD no biofilme, ajuda a estabelecer este processo. As vantagens da NDS quando comparados a sistemas de fases aeróbicas e anóxicas separadas são: economia de construção e operação do reator, economia de espaço e energia, pois os processos de nitrificação e desnitrificação ocorrem em um único reator, menor produção de lodo, quando comparado com sistemas convencionais,

pH mais estável e não há necessidade de aeração contínua (BARANA *et al.*, 2013; METCALF; EDDY, 2003; MOURA; DAMIANOVIC; FORESTI, 2012).

2.4 REATOR DE LEITO EMPACOTADO

A função de um reator biológico, ou biorreator, é prover um ambiente adequado e controlado para que a atividade microbiana presente no seu interior seja eficiente. A configuração do reator vai depender das condições que serão aplicadas, pois cada tipo de biorreator apresenta vantagens e desvantagens. Um reator de leito empacotado é um compartimento preenchido por um suporte inerte para que a biomassa cresça de forma aderida, formando um biofilme. Existem diferentes tipos de materiais utilizados para esta função, como espumas, pedregulhos, elementos cerâmicos, madeira, materiais plásticos e poliméricos. A principal função dos suportes é proporcionar maior contato entre os microrganismos aderidos e os compostos presentes no efluente, sendo possível melhorar a capacidade de tratamento devido ao aumento da velocidade de conversão de substrato (CAMPOS *et al.*, 2008; MOCKAITIS *et al.*, 2014; VON SPERLING, 2017). A maior vantagem de um reator que utiliza a biomassa aderida é a independência do TDH (Tempo de Detenção hidráulica) do TRC (Tempo de Retenção celular). Mesmo com baixo TDH é possível ter um alto TRC, melhorando a eficiência e estabilidade do sistema, pois há uma maior concentração de microrganismos no interior do reator, além da quantidade de sólidos presentes no efluente tratado serem baixos quando comparado com reator de biomassa em suspensão (VON SPERLING, 2017).

Vários estudos que utilizam reator com biomassa aderida para remoção de DQO e NT apresentaram bons resultados, mesmo com efluentes e condições operacionais diferentes, mostrando que este tipo de configuração de reator é eficiente. Duarte *et al.* (2021) avaliaram dois tipos de reatores anaeróbios, de leito empacotado e UASB, para recirculação de efluente nitrificado para proporcionar maior remoção de nitrogênio. Observaram que o reator de leito empacotado apresentou melhor eficiência de desnitrificação e de remoção de matéria orgânica quando comparado ao reator UASB. Segundo os autores, a presença de um meio suporte dificulta o arraste de lodo pelo efluente, o que melhorou o desempenho do tratamento. Rout *et al.* (2018) avaliaram a eficiência de um biorreator de leito empacotado para remoção de nutrientes em efluente doméstico. Foi obtida boa eficiência de remoção simultânea de nitrogênio amoniacal (87- 93%), nitrato (69-88,4), fósforo (84-100%) e DQO (69- 92%). Os autores citam que o biofilme aderido apresentou maior capacidade de remoção de DQO e melhor resistência ao choque de carga. Aquino; Fuess e Pires (2017) avaliaram o uso de dois

modelos de reatores anaeróbios com biomassa imobilizada para o tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar, verificando o comportamento dos diferentes arranjos dos meios sobre a produção e retenção da biomassa. Em um reator o material suporte (espuma de poliuretano) foi disposto de forma aleatória, e o outro reator foi preenchido com tiras de espuma de poliuretano dispostas verticalmente ao longo do leito. Foi observado que o arranjo do meiosuporte foi um fator determinante para a produção de biomassa, obtendo-se diferentes rendimentos de taxa de crescimento, mesmo com condições de operação equivalentes, no qual o reator com meio suporte disposto verticalmente teve um melhor desempenho.

Correa *et al.* (2016) avaliaram o efeito da aeração intermitente em um reator de fluxo contínuo com biomassa imobilizada na remoção de DQO e NT de esgoto sanitário. Em um TDH de 16h foi possível atingir eficiência de 88% para remoção de DQO e de 72% para remoção de NTK.

As microcervejarias nem sempre possuem uma ETE, pois precisariam de espaço e teriam custo extra para implantação e monitoramento do sistema. Assim, a grande maioria ou contrata empresas que fazem a coleta e destinação adequada deste efluente, ou, quando há autorização, o descartam na rede coletora de esgoto do município. Porém, o sistema de coleta e tratamento de esgotos de um município, originalmente, é projetado para tratamento de efluentes domésticos, e o descarte de um efluente com elevadas concentração de DQO e NT e em grandes volumes pode causar problemas ao sistema.

Às vezes, quando autorizado o despejo de outros efluentes na rede pública de coleta de esgoto, são estabelecidos limites de lançamento para se evitar a sobrecarga do sistema, que incluem carga máxima orgânica e volumétrica, de teor de sólidos suspensos, correção de pH e temperatura. Para se adequar às exigências locais, alguns estabelecimentos precisarão implantar um sistema de tratamento de tratamento prévio de efluentes, seja ele composto por processos físicos, químicos ou biológicos (BRIGGS *et al.*, 2004; PRIEST; STEWART, 2006).

2.5 MATERIAIS E MÉTODOS

2.5.1 Substrato

O substrato utilizado foi o efluente gerado por uma microcervejaria localizada no município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. O efluente foi coletado manualmente, com auxílio de baldes graduados, após a etapa de fervura da produção da cerveja tipo APA por ser a etapa identificada com a maior geração de resíduo líquido. Posteriormente a coleta, o efluente foi

transportado em galões de polipropileno de 20 L até o Laboratório de Estudos do Meio Ambiente (LEMA), no Campus Uvaranas, e armazenado em galões de polipropileno de 5 L a -18 °C.

Este efluente coletado na etapa da fervura posteriormente foi diluído conforme o cálculo do balanço mássico do Capítulo I desta pesquisa. Além disso, a concentração de NTK do substrato foi corrigido utilizando o descarte de levedura do tanque de fermentação. Esta solução do descarte da levedura foi analisada com relação a concentração de NTK, e posteriormente a adição no substrato foi conforme o estabelecido pela estratégia operacional.

2.5.2 Reator de leito empacotado

O tratamento do efluente foi realizado em um reator de leito empacotado. O reator foi construído em acrílico com volume total de 10 L e útil de 6 L. Tinha 60 cm de altura e diâmetro interno de 14,5 cm (Figura 2.4 e Figura 2.5). No interior do reator foram inseridas 947 unidades de miniBiobobs[®], que foram fornecidos pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental, localizada no município de São Carlos, no estado de São Paulo. A aeração do reator foi realizada através de três aeradores de aquário, marca Minjiang, modelo NS 350, providos de pedra porosa, instalados no fundo do reator. Os aeradores estavam conectados a um temporizador para promover diferentes períodos de aeração intermitente. A recirculação do efluente foi realizada com uma bomba da marca Prominent Dossier Technik, modelo GmbH. O efluente saía pelo topo do reator e entrava no reator novamente pela base, com uma vazão de recirculação de 3 mLs⁻¹. A temperatura interna foi mantida a 30°C, com o auxílio de um aquecedor de aquário ligado a um termostato (marca Atman AT-35w). A alimentação do reator foi realizada em batelada e pela parte superior do mesmo, de forma manual com o uso de um becker. A retirada de amostra e esvaziamento foi realizado pela parte inferior do reator, conforme demonstrado na Figura 2.4.

Figura 2.4 Representação esquemática do reator de leito empacotado utilizado: (1) Reator, (2) Termostato para controle de temperatura, (3) Bomba de recirculação, (4) Saída do efluente tratado, (5) Difusores de ar, (6) Alimentação de efluente, (7) MiniBiobob[®], (8) Temporizador, (9) Bombas de aeração.

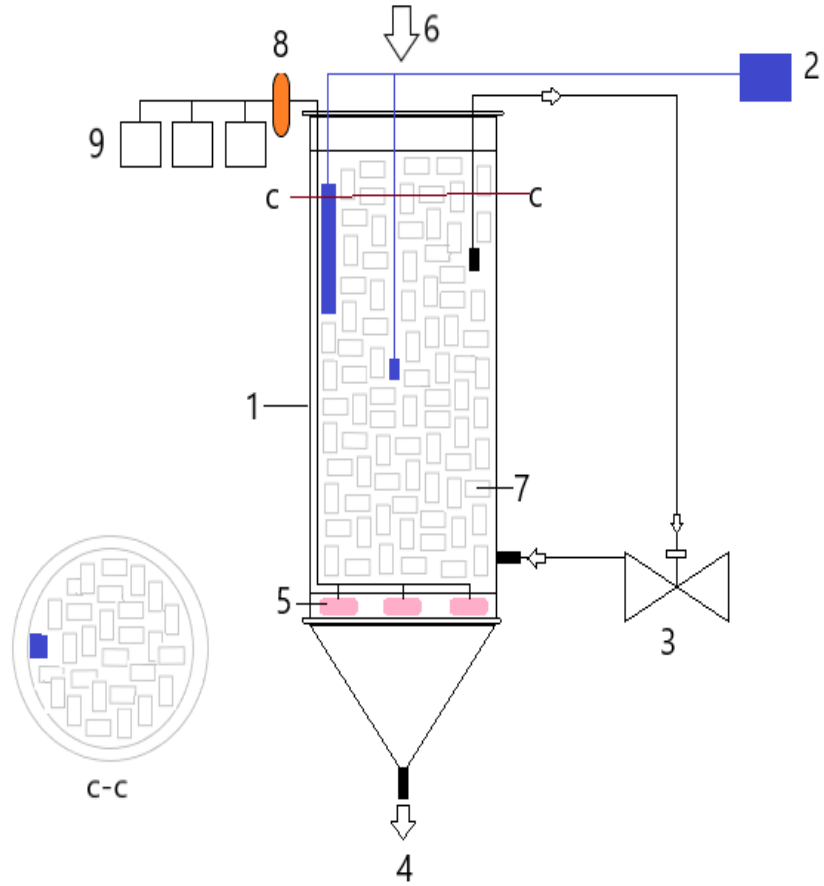


Figura 2.5 Reator de leito empacotado com recirculação e aeração intermitente: estrutura real.



A estratégia de alimentação em batelada do reator foi realizada conforme o seu TDH (Tabela 2.2). Após o término das bateladas da condição estudada, o reator era mantido em funcionamento com a mesma condição até o término da semana que acontecia o ensaio.

Tabela 2.2 Estratégia de alimentação para o sistema em batelada

TDH (h)	Horário de Alimentação do reator (h)	Tempo de espera até a próxima batelada (h)
12	7:00 e 19:00	0
16	16:00	8
20	12:00	3

2.5.3 Material suporte para fixação e crescimento dos microrganismos

O material de suporte utilizado para fixação e desenvolvimento dos microrganismos foram os miniBioBobs[®] (Figura 2.6), produzidos pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental. Os miniBioBobs[®] são compostos por uma estrutura externa de Polietileno de Alta Densidade (PEAD), com diâmetro de 1,5 cm e comprimento de 2,0 cm, e a sua parte interna é constituída por espuma de poliuretano (PU), com densidade de 28 kg/m³. Em estudo realizado por Moura *et al.* (2012), foi identificado que a espuma de poliuretano possui porosidade igual a 92%, sendo, então, um bom material para imobilização dos microrganismos devido à alta porosidade. Além disso, possui custo relativamente baixo e tem boa resistência mecânica. No total foram adicionados 947 mini BioBobs[®].

Figura 2.6 Estrutura do mini BioBob[®]. A) Espuma interna, sem a proteção de PEAD; B) Vista lateral do mini BioBob[®]. C) Vista superior do miniBioBob[®]



2.5.4 Inóculo

Para permitir uma partida rápida do reator, o material de suporte foi inoculado com 5 L de lodo proveniente do reator de lodos ativados da Cervejaria Heineken (25°09'38.7"S 50°07'25.0"W), localizada na cidade de Ponta Grossa, Paraná, Brasil (Figura 2.7). Esse lodo foi escolhido pelo fato de já estar adaptado ao efluente de cervejaria. O lodo foi imobilizado nos miniBiobobs[®] segundo metodologia descrita por Zaiat *et al.* (1994).

Figura 2.7 Estrutura do meio suporte: miniBiobobs® inoculados



2.5.5 Estratégia operacional e análise estatística

As condições operacionais foram definidas com base nos trabalhos realizados por Jenzura *et al.* (2018), Moura *et al.* (2012), Santos *et al.* (2016) e Wosiack *et al.* (2015). Para avaliar as melhores condições experimentais para remoção de DQO e NT, o trabalho foi separado em duas partes. Na primeira parte foram avaliados diferentes valores de TDH (12h, 16h e 20h) e tempo de aeração total (de 3h a 15h em ciclos de 4 h, conforme a Tabela 2.3), com relação DQO/NTK fixada em 40. Na segunda parte, algumas condições foram repetidas, porém com a relação DQO/NTK fixada em 100 (Tabela 2.3). A relação DQO/NTK foi alcançada a partir da adição do resíduo de levedura do tanque de fermentação, variando o valor de concentração de NTK_{afluente} em 20, 60 e 100 mg L⁻¹, além de ocasionar a variação da DQO. Foram realizadas 13 condições, no qual cada condição foi realizada em triplicata, totalizando 39 bateladas para coleta de amostras.

Tabela 2.3 Estratégia Operacional

Condição	TDH	Aeração Total (h)	Tempo de aeração (h) em um ciclo de 4 h	Relação DQO/NTK
Parte 1				
1	12	3	1	40
2	12	6	2	40
3	12	9	3	40
4	16	4	1	40
5	16	8	2	40
6	16	12	3	40
7	20	5	1	40
8	20	10	2	40
9	20	15	3	40
Parte 2				
10	12	6	2	100
11	16	4	1	100
12	16	12	3	100
13	20	10	2	100

As respostas de eficiência de remoção de DQO e eficiência de remoção de NT foram expressas em média simples das réplicas de cada experimento. Os resultados obtidos foram verificados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, que tem um melhor desempenho em amostras pequenas, para averiguar se os dados eram paramétricos ou não paramétricos, e a homogeneidade foi verificada pelo Teste de Levene. Para os dados considerados normais e homogêneos ($p > 0,05$), foi realizada análise de variância (Anova, p -valor $< 0,05$ foi considerado significativo) seguido do teste de Tukey (ao nível de significância de 95 %) para comparação de médias (GRANATO; CALADO; JARVIS, 2014; MIOT, 2017). Para avaliar a correlação entre as variáveis, foi aplicada a Correlação de Pearson, no qual este coeficiente é representado pela letra r , o qual pode assumir valores entre -1 a 1. Quando $r < 0$, isto é, correlação negativa, as variáveis são inversamente relacionadas. Se $r > 0$, a correlação é positiva, ou seja, as variáveis estão diretamente relacionadas (GRANATO; CALADO; JARVIS, 2014).

2.5.6 Métodos analíticos

Para verificar a estabilidade e eficiência do reator na remoção de DQO e NT, foram feitas análises de pH, Alcalinidade Total, Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Voláteis e Fixos (STV e STF), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis e Fixos (SSV e SSF), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), Nitrogênio

Amoniacal (N-NH₄), Nitrito (N-NO₂) e Nitrato (N-NO₃) (Tabela 2.4). As análises foram determinadas pelas metodologias seguindo padrões de APHA (2005), com exceção da alcalinidade que seguiu a metodologia proposta por DiLallo e Albertson (1961).

A correção da alcalinidade no afluente foi realizada antes do início de cada experimento com a adição de bicarbonato de sódio, no qual pela relação estequiométrica, para cada miligrama de nitrogênio é necessário 7,14 mg de carbonato de cálcio, e desta forma, para cada mg de carbonato de cálcio é necessário 1,65 mg de bicarbonato de sódio. O cálculo de alcalinidade teórica foi realizado de acordo com Roveroto (2021).

Para estimar a quantidade de biomassa imobilizada no meio suporte, foram utilizadas 100 unidades de miniBiobobs[®], no qual foi retirada a parte externa de PEAD. As espumas de poliuretano foram pressionadas manualmente 5 vezes cada com auxílio de água destilada. O volume total obtido foi submetido a análise de Sólidos Suspensos Totais.

Tabela 2.4 Parâmetros analíticos

Parâmetro	Unidade	Método
pH	-	Potenciométrico APHA (4500h + B)
Alcalinidade	mgCaCO ₃ L ⁻¹	DiLallo e Albertson (1961)
ST	mgL ⁻¹	Gravimétrico APHA (2540 G)
STV	mgL ⁻¹	Gravimétrico APHA (2540 G)
SST	mgL ⁻¹	Gravimétrico APHA (2540 D)
SSV	mgL ⁻¹	Gravimétrico APHA (2540 E)
DQO	mgL ⁻¹	Colorimétrico APHA (5220 D)
NTK	mgL ⁻¹	Micro Kjeldahl APHA (4500 N _{org} C)
N-NH ₄	mgL ⁻¹	Titulométrico APHA (4500 NH ₃ C)
N-NO ₂	mgL ⁻¹	Colorimétrico APHA (4500 NO ₂ B)
N-NO ₃	mgL ⁻¹	Colorimétrico APHA (4500 NO ₃ C)

Para calcular a eficiência do reator em relação à remoção de DQO, remoção de Nitrogênio Total, Nitrificação e Desnitrificação foram utilizadas as equações 2.10, 2.11, 2.12 e 2.13, respectivamente (WOSIACK *et al.*, 2015).

$$\text{Remoção DQO}(\%) = \frac{DQOa - DQOe}{DQOa} \times 100 \quad (2.10)$$

$$\text{Remoção Nitrogênio Total}(\%) = \frac{NTKa - NTKe - Nnitrito - Nnitrato}{NTKa} * 100 \quad (2.11)$$

$$\text{Nitrificação}(\%) = \frac{NTKa - NTKe}{NTKa} * 100 \quad (2.12)$$

$$\text{Desnitificação}(\%) = \frac{NTKa - NTKe - Nnitrito - Nnitrito}{NTKa - NTKe} * 100 \quad (2.13)$$

Onde:

DQOa= Demanda Química de Oxigênio afluente(mgL⁻¹);

DQOe= Demanda Química de Oxigênio efluente(mgL⁻¹);

NTKa= Nitrogênio Total Kjeldahl afluente(mgL⁻¹);

NTKe= Nitrogênio Total Kjeldahl efluente(mgL⁻¹);

N.nitrito = Nitrogênio na forma Nitrito(mgL⁻¹);

N.nitrato = Nitrogênio na forma Nitrato (mgL⁻¹)

2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.6.1 Remoção de DQO

A Tabela 2.5 apresenta a concentração de DQO do afluente e efluente nas diferentes condições empregadas, assim como a taxa de eficiência de remoção de DQO.

Tabela 2.5 Resultados da concentração de DQO do afluente e efluente do reator, eficiência de remoção de DQO.

Condição	DQO (mg L ⁻¹)		Remoção (%)
	Afluente	Efluente*	
Parte 1			
1	2504±229	140±6 ^{fg}	94,4 ± 0,6
2	3845±176	419±42 ^b	89,1 ± 0,8
3	2421±74	45±9 ^g	98,1 ± 0,4
4	3502±56	387±6 ^{bc}	88,9 ± 0,1
5	2412±21	60±8 ^g	97,5 ± 0,3
6	3976±278	134±25 ^{fg}	96,6 ± 0,5
7	2406±287	126±8 ^{fg}	94,8 ± 0,7
8	3439±278	251±9 ^{de}	92,7 ± 0,8
9	2584±36	176±37 ^{ef}	93,2 ± 1,3
Parte 2			
10	2095±39	533±4 ^a	74,6 ± 0,5
11	2046±27	287±98 ^{cd}	86,0 ± 4,9
12	2002±226	216±16 ^{def}	89,2 ± 1,3
13	2080±54	169±59 ^{ef}	91,9 ± 2,8

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se na Tabela 2.5 que a eficiência de remoção de DQO foi elevada durante todo o experimento, com taxas que variaram entre 74,6% e 98,1%. A concentração de DQO no afluente variou devido ao ajuste para chegar na relação DQO/NTK de 40 e de 100. A concentração de DQO no efluente variou entre 45 ± 9 e 533 ± 4 mg L⁻¹, apresentando diferença estatística entre as condições estudadas. Na condição 3, com TDH de 12h, aeração total de 9h e relação DQO/NTK de 40, foi possível obter a melhor eficiência de remoção de DQO, de $98,1 \pm 0,4$ %, com concentração efluente abaixo de 200 mg L⁻¹. Este é o valor máximo de DQO permitida para lançamento de efluentes de indústrias de bebidas, determinado pela Instrução Normativa nº03 – 001 da Secretaria Municipal de Meio Ambiente do município de Ponta Grossa (PONTA GROSSA, 2018).

A DQO efluente na condição 5 é estatisticamente iguala da condição 3, com valor de 60 mg L⁻¹, e com alta taxa de remoção de DQO, 97,5%. Esta condição apresenta TDH de 16h, aeração total de 8h e relação DQO/NTK de 40. As condições 1, 6, 7 e 9 apresentaram um valor final de DQO abaixo dos 200 mg L⁻¹, com relação DQO/NTK de 40 e tempos de aeração total de 3h, 12h, 5h e 15h, respectivamente. A condição 13 apresentou valor final de DQO abaixo dos 200 mg L⁻¹, com TDH de 20h, relação DQO/NTK de 100 e tempo de aeração total de 10h.

Na condição 10, com TDH 12h, relação DQO/NTK de 100 e aeração total de 6h, foi obtido a menor eficiência de remoção de DQO, com uma concentração final de 533 mg L⁻¹. As condições 2, 4, 8, 11 e 12 também apresentaram um valor final de concentração de DQO acima dos 200 mg L⁻¹. Pode-se verificar que nas condições 2 e 4 havia alta concentração de DQO afluente, no qual mesmo com alta remoção o valor da DQO_{efluente} ainda foi alto, e nas condições 11 e 12 a relação DQO/NTK_{afluente} foi alta, o que pode interferir na remoção de matéria orgânica.

Nas Figuras 2.8 e 2.9 são apresentados os gráficos com a concentração de DQO afluente e efluente, no qual percebe-se alta taxa de remoção de DQO em todas as condições estudadas (Figura 2.10).

Figura 2.8 Concentração de DQO Afluente e Efluente das condições com relação DQO/NTK=40

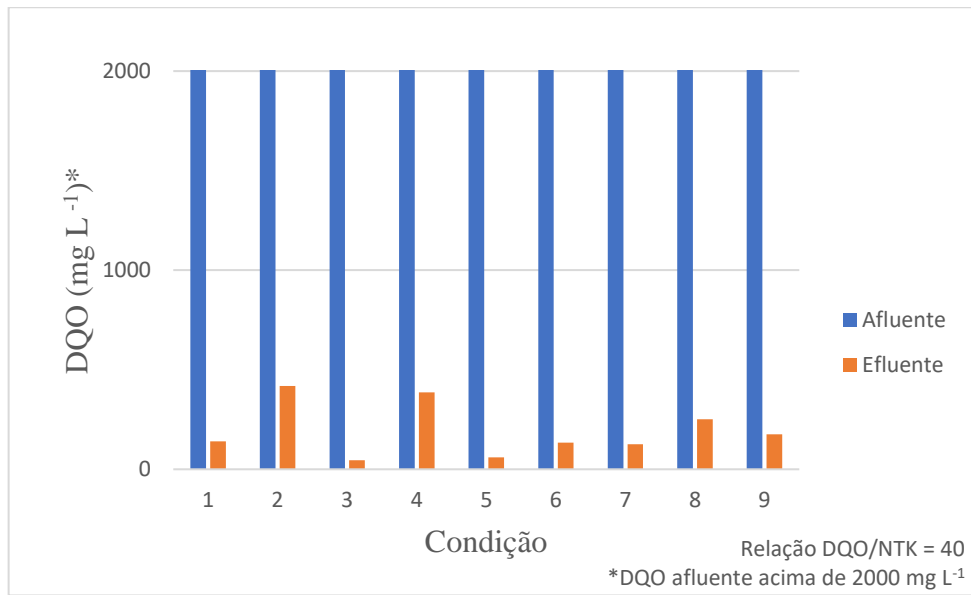


Figura 2.9 Concentração de DQO Afluente e Efluente das condições com relação DQO/NTK=100

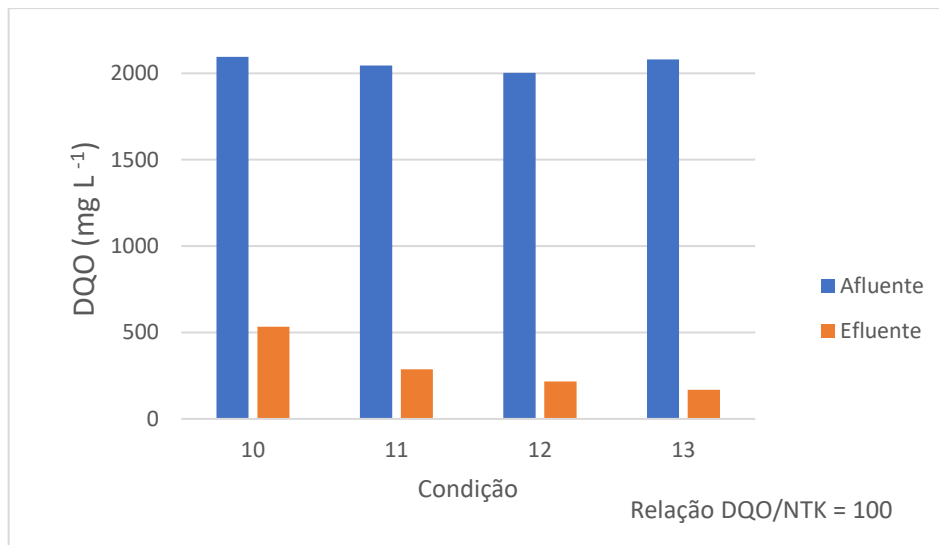
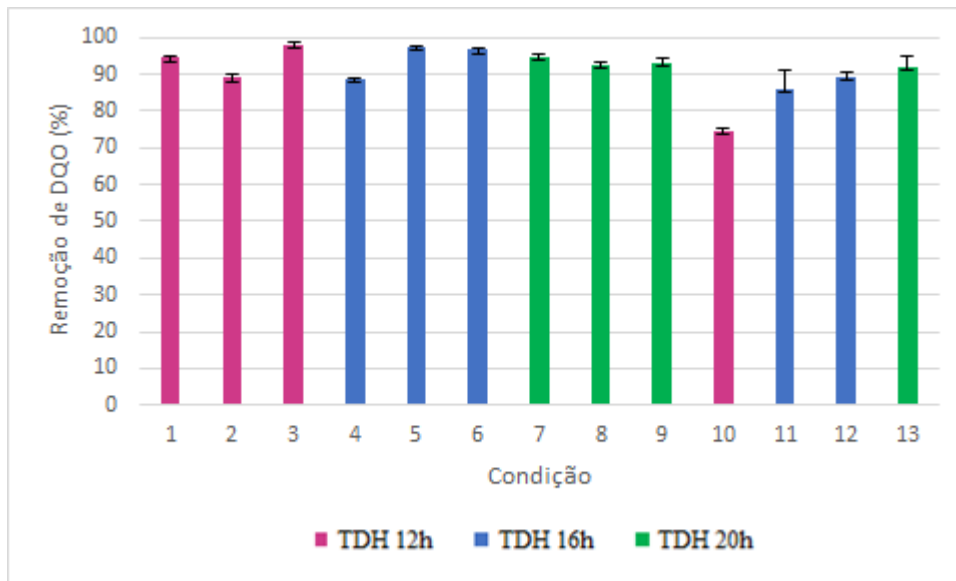


Figura 2.10 Eficiência de remoção de DQO



Pela correlação de Pearson, o tempo de aeração total apresentou uma baixa correlação com a remoção de DQO, com $r = 0,27$. Além de obtido um valor baixo para r , este não foi considerado significativo, ou seja, não se pode dizer que esta variável interferiu significativamente para remoção da DQO. A DQO foi removida ao longo de toda a batelada, tanto em períodos com aeração pelos microrganismos heterotróficos aeróbios como nos períodos sem aeração pelos microrganismos facultativos heterotróficos desnitrificantes. Em ambas as situações esses microrganismos utilizam a matéria orgânica como fonte de energia.

Foi verificado que a relação DQO/NTK de 40 apresentou melhores taxas de remoção que a relação DQO/NTK de 100. Pela correlação de Pearson a relação DQO/NTK apresentou valor $r = -0,68$, com $p < 0,05$, sendo uma correlação negativa significativa. Desta forma, quanto mais alta foi a relação DQO/NTK, menor foi a porcentagem de remoção de DQO. Isso pode ser verificado analisando as eficiências de remoção de DQO, no qual verificou-se que nas mesmas condições de TDH e Aeração total, com mudança apenas da relação DQO/NTK de 40 para 100, todas as taxas de eficiência caíram, pois, a quantidade de NTK disponível era menor (Condições 2 e 10, 4 e 11, 6 e 12, 8 e 13). A relação DQO/N influencia o crescimento da população de microrganismo presente no meio suporte, e com isso interferindo na remoção de DQO. Deve haver uma correta proporção entre carbono e nitrogênio disponível para que os microrganismos consigam consumir a matéria orgânica carbonácea presente do meio (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

Comparando em termos de eficiência de remoção de DQO o tratamento utilizado neste trabalho com outros trabalhos realizados com o objetivo em comum de tratar o efluente da

produção de cerveja (BAKARE; SHABANGU; CHETTY, 2017; BASSIN *et al.*, 2019; CHEN *et al.*, 2016; ENITAN *et al.*, 2018; HULTBERG; BODIN, 2019; PAPADOPOULOS *et al.*, 2020; RISSARDO *et al.*; 2019; SANTOS *et al.*, 2019; SERENO FILHO *et al.*, 2013; SINGH; BHUNIA; DASH, 2019), os valores encontrados neste estudo são promissores, com a maior porcentagem de remoção na condição 3, de 98,1%.

Santos *et al.* (2019) utilizando um processo de biorremediação com foco no cultivo heterotrófico de *Phormidium autumnale* para tratar efluente de cervejaria em uma única etapa, obtiveram concentração inicial de DQO de 1430,66 mg L⁻¹ e após o tratamento a concentração de DQO foi de 357,32 mg L⁻¹, com eficiência de remoção de 75%. Rissardo *et al.* (2019) realizando o tratamento de efluente de cervejaria por eletrocoagulação obtiveram remoção de 60%. Papadopoulos *et al.* (2020) combinaram a eletrocoagulação e o cultivo com cianobactérias para tratar efluente de cervejaria, obtendo eficiência de remoção de 91,6% da DQO. Chen *et al.* (2016) utilizando um reator de membrana anaeróbia avançado (AnMBR) obtiveram eficiência de remoção de DQO superior a 98%, além de bom rendimento de biogás. Bakare; Shabangu e Chetty (2017) avaliaram dois reatores em batelada sequencial (SBR) e foi obtido uma eficiência de remoção de DQO acima de 90% com baixa aeração contínua.

Correa *et al.* (2018) avaliaram a remoção de nitrogênio e matéria orgânica em esgoto sanitário real utilizando um reator com a biomassa aderida em espuma de poliuretano, operado em diferentes ciclos de aeração intermitente à 25°C, e como resultado obtiveram remoção de matéria orgânica acima de 80%, sendo considerado um sistema estável para remoção desse poluente. Moura *et al.* (2018) também avaliaram a remoção de matéria orgânica de esgoto sanitário utilizando um reator com biomassa imobilizada, recirculação e aeração intermitente, variando o tempo de aeração e o tempo de detenção hidráulica. Verificou-se alta eficiência de remoção de DQO, acima de 89%.

2.6.2 Remoção de nitrogênio

Os resultados referentes à remoção de nitrogênio são apresentados neste item. Na tabela 2.6 está apresentado os valores de concentrações do afluente (A) e efluente (E) de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺), Nitrito (N-NO₂⁻).

Tabela 2.6 Resultados das concentrações de NTK, NNH_4^+ , N-NO_2^- , N-NO_3^- do afluentes (A) e efluente (E) do reator.

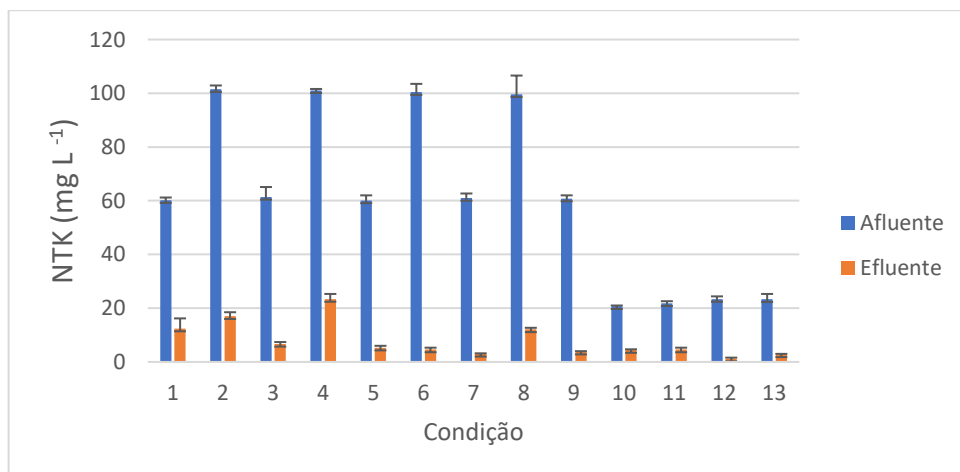
Condição	NTK (mg L^{-1})		N-NH ₄ (mg L^{-1})		N-NO ₂ ⁻ (mg L^{-1})	N-NO ₃ ⁻ (mg L^{-1})
	A	E*	A	E*	E*	E**
Parte 1						
1	60,2 ± 1,0	12,4 ± 3,8 ^c	3,83 ± 0,43	2,43 ± 1,06	0,09 ± 0,02 ^{ef}	n.d.
2	101,5 ± 1,4	17,0 ± 1,5 ^b	6,9 ± 0,16	2,52 ± 0,50	0,10 ± 0,02 ^{cdef}	n.d.
3	61,4 ± 3,7	6,7 ± 0,7 ^d	2,05 ± 0,43	0,75 ± 0,15	0,10 ± 0,01 ^{def}	n.d.
4	101,1 ± 0,5	23,4 ± 1,9 ^a	4,54 ± 0,38	0,97 ± 0,14	0,23 ± 0,00 ^a	n.d.
5	60,1 ± 1,9	5,3 ± 0,7 ^{de}	3,55 ± 0,58	0,75 ± 0,11	0,21 ± 0,01 ^a	n.d.
6	100,4 ± 3,1	4,6 ± 0,7 ^{def}	2,75 ± 0,59	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02 ^{ef}	n.d.
7	61,0 ± 1,7	3,0 ± 0,2 ^{def}	5,13 ± 0,32	2,27 ± 0,31	0,15 ± 0,02 ^b	n.d.
8	99,6 ± 7,0	12,1 ± 0,6 ^c	4,01 ± 0,90	0,65 ± 0,08	0,07 ± 0,00 ^f	n.d.
9	60,8 ± 1,2	3,8 ± 0,2 ^{def}	4,29 ± 1,59	0,93 ± 0,27	0,10 ± 0,03 ^{cdef}	n.d.
Parte 2						
10	20,7 ± 0,3	4,4 ± 0,3 ^{def}	2,13 ± 0,41	0,73 ± 0,05	0,14 ± 0,00 ^{bc}	n.d.
11	21,8 ± 0,8	4,6 ± 0,7 ^{def}	4,2 ± 0,56	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,01 ^a	n.d.
12	23,4 ± 1,0	1,2 ± 0,4 ^f	1,49 ± 0,16	0,19 ± 0,04	0,10 ± 0,01 ^{bcdef}	n.d.
13	23,3 ± 2,0	2,8 ± 0,2 ^{ef}	3,55 ± 0,10	1,31 ± 0,10	0,12 ± 0,01 ^{bcde}	n.d.

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** Não foram detectadas concentrações de nitrato no efluente do reator.

Na figura 2.11 é apresentado o gráfico das concentrações de NTK do afluentes e efluente das condições estudadas.

Figura 2.11 Concentrações de NTK no Afluentes e Efluente em cada condição avaliada

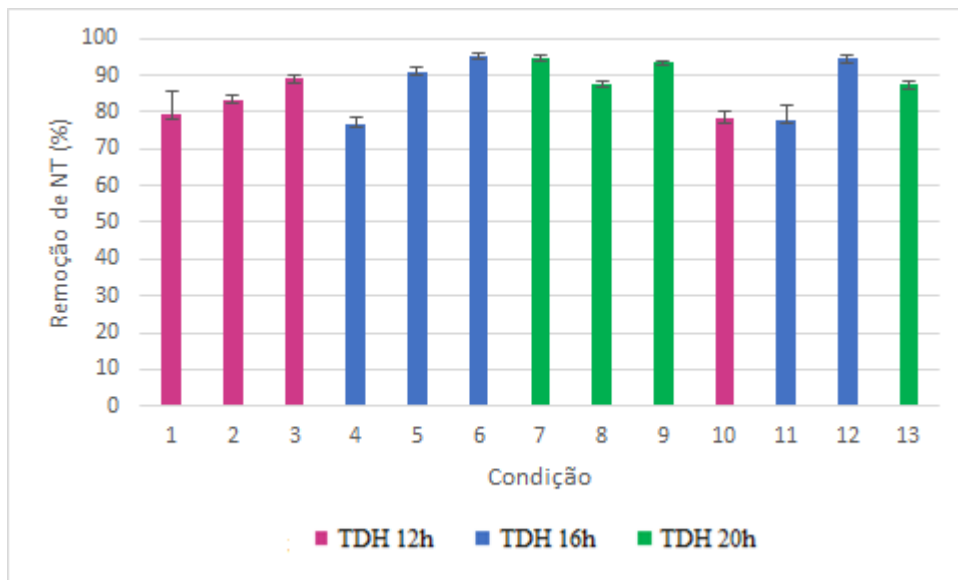


As eficiências de nitrificação, desnitrificação e a porcentagem da eficiência de remoção de Nitrogênio Total (NT) são apresentadas na Tabela 2.7 e na Figura 2.12.

Tabela 2.7 Eficiências de nitrificação, desnitrificação e remoção de NT.

Condição	Nitrificação (%)	Desnitrificação (%)	Remoção de NT (%)
Parte 1			
1	79,40 ± 6,26	99,81 ± 0,06	79,25 ± 6,29
2	83,25 ± 1,44	99,88 ± 0,02	83,15 ± 1,46
3	89,09 ± 0,96	99,82 ± 0,00	88,93 ± 0,96
4	76,85 ± 1,83	99,70 ± 0,01	76,63 ± 1,84
5	91,18 ± 1,32	99,62 ± 0,02	90,83 ± 1,34
6	95,42 ± 0,64	99,92 ± 0,02	95,34 ± 0,64
7	95,08 ± 0,34	99,74 ± 0,03	94,84 ± 0,35
8	87,89 ± 0,32	99,92 ± 0,01	87,82 ± 0,33
9	93,75 ± 0,23	99,82 ± 0,05	93,59 ± 0,27
Parte 2			
10	78,74 ± 1,96	99,14 ± 0,07	78,07 ± 2,00
11	78,90 ± 3,55	98,90 ± 0,12	78,03 ± 3,61
12	94,87 ± 1,32	99,55 ± 0,06	94,44 ± 1,25
13	87,98 ± 0,84	99,41 ± 0,06	87,47 ± 0,88

Figura 2.12 Eficiência de Remoção de NT em cada condição avaliada



Os valores de NTK do efluente variaram entre 1,2 e 23,4 mg L⁻¹ e os valores de Nitrogênio Amoniacal com relação ao efluente atenderam a Resolução CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011), no qual o padrão de lançamento de nitrogênio amoniacal é de até 20 mg L⁻¹.

A partir dos dados obtidos, foi constatado que ocorreu o processo NDS no reator, com valores acima de 76,85% e 99% para nitrificação e desnitrificação, respectivamente. Isso pode ser afirmado, pois houve baixa concentração de nitrito e não foi detectado nitrato no efluente, indicando que ocorreu em um mesmo reator e sob mesmas condições operacionais nitrificação e desnitrificação de forma equilibrada. A maior porcentagem de remoção de NT foi de 95,34%, obtida na condição 6, com TDH de 16h, tempo de aeração total de 12h e relação DQO/NTK de 40. A menor porcentagem de remoção de NT foi de 76,63% na condição 4, com TDH de 16h, tempo de aeração total de 4h e relação DQO/NTK de 40. Pode-se observar que a diferença entre as condições 8 e 4 está na variável tempo de aeração total, no qual um menor tempo de aeração resultou em uma menor eficiência de remoção de NT, pois afetou as bactérias nitrificantes do sistema. Além disso, é possível perceber que nas mesmas condições de TDH e Aeração Total, apenas modificando a relação DQO/NTK de 40 para 100, ocorreu uma queda na eficiência da Remoção de NT, pois uma alta relação de C/N influencia na competição por oxigênio dissolvido entre os microrganismos autotróficos nitrificantes e heterotróficos, sendo um processo limitante na remoção de NT.

Pela correlação de Pearson a variável Aeração Total foi a única significativa ($p < 0,05$) para Remoção de NT, com $r = 0,73$. Tanto o TDH quanto a relação DQO/NTK não foram obtidas correlações significativas, com $r = 0,49$ e $r = -0,25$, respectivamente. A correlação entre Remoção de NT e a Remoção de DQO possui $r = 0,61$ ($p < 0,05$), ou seja, quanto maior foi a remoção de NT, maior foi a remoção de DQO. A concentração de nitrito na saída foi baixa, variando de 0,07 a 0,23 mg L⁻¹, já com relação a concentração de nitrato, não foi identificado em nenhuma amostra de saída.

A nitrificação é um processo que ocorre na presença de oxigênio e consiste na oxidação da amônia a nitrito, e posteriormente em nitrato. Esta etapa foi limitante para a remoção de NT, variando de 76,85% a 95,42%. Pela correlação de Pearson, foi possível observar que o valor de r para a correlação entre Nitrificação e o tempo de aeração total foi de 0,73 ($p < 0,05$), ou seja, quanto maior foi o tempo de aeração total, maior foi a porcentagem de nitrificação. Tanto para o TDH quanto para relação DQO/NTK não foram obtidos valores significativos, com $r = 0,50$ e $r = -0,23$, respectivamente. Os valores obtidos de nitrificação podem ter sido inferiores aos de desnitrificação, pois as bactérias nitrificantes autotróficas possuem velocidade de crescimento inferior as bactérias heterotróficas que fazem a desnitrificação (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

Os valores de nitrito no efluente foram abaixo de 0,23 mg L⁻¹, não sendo um inibidor da etapa de desnitrificação, já que valores de nitrito acima de 1mgL⁻¹ podem interferir na eficiência

de desnitrificação (ZENG *et al.*, 2003; DE KREUK; BRUIN, 2004). A eficiência de Desnitrificação, que é um processo realizado em ambiente anaeróbico no qual ocorre a conversão do nitrato a nitrogênio gasoso, foi alta em todas as condições, acima de 98,90%, indicando que havia substrato facilmente degradável para o processo, não sendo um fator limitante nesta etapa. Pela correlação de Pearson, a relação DQO/NTK foi a única variável significativa ($p < 0,05$), com $r = -0,85$, ou seja, maior foi a desnitrificação quanto menor foi a relação DQO/NTK, pois a desnitrificação depende da disponibilidade de matéria orgânica para ocorrer redução de nitrato/nitrito. TDH e Aeração Total não foram variáveis significativas ($p > 0,05$), com $r = 0,08$ e $r = 0,31$, respectivamente.

Oliveira *et al.* (2021) avaliaram a remoção simultânea de matéria orgânica e de nitrogênio de esgoto sintético em um reator com biomassa aderida com aeração intermitente e TDH de 10h, variando o tempo de aeração (0,69 h a 2,81 h) e a taxa do fluxo de ar (2,4 L min⁻¹ a 6,6 L min⁻¹). Foram obtidas eficiências de remoção de DQO entre 80 e 99%, no qual a recirculação não influenciou nestas eficiências. Tanto a eficiência de nitrificação como a de desnitrificação foram influenciadas pelo tempo de aeração e o fluxo de ar, pois estes fatores afetam a concentração das diferentes formas de nitrogênio no reator. Foi relatado que a nitrificação foi favorecida quando houve o aumento do tempo de aeração e fluxo de ar, enquanto a desnitrificação foi favorecida com menores tempos de aeração e de fluxo de ar. Além disso, o estudo demonstrou que altas taxas de eficiências são possíveis mesmo sem recirculação, o que geraria economia de energia, e que a relação DQO/N pode interferir nos valores ótimos encontrados para o tempo de aeração.

Jenzura *et al.* (2018) avaliaram a remoção simultânea de DQO e NT de esgoto sanitário em um reator com biomassa imobilizada com recirculação e aeração intermitente, à 30 °C, variando o TDH em 8, 10 e 12h. Foi verificado que o TDH e os níveis de aeração estudados não interferiram na eficiência de remoção de DQO, que foi alta. Para nitrificação e desnitrificação foram obtidas altas taxas de eficiências, e conseqüentemente, alta taxa de remoção de NT. Isso foi possível, pois a relação C/N foi baixa, o que diminui a competição por OD entre os microrganismos aeróbios heterotróficos e autotróficos nitrificantes. Além disso, a utilização de meio suporte de poliuretano possibilitou a ocorrência de um meio aeróbio e anóxico, o que permitiu a ocorrência da nitrificação na parte mais externa do suporte, e a desnitrificação na parte mais interna, devido à diferença de gradiente de OD no meio.

Chen *et al.* (2016) avaliaram o uso de um reator de membrana anaeróbia avançado para remoção de matéria orgânica em efluente de cervejaria, com TDH de 44h a 35 °C. O NT inicial médio ficou em 180 ± 100 mg L⁻¹, sendo obtido uma remoção de NT de 54%. Singh *et al.* (2019)

utilizaram um sistema de vermifiltração para o tratamento de efluente de cervejaria, que tinha uma média de 96,16 mg L⁻¹ de NT. Nas melhores condições, foi obtida uma eficiência de remoção de NT baixa, de 20 a 23%. Papadopoulos *et al.* (2020) investigaram a combinação de duas tecnologias para tratamento de efluente de cervejaria, a eletrocoagulação para remoção de turbidez e posteriormente o cultivo a base de cianobactérias. Foram obtidas altas taxas de remoção, 100% de amônio e de 89,4% para NTK.

A partir destes estudos e analisando os resultados obtidos neste trabalho, é possível utilizar a tecnologia do reator de leito empacotado com aeração intermitente, com meio suporte de espuma de poliuretano, para remoção de carbono e nitrogênio de efluente de cervejaria, obtendo altas taxas de remoção destes componentes.

2.6.3 Alcalinidade e pH

Na Tabela 2.8 estão apresentados os valores de pH e alcalinidade de entrada e saída do reator. A alcalinidade de entrada foi corrigida com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) de acordo com o valor de concentração de NTK do afluente como forma de suprir a demanda necessária para que ocorresse a nitrificação do mesmo, pois em estudo realizado por Roveroto *et al.* (2021), foi demonstrado que a alcalinidade é um fator importante a ser corrigido, visto que promove um aumento da eficiência de remoção de NTK e DQO no processo.

Tabela 2.8 Resultados de pH afluente (A) e efluente (E), com as respectivas concentrações de alcalinidade.

Condição	pH		Alcalinidade total (mgCaCO ₃ L ⁻¹)		
	A*	E*	A	E _{real}	E _{teórica}
Parte 1					
1	7,31 ± 0,03 ^{abc}	7,68 ± 0,21 ^{abc}	418,67 ± 15,31	384,00 ± 50,74	342,15 ± 13,20
2	7,62 ± 0,23 ^{ab}	7,67 ± 0,23 ^{bc}	610,00 ± 19,08	549,02 ± 56,35	490,60 ± 23,88
3	7,37 ± 0,04 ^{abc}	7,60 ± 0,05 ^{abc}	402,00 ± 3,00	362,33 ± 29,16	354,48 ± 5,13
4	6,93 ± 0,03 ^{bc}	6,99 ± 0,03 ^{abc}	669,23 ± 14,92	494,03 ± 9,88	495,08 ± 22,25
5	7,35 ± 0,42 ^{abc}	7,31 ± 0,08 ^{abc}	435,34 ± 6,03	412,98 ± 52,83	391,87 ± 3,77
6	7,66 ± 0,04 ^{ab}	7,85 ± 0,35 ^a	635,93 ± 42,68	500,87 ± 78,86	594,29 ± 40,05
7	7,57 ± 0,22 ^{ab}	7,61 ± 0,10 ^{abc}	439,57 ± 7,85	432,07 ± 12,79	423,51 ± 9,01
8	8,05 ± 0,05 ^a	7,87 ± 0,24 ^{ab}	578,93 ± 58,71	483,12 ± 3,08	484,73 ± 64,29
9	7,29 ± 0,44 ^{abc}	7,50 ± 0,43 ^{abc}	431,10 ± 4,03	337,77 ± 11,08	398,11 ± 0,24
Parte 2					
10	6,79 ± 0,03 ^c	7,03 ± 0,03 ^{abc}	127,92 ± 0,40	119,21 ± 0,57	95,98 ± 4,79
11	7,08 ± 0,18 ^{bc}	6,90 ± 0,25 ^c	136,87 ± 12,69	121,33 ± 11,35	88,35 ± 18,71
12	6,97 ± 0,01 ^{bc}	7,04 ± 0,03 ^{abc}	133,17 ± 0,64	128,07 ± 1,65	121,17 ± 2,13
13	7,17 ± 0,64 ^{bc}	7,10 ± 0,76 ^{abc}	124,30 ± 4,18	96,37 ± 13,63	105,28 ± 6,67

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que os valores do pH do afluente e efluente variaram de 6,79 até 8,05 e de 6,90 até 7,87, respectivamente, estando próximas das faixas ótimas de atuação das bactérias nitrificantes (7,0- 8,0) e desnitrificantes (6,5-8,0), favorecendo a atuação dos microrganismos nitrificantes, desnitrificantes e heterotróficos aeróbios (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

A alcalinidade é um parâmetro importante de ser analisado, pois é essencial que haja um equilíbrio no sistema para que os processos de nitrificação e desnitrificação ocorram adequadamente. Durante a nitrificação há consumo de alcalinidade, cerca de 7,14 mgCaCO₃ L⁻¹ por mg de N-NH₄⁺ oxidado a nitrito ou nitrato, no processo de desnitrificação há reposição de parte da alcalinidade, uma parcela de 50%, ou seja, há geração de 3,57 mgCaCO₃L⁻¹ por mg de N-NO₃⁻ desnitrificado, e no processo de amonificação há a geração de 3,57 mgCaCO₃L⁻¹ de N-orgânico amonificado. Se caso toda a alcalinidade for consumida não há alcalinidade suficiente para tamponar o meio, e o processo de nitrificação pode não ocorrer devido ao decréscimo do pH, no qual há inibição da atividade das bactérias nitrificantes (BUENO *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2021; WEF, 2010).

Na tabela 2.8 é possível observar que a alcalinidade do efluente é um pouco menor que do afluente, indicando a presença do processo NDS, no qual ocorreu consumo de alcalinidade

na nitrificação e ainda houve a reposição de alcalinidade na etapa de desnitrificação. Em todas as condições testadas, as eficiências de desnitrificação foram superiores a 98%, indicando que houve a reposição da alcalinidade do meio. Com base nos dados, foi realizado o cálculo da alcalinidade teórica de saída e comparada com a alcalinidade real obtida na saída através de teste de hipótese (teste T) para duas amostras, que revela se há diferença estatística entre estas duas médias. Foi obtido o $p\text{-valor}=0,99$, com nível de significância de 95%, ou seja, não houve diferença estatística, pois está acima de $p\text{-valor}=0,05$, então não há diferença significativa entre duas médias, o que comprova a ocorrência do processo NDS em único reator.

2.6.4 Avaliação dos Sólidos Totais e Sólidos Suspensos

A análise de série de sólidos é importante de ser realizada para conhecer as características físicas dos sólidos presentes do efluente, e desta forma é possível determinar a melhor forma de remoção dos mesmos, seja por oxidação biológica, coagulação ou sedimentação por exemplo. A Tabela 2.9 apresenta os resultados de Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Fixos (STF) e Sólidos Totais Voláteis (STV) do afluente e efluente em todas as condições. É possível verificar que a concentração de sólidos totais diminuiu no efluente em todas as condições, no qual a concentração mínima de ST no efluente foi de 164 mg L^{-1} e a concentração máxima de ST foi de 568 mg L^{-1} .

Tabela 2.9 Resultados da concentração de sólidos totais, sólidos totais fixos e sólidos totais voláteis do afluente (A) e efluente (E) do reator.

Condição	Sólidos Totais (mg L ⁻¹)		Sólidos Totais Fixos (mg L ⁻¹)		Sólidos Totais Voláteis (mg L ⁻¹)	
	A*	E*	A	E*	A	E
Parte 1						
1	2139 ± 4 ^{cde}	294 ± 8 ^{def}	197 ± 14	185 ± 17 ^{cd}	1942 ± 15	109 ± 16
2	2569 ± 40 ^{ab}	382 ± 18 ^{cd}	493 ± 9	359 ± 10 ^a	2076 ± 48	23 ± 5
3	2156 ± 43 ^{bcde}	490 ± 16 ^{ab}	244 ± 19	226 ± 10 ^{bc}	1912 ± 61	264 ± 20
4	2351 ± 38 ^{bc}	479 ± 36 ^{ab}	571 ± 6	382 ± 16 ^a	1780 ± 43	97 ± 22
5	2384 ± 46 ^{bc}	446 ± 26 ^{bc}	257 ± 15	252 ± 7 ^b	2127 ± 50	194 ± 31
6	2524 ± 77 ^{abc}	568 ± 86 ^a	548 ± 14	350 ± 57 ^a	1976 ± 64	218 ± 19
7	2118 ± 15 ^{cde}	255 ± 33 ^{efg}	210 ± 18	231 ± 18 ^{bc}	1907 ± 9	24 ± 3
8	2496 ± 93 ^a	368 ± 13 ^{cd}	558 ± 30	326 ± 16 ^a	1938 ± 180	42 ± 11
9	2186 ± 99 ^{bcd}	334 ± 15 ^{de}	252 ± 20	246 ± 17 ^{bc}	1934 ± 17	88 ± 32
Parte 2						
10	1872 ± 29 ^{def}	204 ± 22 ^{fg}	164 ± 11	42 ± 8 ^f	1708 ± 23	162 ± 29
11	1466 ± 38 ^f	450 ± 14 ^{bc}	182 ± 8	148 ± 11 ^{de}	1284 ± 44	302 ± 10
12	1860 ± 36 ^{def}	212 ± 8 ^{fg}	157 ± 9	61 ± 3 ^f	1703 ± 45	151 ± 9
13	1734 ± 6 ^{ef}	164 ± 37 ^g	182 ± 6	96 ± 9 ^{ef}	1552 ± 12	68 ± 19

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em reatores aeróbios é necessário ter um decantador secundário para separar o efluente tratado dos sólidos. Estes decantadores secundários removem entre 40 e 60% de ST (VON SPERLING, 2017). Em todas as condições estudadas, a eficiência de remoção de ST variou entre 77 e 91% (Figura 2.14), e a eficiência de remoção de STV variou entre 76 e 99%, indicando que esta configuração de reator promove boa remoção destes sólidos.

Na Tabela 2.10 estão demonstrados os resultados da concentração dos sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) do afluente e efluente, e é possível observar que os valores de SST do efluente variaram de 10 a 186 mg L⁻¹. Estes valores são muito mais baixos quando comparados com os valores de SST do afluente, o que significa que houve boa aderência da biomassa no meio suporte miniBiobobs[®], sendo benéfico quando comparado com sistemas de tratamento de remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada convencionais, pois neste sistema estudado é possível conseguir um efluente já clarificado devido à imobilização da biomassa (MOURA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

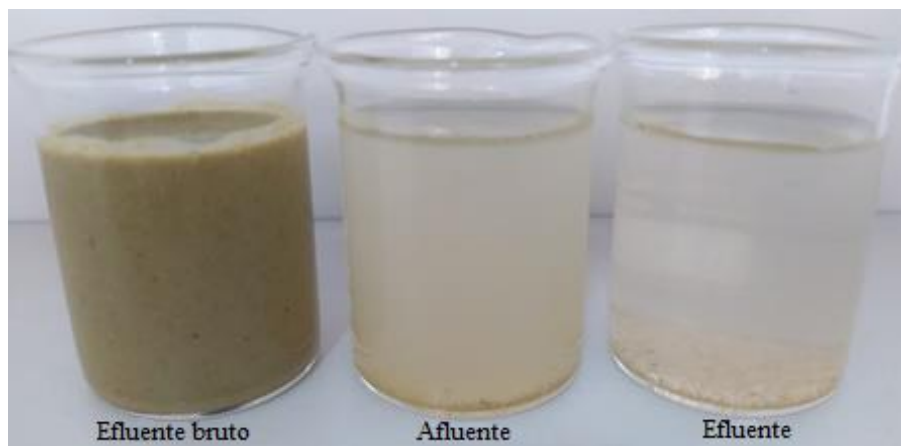
Tabela 2.10 Resultado da concentração de sólidos suspensos totais, sólidos suspensos fixos e sólidos suspensos voláteis do afluente (A) e efluente (E) do reator.

Condição	SST (mg L ⁻¹)		STF (mg L ⁻¹)		STV (mg L ⁻¹)	
	A*	E*	A*	E*	A	E
Parte 1						
1	433 ±37 ^{cde}	47 ±11 ^{defgh}	21 ±9 ^{defg}	18 ±7 ^{def}	412 ±34	29 ±9
2	613 ±26 ^a	94 ±12 ^{cd}	75 ±11 ^a	68 ±9 ^{ab}	538 ±33	26 ±4
3	571 ±13 ^{ab}	25 ±3 ^{fgh}	11 ±6 ^g	6 ±2 ^f	560 ±61	19 ±4
4	573 ±32 ^{ab}	78 ±14 ^{cde}	42 ±10 ^{bcde}	28 ±6 ^{de}	531 ±56	50 ±11
5	376 ±33 ^e	71 ±14 ^{cdef}	19 ±5 ^{efg}	13 ±2 ^{ef}	357 ±23	58 ±9
6	396 ±57 ^{de}	39 ±5 ^{gh}	54 ±9 ^{abc}	35 ±4 ^{cd}	342 ±36	4 ±0
7	418 ±82 ^{cde}	62 ±22 ^{cdefg}	54 ±7 ^{abc}	48 ±8 ^{bc}	364 ±30	14 ±5
8	518 ±82 ^{abcd}	108 ±33 ^{bc}	62 ±8 ^{ab}	74 ±12 ^a	456 ±39	34 ±8
9	525 ±44 ^{abcd}	51 ±14 ^{defgh}	43 ±7 ^{bcd}	36 ±4 ^{cd}	482 ±47	15 ±5
Parte 2						
10	187 ±22 ^f	14 ±6 ^{gh}	13 ±1 ^g	8 ±2 ^f	174 ±12	6 ±1
11	540 ±38 ^{abc}	148 ±24 ^{ab}	24 ±8 ^{defg}	18 ±5 ^{def}	516 ±43	130 ±12
12	414 ±56 ^{cde}	186 ±24 ^a	36 ±6 ^{cdef}	29 ±4 ^{cde}	378 ±27	157 ±17
13	158 ±17 ^f	10 ±4 ^h	12 ±3 ^g	4 ±1 ^f	146 ±21	6 ±0

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 2.13 é possível observar o efluente bruto da microcervejaria obtido na etapa da fervura, o afluente (que é o efluente bruto diluído) e o efluente após tratamento na condição 4, no qual verificou-se que a turbidez diminuiu no efluente quando comparado com o afluente.

Figura 2.13 Recipientes contendo efluente bruto, afluente do reator e efluente do reator, respectivamente.



Nas Figuras 2.14 e 2.15 é possível observar no gráfico que ocorreu uma alta taxa de remoção de ST em todas as condições, acima de 70%, e verifica-se por meio dos valores de

SST do afluente e efluente que o meio suporte feito com espuma de poliuretano conseguiu reter a biomassa em todas as condições, possibilitando o processo NDS no reator.

Figura 2.14 Concentração de Sólidos Totais e Sólidos Suspensos Totais do afluente e efluente do reator.

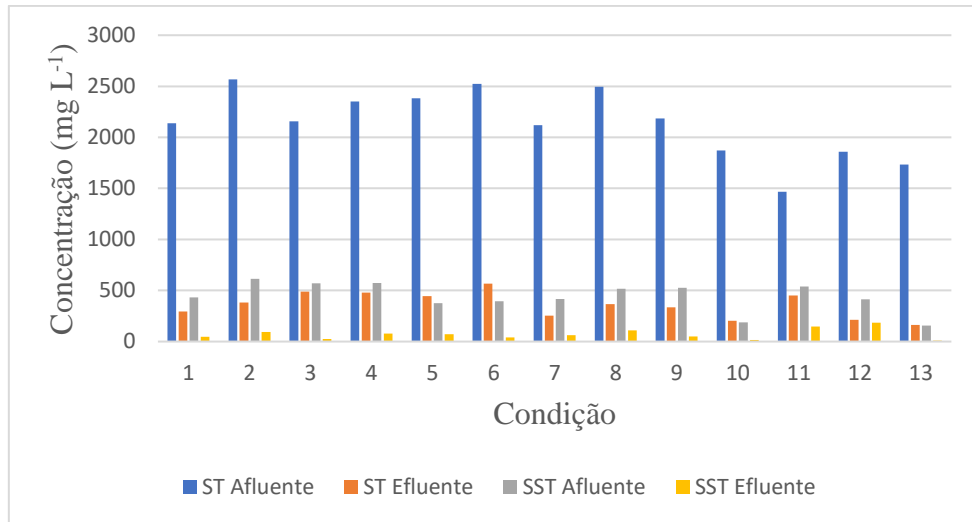
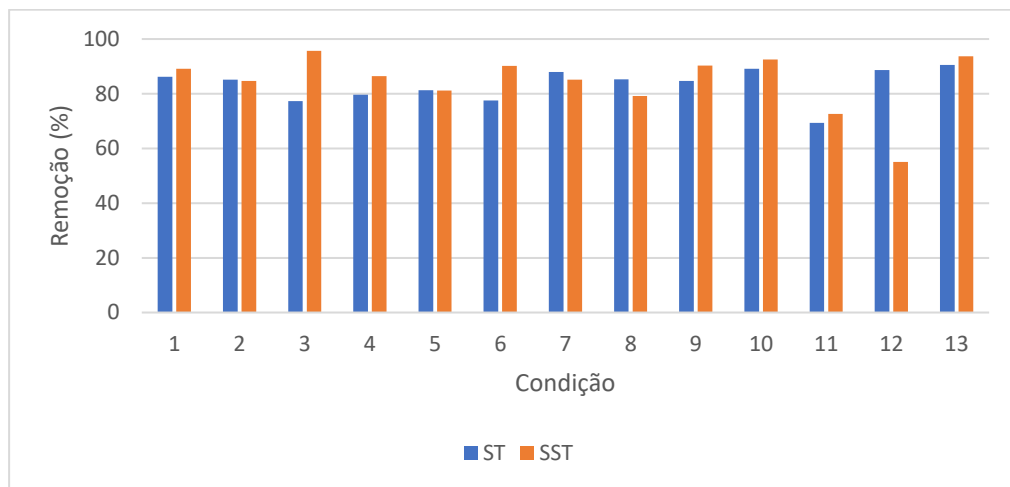


Figura 2.15 Eficiência de Remoção de Sólidos Totais e Sólidos Suspensos Totais do reator.



Foi possível estimar a quantidade de biomassa imobilizada nos miniBiobobs[®] no interior do reator. Foi obtido 52338 mgSST L⁻¹, o que pode indicar elevada concentração de microrganismos no meio suporte, o que conseqüentemente, possibilitou este modelo de reator ter ótimos valores de remoção de DQO e NT. Além disso, devido à imobilização da biomassa, o sistema se apresentou bastante estável perante as mudanças nas condições estudadas.

A composição do efluente de cervejaria varia bastante entre uma cervejaria e outra, o que poderia interferir na eficiência do reator. Porém, como visto, mesmo com as variações na

composição, ainda é possível alcançar bons resultados de remoção simultânea de carbono e nitrogênio. Este sistema foi aplicado em batelada justamente para que microcervejarias que não fazem produção contínua possam instalar em sua empresa um reator compacto que possa realizar seja um tratamento secundário ou terciário do seu efluente, fazendo o destino correto do mesmo.

2.7 CONCLUSÃO

A tecnologia utilizada neste estudo com o objetivo da remoção simultânea de carbono e nitrogênio de efluente de cervejaria se mostrou eficiente e promissora. A utilização do miniBiobob[®] como meio suporte, juntamente com a aeração intermitente, possibilitou um ambiente para que a nitrificação e desnitrificação simultânea ocorressem.

Com base nos resultados das eficiências de remoção de DQO e NT, conclui-se que a condição 3 (TDH 12h, Aeração total de 9h e DQO/NTK= 40) possui o melhor resultado, estando dentro dos padrões de lançamento da CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011), pois além de ter um ótimo percentual de remoção de DQO, com um TDH de 12h, tempo de aeração total de 9h e relação DQO/NTK de 40, o valor da concentração de NTK do efluente foi considerado estatisticamente igual ao valor do experimento número 5 (TDH 16h, Aeração total 8h e DQO/NTK=40), que possui a maior taxa de remoção de NT, ficando abaixo de 7 mg L⁻¹.

Além disso, é importante ressaltar que a relação DQO/NTK teve correlação significativa com a eficiência de remoção de DQO, pois quanto maior foi esta relação, menores foram os valores de eficiência de remoção de DQO. O tempo de Aeração Total teve correlação significativa com a remoção de NT, pois maiores foram os valores de eficiência de remoção para maiores tempos de aeração total. Não foi obtida correlação significativa entre a variável TDH e as taxa de eficiência de remoção de DQO e NT.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, é necessário o estudo do aumento de escala e de viabilidade econômica, para que esta tecnologia possa ser utilizada futuramente.

REFERÊNCIAS

ABREU, S. B.; ZAIAT, M. Performance of anaerobic-aerobic packed-bed reactor in the treatment of domestic sewage. **Revista Engenharia Sanitária**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p.181-188, abr. 2008.

AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A Review. **Process Biochemistry**, v.41, n.8, p.1709-1721, ago. 2006.

APHA, American Public Health Association, AWWA. WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, v. 21, Washington, 2005.

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

ARAÚJO, M. M. **Reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo para remoção de matéria orgânica e nitrogênio de água residuária de indústria produtora de lisina**. 2006. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

AZIZ, A. R. A.; ASAITHAMBI, P. Combination of electrocoagulation with advanced oxidation processes for the treatment of distillery industrial effluent. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 99, p. 227-235, dez. 2015.

BAKARE, B.F.; SHABANGU, K.; CHETTY, M. Brewery wastewater treatment using laboratory scale aerobic sequencing batch reactor. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 24, p. 128-134, dez. 2017.

BARANA, A. C.; LOPES, D. D.; MARTINS, T. H.; POZZI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; DEL NERY, V.; FORESTI, E. Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for post-treatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.1, p.453-457, set. 2013.

BASSIN, I. D.; SOARES JUNIOR, M.; BASSIN, J.P. Start-up de um reator AMBBR para o tratamento de águas residuárias de cervejaria. *In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 30., 2019, Natal. **Anais**. Rio de Janeiro: Abes, 2019. Disponível em: <http://abes-dn.org.br/abeseventos/30cbesa-natal/>. Acesso em: 30 nov. 2020.

BORGIO, C. C.; VALBON, P. V.; CRUZ, W. A. S.; MORAIS, P. A. B. Tratamento de efluente originário do processo de lavagem do biodiesel e da etapa de brassagem da produção de cerveja artesanal utilizando semente de moringa oleífera. *In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*, 2019, São Paulo, **Anais do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. São Paulo, 2019. Disponível em: <http://pdf.blucher.com.br/s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineering/proceedings/cobecic2019/EAT55.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2020.

BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente – Resolução n°430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre classificação de corpos d’água e estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, 2011.

BREWERS ASSOCIATION. **Water and Wastewater: Treatment/Volume Reduction Manual**. 2014. Disponível em: <https://www.brewersassociation.org/educational-publications/waterwastewater-sustainability-manual/>. Acesso em: 11 dez. 2020.

BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Chemistry of wort boiling**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2004.

BUENO, R. F.; CAMPOS, F.; RIVERA, M. M.; LENIS, C.; PIVELI, R.P. Remoção simultânea de material orgânico, nitrogênio e fósforo em um reator em bateladas sequenciais com biofilme de leito móvel operado pelo processo anaeróbio-anóxico-óxico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, n. 4, p. 747-760, ago. 2019.

CAMPOS, L. E. F.; PETTER, C. O.; KAUTZMANN, R. M. Filtro anaeróbio: uso de resíduos de construção como material suporte. **Revista de Ciências Ambientais**, v.2, n.1, p.5-13, 2008.

CHAI, H.; XIANG, Y.; CHEN, R.; SHAO, Z.; GU, L.; LI, L.; HE, Q. Enhanced simultaneous nitrification and denitrification in treating low carbon-to-nitrogen ratio wastewater: treatment performance and nitrogen removal pathway. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 51-58, mai. 2019.

CHANG, M.; WANG, Y.; PAN, Y.; ZHANG, K.; LYU, L.; WANG, M.; ZHU, T. Nitrogen removal from wastewater via simultaneous nitrification and denitrification using a biological folded non-aerated filter. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121696, out. 2019.

CHEN, H.; CHANG, S.; GUO, Q.; HONG, Y.; WU, P. Brewery wastewater treatment using an anaerobic membrane bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 105, p. 321-331, jan. 2016.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2016.

COATS, E.R., MOCKOS, A., LOGE, F.J. Post-Anoxic denitrification driven by ph and glycogen within enhanced biological phosphorus removal. **Bioresource Technology**, v. 102, p.109–1027, jan. 2011.

CORREA, C. Z.; PRATES, K. M. C.; AZEVEDO, C. S.; LOPES, D. D.; RODRIGUES, E. A.; PETERLINI, G.; BARANA, A. C. Matter of removal of organic (COD) behavior and nitrogen ammoniacal in bed reactor of structured operated under intermittent aeration. **Scientia Plena**, v. 12, n. 3, p.1-10, mar. 2016.

CORREA, C. Z.; PRATES, K. V. M. C.; OLIVEIRA, E. F.; LOPES, D. D.; BARANA, A.C. Nitrification/denitrification of real municipal wastewater in an intermittently aerated structured bed reactor. **Journal of Water Process Engineering**, v. 23, p. 134-141, jun. 2018.

DE KREUK, M.K.; DEBRUIN, L.M.M. **Aerobic granule reactor technology**. Water and Wastewater Practitioner Series, STOWA Report. London: IWA Publishing, 2004.

DI BIASE, A.; DEVLIN, T. R.; KOWALSKI, M. S.; OLESZKIEWICZ, J. Performance and design considerations for an anaerobic moving bed biofilm reactor treating brewery wastewater: Impact of surface area loading rate and temperature. **Journal of Environmental Management**, v. 216, p. 392–398, jun. 2018.

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

DIZGE, N.; AKARSU, C.; OZAY, Y.; GULSEN, H. E.; ADIGUZEL, S. K.; MAZMANCI, M. A. Sono-assisted electrocoagulation and crossflow membrane processes for brewery wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v.21, p. 52-60, fev. 2018.

DUARTE, N. C.; BARBOSA, A. C.; MAGALHÃES, T. M.; MONTAGNER, C. C.; CRUZ, L. M. O.; TONETTI, A. L. Conventional Anaerobic Reactors Applied to Denitrification: a comparison between packed bed and UASB reactors under low cod conditions. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 2, p. 1-11, fev. 2021.

ENITAN, A. M.; KUMARI, S.; ODIYO, J. O.; BUX, F.; SWALAHA, F.M. Principal component analysis and characterization of methane community in a full-scale bioenergy producing UASB reactor treating brewery wastewater. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 108, p. 1-8, dez. 2018.

EYVAZ, M. Treatment of Brewery Wastewater with Electrocoagulation: Improving the Process Performance by Using Alternating Pulse Current. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 11, p.4988-5008, jun. 2016.

FLECK, L.; EYNG, E.; TAVARES, M. H. F. Biological nitrogen removal in liquid effluents: a review. **Revista Eixo**, Brasília, v. 4, n. 2, p.77-88, dez. 2015.

FOCO, M. L. R.; NOUR, E. A. A. Desempenho de sistema combinado anaeróbio-aeróbio na remoção de nitrogênio no tratamento de esgoto sanitário. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 35, n. 2, p.131-138, dez. 2014.

GRANATO, D.; CALADO, V. M. A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. **Food Research International**, v.55, p.137-149, jan.2014.

GUJER, W. Nitrification and me – A subjective review. **Water Research**, v.44, n.1, p.1-19, jan.2010.

GUNES, B.; STOKES, J.; DAVIS, P.; CONNOLLY, C.; LAWLER, J. 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, p. 1-15, out. 2019.

HENRIQUE, I. N.; SOUSA, J. T.; SOUTO, A. L. F.; LEITE, V. D.; LOPES, W. S. Wastewater treatment in recycling system using anaerobic anoxic reactor followed by aerobic reactor with support. **Science & Engineering Journal**, Paraiba, v. 23, n. 1, p.103-113, jul. 14.

HOSSAKA, A. L.; FERNANDES, F.; DA SILVA, S. M. C. P; LOPES, D. D. Evaluation of nitrite accumulation in biological treatment systems aiming at shortcut denitrification. **Acta Scientiarum Technology**, v. 34, n.3, p.261-267, fev. 2012.

HULTBERG, M.; BODIN, H. Fungi-based treatment of real brewery waste streams and its effects on water quality. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, n. 8, p. 1317-1324, abr. 2019.

JENZURA, N. T., WENDLING, A. C., ZIELINSKI, A., DAMIANOVIC, M. H. R. Z., BARANA, A. C. Prediction of total nitrogen removal in a structured bed reactor for secondary and tertiary treatment of sanitary sewage. **Desalination and water treatment**, v. 126, p. 144-150, jan.2018.

LEICK, S. A.; OLIVEIRA, J. G. B.; TAVARES, K. A.; LOPES, D. D.; BARANA, A. C. Effect of aeration and recirculation in the removal of nitrogen and chemical oxygen demand from sanitary sewage in a structured bed reactor. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 37, n. 6, p. 1236-1243, dez. 2017.

LIM, J. W.; LIM, P. E; SENG, C. E. Enhance enhancement of nitrogen removal in moving bed sequencing batch reactor with intermittent aeration during REACT period. **Chemical Engineering Journal**, v. 197, p.199-203, jul.2012.

LIU, L., ZHAO, X., ZHAO, N., SHEN, Z., WANG, M., GUO, Y., XU, Y. Effect of aeration modes and influent COD/N ratios on the nitrogen removal performance of vertical flow constructed wetland. **Ecological Engineering**, v. 57, p. 10-16, ago. 2013.

MESHKSAR, M.; ROOSTAEE, T.; RAHIMPOUR, M.R. Membrane technology for brewery wastewater treatment. **Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes**. Amsterdam, p. 289-303, 2020.

METCALF & EDDY, Inc. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4.ed. New Delhi: McGraw Hill, 2003.

MIOT, H.A. Avaliação da normalidade dos dados em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 16, n. 2, p. 88-91, jun. 2017.

MOCKAITIS, G.; PANTOJA, L. J.; RODRIGUES, A. J.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. **Bioprocess Biosystem Engineer**, v. 37, p.1361–1368, jan.2014.

MORITA, M.; UEMOTO, H.; WATANABE, A. Nitrogen removal bioreactor capable of simultaneous nitrification and denitrification for application to industrial wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v.41, n.1, p.59-66, ago. 2008.

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

MOURA, R. B., SANTOS, C. E., OKADA, D. Y., MARTINS, T. H., JUNIOR, A. D. N. F., DAMIANOVIC, M. H., FOREST, E. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operating conditions and metabolic perspectives. **Journal of environmental management**, v. 224, p. 19-28, out. 2018.

MUNCH, E. V.; LANT, P.; KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**, v.30, n.2, p.277-284, fev. 1996.

- NASCIMENTO, T. S.; PEREIRA, R. O.L.; MELLO, H. L. D.; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 58, n. 6, p. 651-664, dez. 2008.
- OLIVEIRA, E. P.; SOUZA, T. S. O.; OKADA, D. Y.; DAMASCENO, L. H. S.; SALUSTIANO, R. E.; MOURA, R. B. Optimization of airflow and aeration cycles in a new structured bed reactor configuration for carbon and nitrogen removal. **Environmental Technology**, p. 1-13, mar. 2021.
- ONO, A. F. **Estratégias de operação de reatores aeróbio/anóxico operados em batelada sequencial para remoção de nitrogênio de água residual industrial**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – Área de concentração Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- PONTA GROSSA. **Instrução Normativa LA nº3- 001**, sobre instruções complementares e a documentação necessária para o licenciamento da Atividade Industrial. Ponta Grossa. Secretaria de Meio Ambiente. 2018.
- PAPADOPOULOS, K. P.; ECONOMOU, C. N.; TEKERLEKOPOULOU, A. G.; VAYENAS, D.V. Two-step treatment of brewery wastewater using electrocoagulation and cyanobacteria-based cultivation. **Journal of Environmental Management**, v. 265, p. 1-7, jul. 2020.
- PENG, Y.-Z.; MA, Y.; WANG, S.-Y. Denitrification potential enhancement by addition of external carbon sources in a pre-denitrification process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, n. 3, p. 284-289, mar. 2007.
- PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. Boca. Raton: Crc Press, 2006.
- RAO, A. G., REDDY, T. S. K., PRAKASH, S. S., VANAJAKSHI, J., JOSEPH, J., SARMA, P. N. 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, n. 11, p. 2131-2136, ago. 2007.
- RISSARDO, I. O.; QUIÑONES, F. R. E.; OGLIO, I. C. D.; PAULI, A. R.; BORBA, C.E. Avaliação da remoção de matéria orgânica e toxicidade de efluente de cervejaria tratado por eletrocoagulação. *In*: Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 10., 2019, Fortaleza. **Anais**. Bauru: Ibeas, 2019. Disponível em: www.ibeas.org.br. Acesso em: 03 dez. 2020.
- ROUT, P. R.; DASH, R. R.; BHUNIA, P.; RAO, S.I. Role of *Bacillus cereus* GS-5 strain on simultaneous nitrogen and phosphorus removal from domestic wastewater in an inventive single unit multi-layer packed bed bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 262, p. 251-260, ago. 2018.
- ROVEROTO, G. P.; TELES, J. C.; VUITIK, G. A.; BATISTA, J. S. S.; BARANA, A. C. Craft Brewery Wastewater Treatment: a Fixed-Bed Single-Batch Reactor with Intermittent Aeration to Remove COD and TN. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p.1 – 14, abr. 2021.

- SANTOS, C. E. D. **Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte decarbono no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.) - Escola de Engenharia de São Carlos –Departamento de Hidráulica e Saneamento. São Carlos,2014.
- SANTOS, C. E.D.; MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H.R.Z.; FORESTI, E. Influence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). **Journal of Environmental Management**, v. 166, p. 519-524, jan. 2016.
- SANTOS, A. M.; SANTOS, A. M.; SARTORI, R. B.; RECK, N.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J. Brewery effluent bioremediation by *Phormidium autumnale* in multifunctional bioreactors. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1010-1019, mai. 2019.
- SERENO FILHO, J. A.; SANTOS, A. F. M. S.; BAHÉ, J. M. C. F.; GOBBI, Clarice N.; LINS, G. A.; ALMEIDA, J.R. Wastewater treatment of beverage industry in anaerobic reactor for internal circulation (CI). **Revista Internacional de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p. 1-20, jun. 2013.
- SILVA, B. G.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Effects of intermittent aeration periods on a structured-bed reactor continuously fed on the post-treatment of sewage anaerobic effluent. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, v. 41, p.1-6, abr. 2018.
- SINGH, R.; BHUNIA, P.; DASH, R.R. Optimization of organics removal and understanding the impact of HRT on vermifiltration of brewery wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 1283-1293, fev. 2019.
- SURAMPALLI, R.Y.; TYAGI, R.D.; SCHEIBLE, O.K.; HEIDMAN, J.A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential bath reactor. **Bioresearch Technology**, v. 61, p. 151-157, ago. 1997.
- VAN HAANDEL, A. C., MARAIS, G. V. R. **O comportamento do sistema de lodo ativado: Teoria e aplicações para projetos e operações**. Campina Grande: Epgraf, 1999.
- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**.v.1, n. 4. Minas Gerais: Editora UFMG, 2017.
- WEF- Water Environment Federation, 2010. Nutrient Removal. **WEF Manual of Practice N°34**. McGraw-Hill, USA, 2010.
- WOSIACK, P. A.; LOPES, D. D.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E.; GRANATO, D.; BARANA, A. C. Removal of COD and nitrogen from animal food plant wastewater in intermittently aerated structured-bed reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p.145-150, fev. 2015.
- ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. Reator anaeróbico de leito fixo para tratamento de águas residuárias: Concepção e avaliação preliminar do desempenho. **Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química**, v. 11, p. 33, ago. 1994.

ZANDI, S.; NEMATI, B.; JAHANIANFARD, D.; DAVARAZAR, M.; SHEIKHNEJAD, Y.; MOSTAFAIE, A.; KAMALI, M.; AMINABHAVI, T. M. Industrial biowastes treatment using membrane bioreactors (MBRs) -a scientometric study. **Journal Of Environmental Management**, v. 247, p. 462-473, out. 2019.

ZENG, R. J.; LEMAIRE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v.84, n.2, p.170-178, out. 2003.

ZHU, G. B.; PENG, Y. Z.; WU, S. Y.; XU, S. W. Simultaneous nitrification and denitrification in step feeding biological nitrogen removal process. **Journal of Environmental Sciences, China**, v.19, p.1043-1048, 2007.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 29-42, mar. 2016.

CAPÍTULO 3- ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO DE EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA

RESUMO

As análises físico-químicas possuem grande importância para se verificar a eficiência do tratamento e o atendimento aos padrões de lançamento de efluentes pré-estabelecidos. Porém, estas análises não traduzem questões relativas à toxicidade da amostra. Os ensaios de ecotoxicidade são utilizados para se investigar os possíveis efeitos tóxicos e/ou danos que substâncias químicas podem causar em seres vivos. Um organismo bastante utilizado para os ensaios de toxicidade é a *Allium cepa*, pois é de fácil manuseio, e um bioindicador de genotoxicidade de baixo custo e boa confiabilidade. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do efluente de microcervejaria tratado em reator em batelada de leito empacotado com aeração intermitente. As amostras de efluente foram caracterizadas física e quimicamente e, posteriormente, foi realizado o teste com bulbos de *Allium cepa*, avaliando o crescimento radicular, aberrações cromossômicas e presença de micronúcleos em células meristemáticas de raízes de cebola. Foi constatado que mesmo com o Índice Mitótico do afluente de 10,43% e do efluente uma média de 10,44%, o tratamento utilizando o reator de leito empacotado com aeração intermitente e recirculação reduziu a toxicidade do efluente de cervejaria, no qual Índice de Aberrações Cromossômicas do afluente foi de 0,82% e do efluente uma média de 0,43% e o Índice de Mutagenicidade foi de 0,07% para o afluente e de 0% para o efluente.

Palavras-chave: *Allium cepa*, efluente de cervejaria, genotoxicidade, citotoxicidade

ABSTRACT

Physical chemical analyzes are of great importance to verify the efficiency of treatment and compliance with pre-established effluent discharge standards. However, these analyzes do not reflect issues related to the toxicity of the sample. Ecotoxicity tests are used to investigate the possible toxic effects and/or damage that chemical substances can cause in living beings. An organism widely used for toxicity tests is *Allium cepa*, as it is easy to handle, and a low cost and good reliability bioindicator of genotoxicity. Thus, the objective of this work was to evaluate the cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of microbrewery effluent treated in a structured-bed batch reactor with intermittent aeration. The effluent samples were physically and chemically characterized and, later, the test was performed with *Allium cepa* bulbs, evaluating root growth, chromosomal aberrations and presence of micronuclei in meristematic cells of onion roots. It was found that the treatment using the packed bed reactor with intermittent aeration and recirculation reduced the toxicity of the brewery effluent, in which the Mitotic Index of the influent was 10,43% and the effluent an average of 10,44%, Index of Chromosomal Aberrations of the influent was 0.82% and the effluent an average of 0.43% and the Mutagenicity Index was 0.07% for the influent and 0% for the effluent.

Keywords: *Allium cepa*, brewery effluent, genotoxicity, cytotoxicity

3.1 INTRODUÇÃO

Á água é um recurso indispensável para nossa sobrevivência e o lançamento de efluentes não tratados ou indevidamente tratados em corpos d'água, além de prejudicar a qualidade da água, ameaça toda forma de vida que depende deste recurso. Os corpos d'água devem possuir boas condições para abrigar as comunidades aquáticas, e por isso, devem ser livres de substâncias que possam causar danos a estes organismos, além de possibilitar seu uso para atividades como irrigação, abastecimento para consumo humano e recreação. Há uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos encontrados nas águas residuárias que podem trazer riscos tanto para os seres humanos como para a fauna e flora do local onde é despejado.

Para determinar o potencial poluidor e tóxico de um efluente é possível utilizar bioensaios, que, junto com as análises físico-químicas, geram respostas mais completas de como determinado efluente pode afetar o meio ambiente. Os bioensaios permitem a identificação de alterações fenotípicas, que são causadas devido à exposição de organismos aos efeitos tóxicos de uma determinada amostra. A Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011) determina que testes ecotoxicológicos com animais aquáticos devam ser realizados a fim de determinar, junto com análises físico-químicas, a qualidade das águas e efluentes. Porém, a utilização de plantas superiores como bioindicadores de efeitos genotóxicos de substâncias isoladas ou em mistura, tem como vantagens o baixo custo e fácil manuseio. Além disso, ainda há possibilidade de variar condições ambientais, como pH e temperatura, sem danos ao bioindicador.

A utilização de *Allium cepa* (cebola) como bioindicador, tem como objetivo avaliar a citogenotoxicidade através do contato direto das raízes de cebola com as amostras estudadas, permitindo observar a capacidade que algumas substâncias possuem de alterar o material genético dos organismos a elas expostos estas alterações podem, muitas vezes, estar associadas ao surgimento de cânceres, por exemplo.

A utilização de *A. cepa* é recomendada por agências internacionais de proteção ambiental, por ser uma metodologia simples, que, além de baixo custo e rapidez, ainda tem a vantagem de apresentar cromossomos em boas condições para uso no estudo de danos. Assim, o objetivo deste trabalho foi utilizar a *A. cepa* para avaliar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do efluente de microcervejaria tratado em reator em batelada de leito empacotado com aeração intermitente.

3.2 ECOTOXICIDADE EM EFLUENTES

A água possui diversas finalidades de uso como, por exemplo, na indústria, agricultura, turismo e abastecimento, sendo essencial em muitas atividades econômicas e, por isso, o controle da sua qualidade é essencial para atender às diversas demandas.

A poluição dos corpos d'água é proveniente de diversas fontes, como agricultura, criação de animais, despejo de efluentes de forma irregular ou com tratamento inadequado, entre outras. Para monitoramento tanto do corpo d'água quanto dos efluentes são utilizados parâmetros físicos e químicos para identificar e quantificar os contaminantes presentes no meio. Porém, a utilização de ensaios ecotoxicológicos ajuda na avaliação da toxicidade deste efluente, já que ocorre interação dos possíveis poluentes com os organismos-teste utilizados nestes ensaios (CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; MAZZEO *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2020).

Segundo a ABNT (2004), toxicidade é uma característica inerente a uma substância que produz efeitos danosos quando um organismo é exposto por um determinado tempo e em uma concentração específica, no qual estes efeitos podem estar relacionados a imobilidade, mortalidade, inibição da reprodução e redução do crescimento dos organismos teste. Já a Ecotoxicologia é a ciência que estuda a contaminação ambiental por poluentes naturais ou sintéticos, sendo uma ferramenta de monitoramento ambiental que verifica mecanismos de ação e efeitos destes poluentes sobre os seres vivos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Nos testes de ecotoxicidade são utilizados organismos-teste como bioindicadores, nos quais, devido à exposição a um poluente, podem ocorrer alterações fisiológicas, morfológicas ou comportamentais. Estes poluentes podem ser substâncias químicas específicas, amostras de efluentes brutos ou amostras de água. Há estudos que demonstram que a utilização de testes de ecotoxicidade, ou bioensaios, são eficientes em determinar o potencial de toxicidade dos efluentes, tanto brutos quanto já tratados, sendo uma estratégia viável para verificar, por exemplo, quais ações devem ser tomadas para minimizar este problema (BRANDOLT *et al.*, 2010; BUENO *et al.*, 2017; FURLEY *et al.*, 2018).

As indústrias geram efluentes com alto potencial poluidor, e por isso o tratamento deve ser adequado para evitar danos ao meio ambiente. Tradicionalmente, para avaliação da composição das águas residuárias são realizadas análises físico-químicas para quantificação de determinados compostos químicos, sendo seguida principalmente a Resolução CONAMA nº 357/2005 e a Resolução CONAMA Nº 430/2011. Uma estratégia eficiente é integrar o uso das análises físico-químicas com análises ecotoxicológicas, pois desta forma, é possível avaliar de

forma mais rápida os efeitos tóxicos que os poluentes presentes nas águas residuárias poderiam causar em um corpo d'água. Diferentes organismos podem ser utilizados nestes bioensaios, como sementes de *Lactuca sativa* (alface), semente de *Cucumis sativus* (pepino), semente e bulbo de *Allium cepa* (cebola), além de animais aquáticos como *Danio rerio* (paulistinha) e *Pimephales promela* e microcrustáceos como *Ceriodaphnia* e *Daphnia*, pois são capazes de amostrar, testar e responder as questões ambientais (COSTA; SILVA; ROCHA, 2016; GUEVARA *et al.*, 2019; MARIA, LANGE, AMARAL *et al.*, 2014; SÁ JÚNIOR, MELO, SANTOS *et al.*, 2016; SOBRERO; RONCO, 2008; SOUZA; AQUINO; SILVA, 2020).

O uso de bioindicadores possibilita observar modificações em sua estrutura que ocorrem devido à presença de componentes que podem ser tóxicos e que estão presentes naquele determinado ambiente (ARRAES; LONGHIN, 2012; BUENO *et al.*, 2017). Os testes de toxicidade geralmente são realizados utilizando organismos aquáticos, como os peixes *Danio rerio* (paulistinha) e *Pimephales promelas*, pois são organismos facilmente encontrados e que possuem um papel importante na cadeia alimentar aquática (ABNT, 2011). Porém é possível a utilização de espécies vegetais para determinar toxicidade genética, através da inibição da germinação, crescimento das raízes e genotoxicidade, pois são testes simples de serem realizados, possuem boa sensibilidade na indicação qualitativa da presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos e baixo custo (GUEVARA *et al.*, 2019; SOARES; COLDEBELLA; FRIGO, 2021; VIANA *et al.*, 2018).

Lutterbeck *et al.* (2018) relatam que é importante incluir a análise de toxicidade no monitoramento de águas e efluentes para obtenção de informações mais amplas acerca da eficiência dos sistemas de tratamento. No estudo conduzido por Lutterbeck *et al.* (2018), foi avaliada a eficiência de um sistema integrado de tratamento de águas residuárias, constituído por uma unidade UASB, quatro *wetlands* e dois fotorreatores, de uma propriedade rural do sul do Brasil, analisando parâmetros físico-químicos e bioensaios com micro crustáceo *Daphnia magna* e com *Allium cepa* (cebola). Foi verificado que a água residuária bruta possuía alto potencial poluidor com relação aos seus parâmetros de DQO, DBO, NTK e N-NH₃. Com o sistema de tratamento de efluentes aplicado, além da redução destes parâmetros, a água residuária tratada apresentou ausência de ecotoxicidade aguda, com redução significativa de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, quando comparada com a água residuária sem tratamento, sendo considerado um sistema de saneamento técnica e economicamente viável.

Guevara *et al.* (2019) avaliaram a toxicidade de águas residuárias domésticas em 3 etapas de uma estação de tratamento do esgoto (ETE), sendo o afluente da estação, proveniente

da rede coletora da cidade (esgoto bruto), o efluente após passar pelo reator UASB e o efluente de saída do filtro biológico percolador aeróbio (esgoto tratado), utilizando sementes de alface e pepino como bioindicadores nos ensaios de fitotoxicidade, além da realização de análises físico-químicas, como DBO, SST e pH. Os autores não constataram efeitos citotóxicos com os efluentes coletados nas diferentes etapas de tratamento, sendo considerados seguros para serem lançados ao meio ambiente, pois não apresentaram riscos potencialmente toxicológicos.

Viana *et al.* (2018) avaliaram a toxicidade de um efluente da indústria cervejeira analisando o desenvolvimento da radícula, da porcentagem de germinação e o índice de germinação de sementes de *Lactuca sativa L.* (alface), e realizando a correlação dessas variáveis com a cor e a DQO do efluente bruto e tratado. Foi verificado que, mesmo com a redução dos parâmetros de DQO e cor após o tratamento do efluente, estes parâmetros apresentaram correlação negativa com o comprimento da raiz e com a porcentagem de germinação, indicando que tanto o efluente bruto quanto o tratado podem causar perturbações ao ecossistema.

Rissardo *et al.* (2019), avaliando parâmetros físico-químicos e toxicológicos com larvas de *Artemia salina* em efluente de cervejaria tratado por eletrocoagulação, observaram redução de 60% da DQO e de 35% de carbono orgânico dissolvido (COD) e redução da toxicidade quando comparado com o efluente bruto. Porém os autores sugerem que, para melhorar a eficiência do tratamento, a eletrocoagulação deveria ser integrada com outros processos de tratamento. Além disso, os autores ressaltam que, mesmo quando um tratamento tem alta eficiência na remoção de poluentes, ainda há chance de haver toxicidade remanescente, que deve ser avaliada anteriormente ao descarte do efluente tratado.

3.2.1 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE COM *Allium cepa*

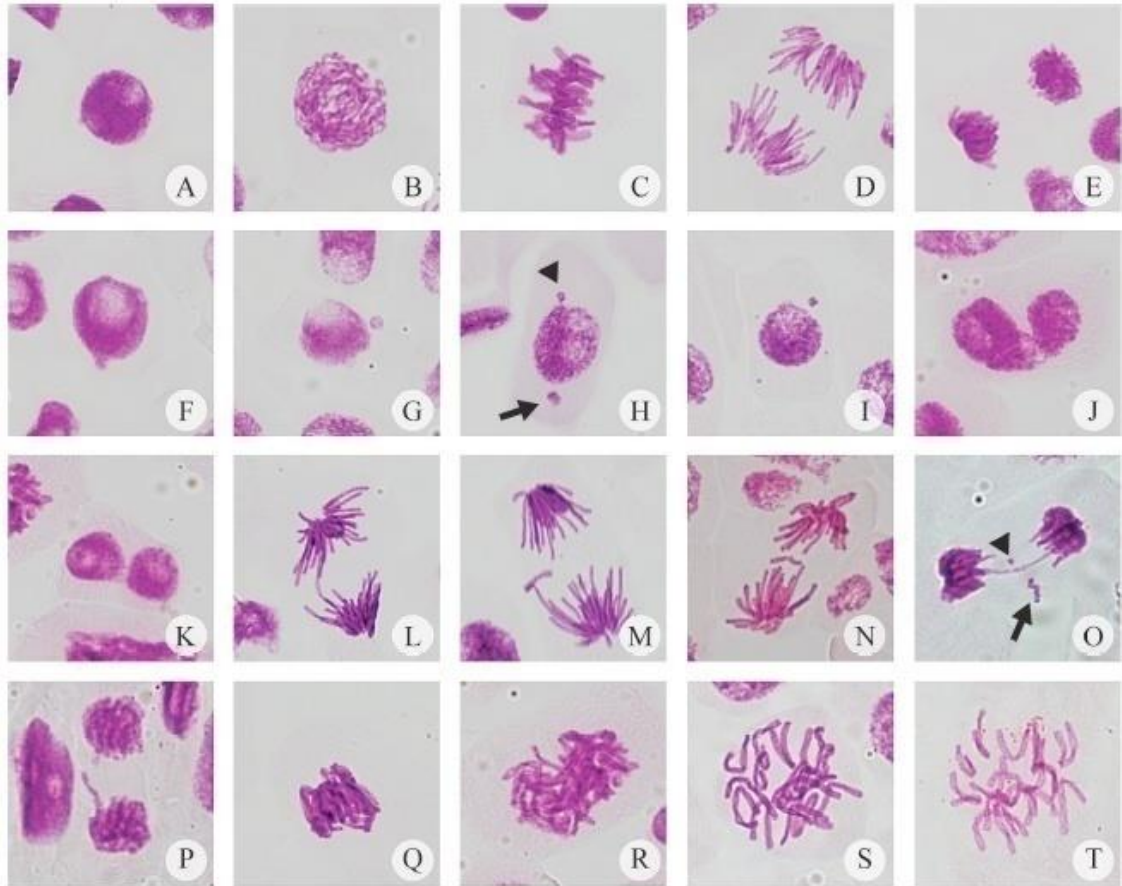
A *Allium cepa* é um bioindicador utilizado em ensaios de monitoramento ambiental, eficaz para testes com efluentes e águas em geral. Esta espécie é utilizada por apresentar cromossomos maiores e em número reduzido ($2n=16$), facilitando a detecção de alterações cromossômicas de origem clastigênica (quebras cromossômicas) e/ou aneugênicas (alterações de fuso mitótico) e de distúrbios no índice de proliferação celular, além de ter elevada sensibilidade em detectar agentes químicos e ambientais. É recomendada para avaliação toxicológica, pois é fácil de identificar alterações em suas células. Além disso, está disponível o ano todo, tem sensibilidade e baixo custo, além de ser um teste validado pela Organização Mundial de Saúde, Programa Ambiental das Nações Unidas e Agência de Proteção Ambiental

dos Estados Unidos (CUCHIARA; BORGES; BOBROWSKI, 2012; LEME; MARIN-MORALES, 2009; LUTTERBECK *et al.*, 2018; MAZZEO *et al.*, 2015; ROA; YEBER; VENEGAS, 2012; TRAPP *et al.*, 2020).

É possível utilizar tanto as sementes quanto os bulbos da cebola para a avaliação da toxicidade por meio dos ensaios de germinação em amostras a serem testadas. Nestes ensaios são verificados o crescimento das raízes, índice mitótico em células meristemáticas (local no qual tem maior probabilidade de ocorrer alterações) e a presença de alterações cromossômicas ou nucleares em células meristemáticas. A partir destes dados é possível determinar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das amostras testadas. A citogenotoxicidade verifica as alterações cromossômicas e de divisão celular de células meristemáticas dessa estrutura vegetal. O Potencial Citotóxico é avaliado através do Índice Mitótico, que é caracterizado pelo número total de células em divisão no ciclo celular, e o Potencial Mutagênico é determinado avaliando a presença de formação de micronúcleos (ANACLETO; ROBERTO; MARIN-MORALES, 2017; CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; FISKEJO, 1985; ROBERTO *et al.*, 2016).

Agentes externos ou processos endógenos podem alterar a integridade do DNA devido a efeitos genotóxicos, comprometendo a função dos genes e gerando uma modificação hereditária de certas características. Para analisar estas alterações nas estruturas cromossômicas, diferentes tipos de aberrações cromossômicas são avaliadas nas fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase) (ANACLETO; ROBERTO; MARIN-MORALES, 2017; ROBERTO *et al.*, 2016). A Figura 3.1 apresenta as imagens de alterações de efeitos aneugênicos (C-metáfase, metáfase com aderências cromossômicas, células binucleadas, metáfases poliploides) e de efeitos clastogênicos (fragmentos cromossômicos e pontes cromossômicas).

Figura 3.1 Alterações celulares observadas pela análise de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. A: interfase normal; B: prófase normal; C: metáfase normal; D: anáfase normal; E: telófase normal; F: interfase com broto nuclear; G: interfase com micronúcleo; H: prófase com broto nuclear (cabeça de seta) e micronúcleo (seta); I: prófase com micronúcleo; J: núcleo lobulado; K: célula binucleada; L: anáfase com ponte cromossômica; M: anáfase com quebra cromossômica; N: anáfase com quebra cromossômica; O: telófase com ponte e diferentes tamanhos de quebras (seta e ponta de flecha); P: telófase com cromossomo retardatário; Q: metáfase com aderência cromossômica; R: metáfase poliplóide; S-T: C-metáfase.



Fonte: ANACLETO; ROBERTO; MARIN-MORALES, 2017.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi caracterizar físico-quimicamente as amostras de afluente e efluente do reator de leito empacotado com aeração intermitente e recirculação, com posterior avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico destas amostras, utilizando a *Allium cepa* como bioindicador. A *Allium cepa* foi utilizada por trazer resultados confiáveis em um curto período de tempo por meio da observação do aspecto visual do crescimento da raiz e por meio de imagens obtidas por microscópio (aberrações cromossômicas), sendo possível avaliar a toxicidade das amostras.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Amostras

A condição 3 do Capítulo II foi repetida para tratar o efluente de microcervejaria no reator de leito empacotado com aeração intermitente e recirculação, com TDH de 12h, aeração total de 9h e relação DQO/NTK de 40. O substrato do reator foi o efluente bruto da etapa da fervura que posteriormente foi diluído conforme balanço mássico e hídrico do Capítulo I. As amostras do afluente e efluente do reator foram utilizadas nesta etapa do trabalho, no qual a condição estudada foi repetida três vezes. O experimento foi realizado no Centro de Tecnologia Agroalimentar, do departamento de Engenharia de Alimentos, no Campus da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Para obtenção do controle negativo foi utilizada água destilada e para o controle positivo foi utilizado herbicida Trifluralina com concentração de $0,84 \text{ mgL}^{-1}$ (MAZZEO; MARIN-MORALES, 2015).

3.3.2 Análise Ecotoxicológica com *Allium cepa*

As análises de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade foram realizadas de acordo com método proposto por Oliveira *et al.* (2011), com modificações. Os bulbos orgânicos de *A. cepa* utilizados neste experimento foram adquiridos do Mercado Municipal de Curitiba, sendo selecionados bulbos de em média 5 cm de diâmetro. As cebolas foram limpas, sendo removidos os catáfilos externos ressecados com auxílio de estilete e pinça, deixando o sistema radicular exposto. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em recipientes adequados para que o sistema radicular dos bulbos orgânicos de *A. cepa* ficasse em contato com a amostra para ocorrer o crescimento das raízes. Esta etapa ocorreu em uma câmara BOD SP-500 (SP Labor), em temperatura de 23°C por 72h, no qual, para cada amostra, foram utilizados 3 bulbos, totalizando 18 bulbos (três para a amostra de afluente, três para controle negativo, três para controle positivo e nove para as amostras de efluente).

Após o período de 72h, foram feitas medições individuais do tamanho das raízes dos bulbos com o auxílio de uma régua milimétrica para análise fenotípica. Posteriormente as raízes foram coletadas e acondicionadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v) por 5 min para fixação. Em seguida o material foi acondicionado em álcool 70%.

Para a montagem das lâminas, as raízes foram retiradas do álcool 70%, lavadas em água destilada e hidrolisadas em solução HCL 4 mol L^{-1} por 75 min em temperatura ambiente. Após

a hidrólise, as raízes foram lavadas novamente em água destilada, e depois foram submetidas à coloração em reagente de Schiff (corante púrpura nucleofílico) por 50 min. Posteriormente, foram lavadas com água destilada novamente, e a região meristemática das raízes foram cortadas e colocadas em lâminas. Foi adicionada uma gota de Carmin acético 2% sobre a raiz por um período de 3 min, sendo posteriormente coberta com uma lamínula.

Com o auxílio de um microscópio Nikon Eclipse E200 com lente objetiva de 40x, foi realizada a contagem de células meristemáticas. Para cada bulbo foram contadas no total 3000 células, sendo 3 lâminas por bulbo. Após a contagem de células, foi observada e contada a ocorrência de divisão e alterações cromossômicas, e com estes números foram calculados o índice mitótico (citotoxicidade) e o índice de alterações cromossômicas (genotoxicidade). O índice mitótico (IM) foi utilizado para determinar o potencial citotóxico, utilizando a equação 3.1:

$$IM = \frac{\text{Total de células em divisão}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad (3.1)$$

Para avaliar o potencial genotóxico foi calculado o índice de alteração cromossômica (IAC), pela equação 3.2

$$IAC = \frac{\text{Total de células alteradas}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad (3.2)$$

Para verificar o potencial mutagênico, foi utilizado o índice de mutagenicidade (IMT) pela equação 3.3

$$IMT = \frac{\text{Total de células com micronúcleos}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.3.3 Caracterização físico-química das amostras

Os parâmetros utilizados para caracterização das amostras de afluente e efluente foram pH, Alcalinidade, Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Voláteis e Fixos (STV e STF), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis e Fixos (SSV e SSF), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄), Nitrito (N-NO₂) e Nitrato (N-NO₃) (Tabela 3.1). As análises foram determinadas pelas metodologias seguindo padrões de APHA (2005), com exceção da alcalinidade que seguiu a metodologia

proposta por DiLallo e Albertson (1961). A correção da alcalinidade no afluente foi realizada antes do início de cada experimento com a adição de bicarbonato de sódio, no qual pela relação estequiométrica, para cada miligrama de nitrogênio é necessário 7,14 mg de carbonato de cálcio, e desta forma, para cada mg de carbonato de cálcio é necessário 1,65 mg de bicarbonato de sódio. O cálculo de alcalinidade teórica foi realizado de acordo com Roveroto *et al.* (2021).

Tabela 3.1 Parâmetros analíticos

Parâmetro	Unidade	Método
pH	-	Potenciométrico - APHA (4500h + B)
Alcalinidade	mg CaCO ₃ L ⁻¹	DiLallo e Albertson (1961)
ST	mgL ⁻¹	Gravimétrico- APHA (2540 G)
STV	mgL ⁻¹	Gravimétrico- APHA (2540 G)
SST	mgL ⁻¹	Gravimétrico- APHA (2540 D)
SSV	mgL ⁻¹	Gravimétrico- APHA (2540 E)
DQO	mgL ⁻¹	Colorimétrico- APHA (5220 D)
NTK	mgL ⁻¹	Micro Kjeldahl- APHA (4500 N _{org} C)
N-NH ₄	mgL ⁻¹	Titulométrico- APHA (4500 NH ₃ C)
N-NO ₂	mgL ⁻¹	Colorimétrico- APHA (4500 NO ₂ B)
N-NO ₃	mgL ⁻¹	Colorimétrico- APHA (4500 NO ₃ C)

3.3.4 Análise estatística

Para verificar se há diferença entre as amostras com relação ao potencial citotóxico, potencial genotóxico e potencial mutagênico, os resultados obtidos foram analisados segundo o teste de normalidade para verificar se os dados são paramétricos pelo teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade pelo Teste de Levene. Para os dados considerados normais e homogêneos ($p > 0,05$), foi realizada análise de variância (ANOVA), considerando significativo p -valor $< 0,05$, com posterior análise de Fisher. Para avaliar a correlação entre os resultados do ensaio ecotoxicológico e parâmetros físico-químicos (DQO e NTK), foi realizado o teste de correlação de Pearson, com significância a 5% (GRANATO; CALADO; JARVIS, 2014; MIOT, 2017).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Caracterização físico-química das amostras

Os resultados da caracterização físico-química das amostras se encontram na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 Resultados da caracterização físico-química das amostras de afluente e efluente do reator.

Parâmetros	Afluente	Efluente		
		1	2	3
pH	6,7	6,9	6,8	6,8
Alcalinidade Total (mg L ⁻¹)	533	447	477	484
DQO (mg L ⁻¹)	2624	92	88	84
NTK (mg L ⁻¹)	60	4,2	3,9	4,2
N-NH ₄ ⁻ (mg L ⁻¹)	3,5	0,8	1,1	0,6
Nitrito (mg L ⁻¹)	-	0,114	0,046	0,054
Nitrato (mg L ⁻¹)	-	0	0	0
ST (mg L ⁻¹)	2289	770	819	799
STF (mg L ⁻¹)	507	295	331	317
STV (mg L ⁻¹)	1782	475	488	482
SST (mg L ⁻¹)	652	171	118	135
SSF (mg L ⁻¹)	3	8	6	6
SSV (mg L ⁻¹)	649	163	112	129

Verifica-se que o pH das amostras ficaram próximas do neutro, variando de 6,7 a 6,9, estando próximo da faixa de atuação das bactérias nitrificantes e desnitrificantes. A alcalinidade do afluente foi de 533 mg L⁻¹ e do efluente variou entre 447 e 484 mg L⁻¹. A DQO afluente foi de 2624 mg L⁻¹, indicando alta presença matéria orgânica, e as amostras de efluente variaram de 84 a 92 mg L⁻¹, ocorrendo uma taxa de redução média de 97%, sendo um ótimo resultado e comprovando a eficiência do reator em estudo. A concentração afluente de NTK foi de 60 mg L⁻¹, ocorrendo uma redução média de 93%, com valores de concentração do efluente que variaram entre 3,9 e 4,2 mg L⁻¹. Houve redução no teor de sólidos totais e o valor de sólidos suspensos totais foi menor nas amostras do efluente, indicando boa retenção da biomassa no sistema de tratamento. Assim, o sistema de tratamento aplicado no efluente de cervejaria foi eficiente na remoção de DQO e NTK. Porém é necessário verificar se este efluente tratado não irá ser fonte de toxicidade ao meio ambiente, mesmo com os parâmetros de acordo com o que é estabelecido pela legislação CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011) e pela Instrução Normativa N°03 – 001 da Secretaria Municipal de Meio Ambiente (PONTA GROSSA, 2018).

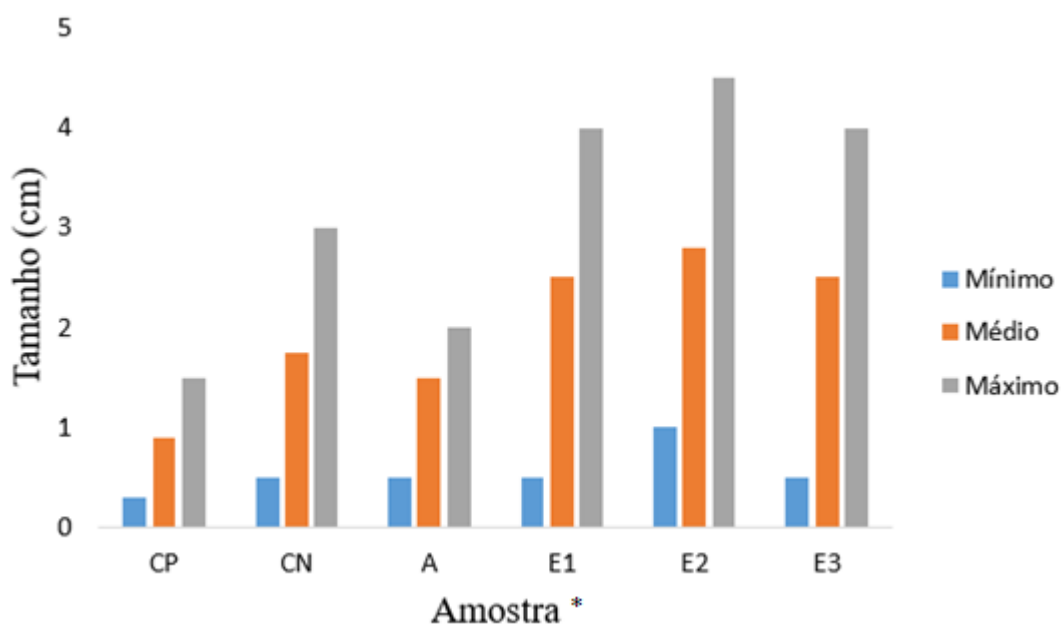
3.4.2 Ensaio Ecotoxicológico com *Allium cepa*

A toxicidade é relacionada a efeitos danosos que uma substância química causa sobre um organismo vivo, e o mecanismo de intoxicação depende da concentração, composição e propriedade destas substâncias. Depende também das características intrínsecas dos organismos vivos e do tempo de exposição (ANACLETO; ROBERTO; MARIN-MORALES, 2017;

ROBERTO *et al.*, 2016). Com a utilização de *A. cepa* foi possível observar parâmetros macroscópicos (crescimento) e parâmetros microscópicos (aberrações cromossômicas) para determinar a toxicidade das amostras em estudo.

Na análise fenotípica, que está relacionada ao crescimento da raiz, parte que entra em contato com os poluentes da amostra, foi possível observar que o crescimento radicular é sensível quanto à presença de substâncias presentes na amostra estudada, porém não foi identificada deformidade nas raízes. Foi observada restrição no crescimento das raízes na amostra do afluente quando comparado com as amostras do efluente e o controle negativo (CN) (Figura 3.2), o que indica que a amostra de afluente influenciou de maneira negativa o crescimento das raízes de *A. Cepa*. O afluente possui como característica alta concentração de DQO e NTK em comparação ao efluente, no qual este excesso de nutrientes pode causar desequilíbrio no crescimento das raízes de *A. cepa*, sendo uma amostra fitotóxica. Além disso, verificou-se que nas amostras de efluente as raízes tiveram um crescimento médio superior ao controle negativo. Isso indica que após o tratamento no reator, no qual diminuíram as concentrações de DQO e de NTK, o meio proporcionou nutrientes a esse organismo quando comparado ao controle negativo e não causou fitotoxicidade. Fato semelhante foi observado por Costa (2007) que avaliou a toxicidade de esgoto sanitário em *Allium cepa*. Notou-se que em maiores concentrações de NTK houve indício de toxicidade das amostras, e quando diminuiu a concentração de NTK, contribuiu para o desenvolvimento das cebolas. Em trabalho realizado por Ibeh e Umeham (2018), foi avaliado a citotoxicidade e genotoxicidade de três efluentes industriais, entre eles o de cervejaria, e foi obtido tamanho médio de raiz na amostra com 100% de efluente de cervejaria de 1,45cm após 72h, valor próximo ao encontrado neste estudo, de 1,50 cm para a amostra de afluente. Porém, é importante destacar que as amostras são substâncias complexas e heterogêneas, no qual não foi possível identificar qual componente específico causou a toxicidade.

Figura 3.2 Gráfico de tamanho mínimo, médio e máximo das raízes de *A. cepa*.



*CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; A= Afluente; E= Efluente.

Através da análise de correlação de Pearson, com 5% de significância, foi observado que o tamanho médio de raiz possui uma correlação significativa forte e negativa com a concentração DQO e NTK, ou seja, foi obtido um maior tamanho radicular quando eram menores as concentrações de DQO e NTK.

Além do monitoramento dos parâmetros físico-químicos e da análise fenotípica, foi verificada a Citotoxicidade, determinada através do cálculo do Índice Mitótico e que é uma medida indireta da proliferação celular, considerado uma forma confiável de verificar a presença de poluentes citotóxicos no ambiente. Foi calculado também o Potencial Genotóxico, que é determinado através das aberrações cromossômicas (alterações na estrutura dos cromossomos que ocorrem devido à exposição a substâncias presentes na amostra estudada), e a Mutagenicidade (presença de micronúcleos) do afluente e efluente de cervejaria, determinando se o tratamento realizado em um reator de leito empacotado com aeração intermitente gera um efluente tratado com baixa toxicidade (ANACLETO; ROBERTO; MARIN-MORALES, 2017). Na Tabela 3.3 e nas Figuras 3.3 e 3.4 é possível verificar os resultados obtidos no ensaio ecotoxicológico.

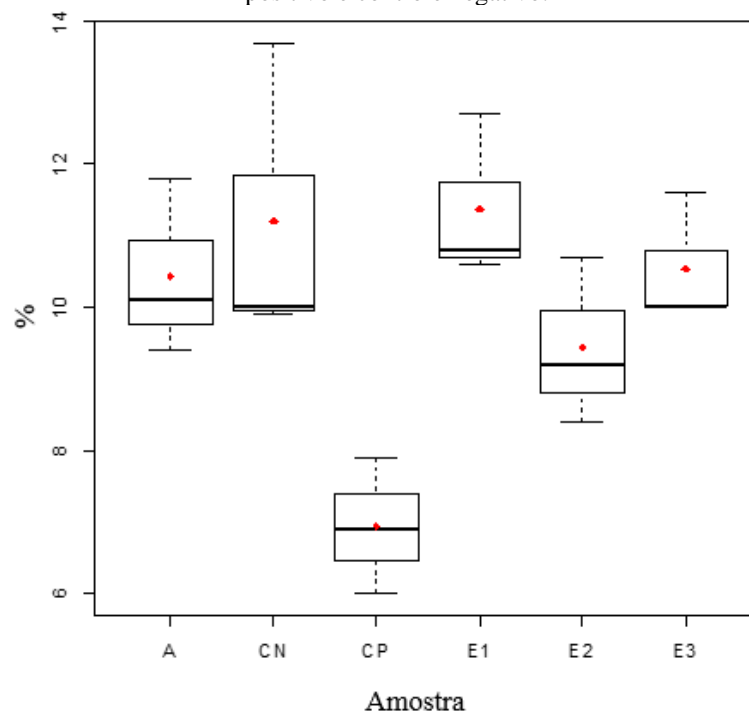
Tabela 3.3. Determinação do potencial citotóxico, potencial genotóxico e potencial mutagênico no controle positivo e negativo e das amostras afluente e efluente do reator de leito estruturado com aeração intermitente.

Amostra	Índice Mitótico (IM)	Índice de Alteração Cromossômica (IAC)	Índice de Mutagenicidade (IMT)
CN	11,20 ± 2,17 ^a	0,18 ± 0,05 ^a	0,00 ± 0,00
CP	6,93 ± 0,95 ^b	1,13 ± 0,70 ^c	0,07 ± 0,03
A	10,43 ± 1,23 ^a	0,82 ± 0,29 ^{bc}	0,07 ± 0,03
E1	11,37 ± 1,16 ^a	0,42 ± 0,22 ^{ab}	0,00 ± 0,00
E2	9,43 ± 1,17 ^a	0,40 ± 0,12 ^{ab}	0,00 ± 0,00
E3	10,53 ± 0,92 ^a	0,47 ± 0,06 ^{ab}	0,00 ± 0,00

*CN= Controle Negativo (Água destilada), CP= Controle Positivo (Herbicida), A= Afluente; E= Efluente.

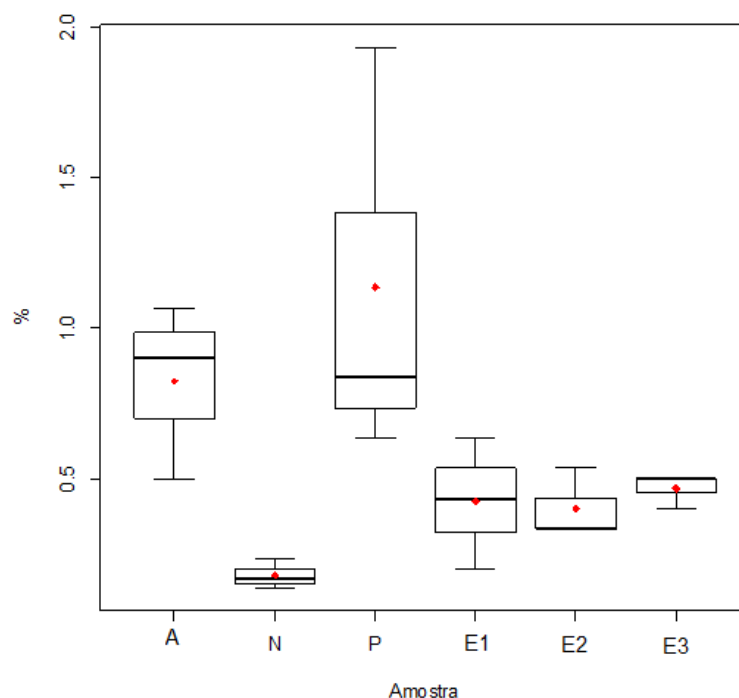
**Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, pelo teste de Fisher a 10% de probabilidade.

Figura 3.3 Gráfico Box Plot de Índice Mitótico (IM) do afluente e efluente em comparação com o controle positivo e controle negativo.



*A= Afluente, CN= Controle Negativo, CP= Controle Positivo, E= Efluente.

Figura 3.4 Gráfico Box Plot de Índice de Alteração Cromossômica (IAC) do afluente e efluente em comparação com o controle positivo e controle negativo.

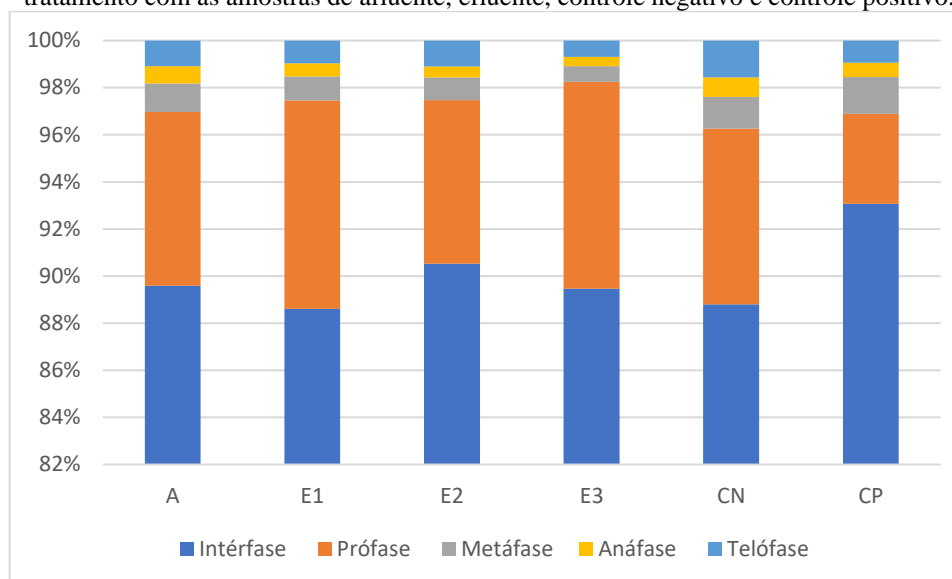


*A= Afluente, N= Controle Negativo, P= Controle Positivo, E= Efluente.

Analisando os resultados obtidos para Citotoxicidade (IM), foi possível verificar que as amostras do afluente e efluente apresentaram valores de índice mitótico estatisticamente semelhante entre si e com o controle negativo. Desta forma, o afluente e o efluente não causaram uma proliferação celular desordenada no tecido meristemático da *A. cepa*. A partir dos valores do IM foi possível calcular o Valor de Toxicidade Limite, que relaciona o IM da amostra e o IM do controle negativo, e valores abaixo de 50% indicam efeito subletal, e abaixo de 22%, efeito letal (MIGID; AZAB; IBRAHIM, 2007; IBEH, UMEHAM, 2018). Tanto para amostras de afluente e de efluente, os valores de toxicidade limite foram acima de 50%, ou seja, não houve efeito tóxico letal e subletal. Ibeh e Umeham (2018) obtiveram para a amostra com 100% de efluente de cervejaria um IM=18,5% e efeito subletal (54%), valores um pouco diferentes do encontrado, e isso pode ocorrer devido à variação na composição do efluente de cervejaria.

Através da análise microscópica, foi verificado que as amostras de CN, CP, afluente e efluente apresentaram maior percentual de células em intérfase, o que indica intensa atividade metabólica antes da divisão celular. Em seguida há aprófase, que é responsável pela formação de microtúbulos que garantem a movimentação dos cromossomos durante a mitose (Figura 3.5) (RIEDER *et al.*, 2021).

Figura 3.5 Percentual das fases do ciclo celular nas células meristemáticas de *Allium cepa* submetidas ao tratamento com as amostras de afluente, efluente, controle negativo e controle positivo.

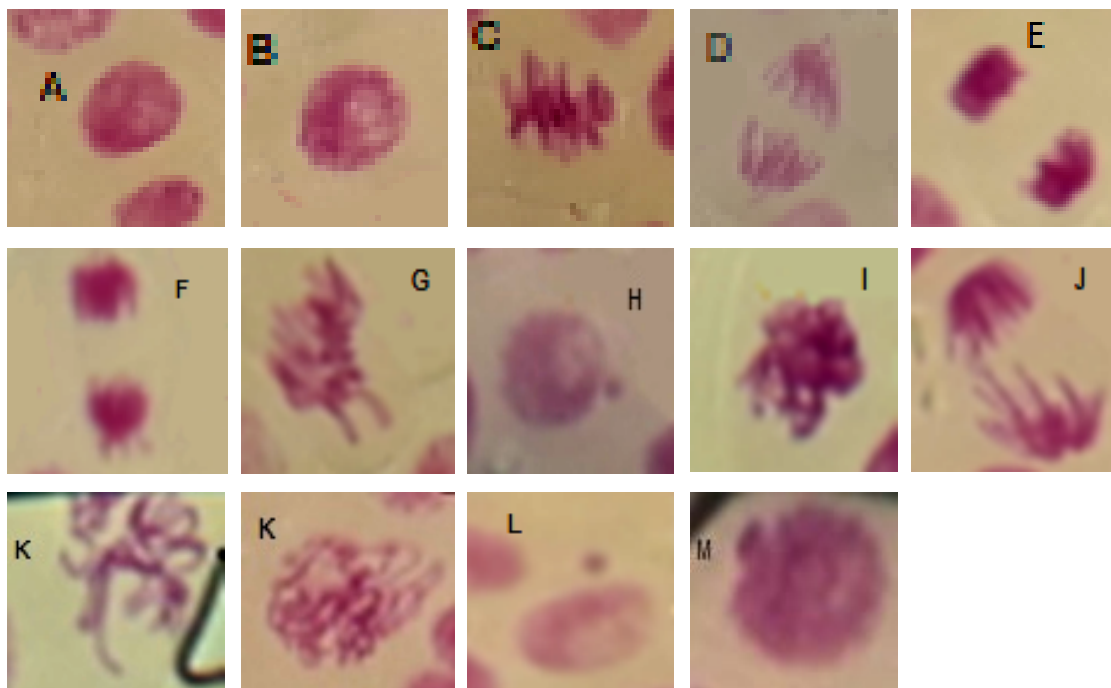


* A=Afluente; E= Efluente; CN= Controle Negativo; CP = Controle Positivo

Além disso, foi identificada a presença de aberrações cromossômicas nas amostras, indicando seus efeitos genotóxicos. Essas alterações ocorrem na estrutura cromossômica, como quebra de DNA, ou no número de cromossomos, provocando uma segregação anormal dos cromossomos (SABEEN *et al.*, 2020). As alterações cromossômicas observadas nas células avaliadas de *A. cepa* neste estudo foram: célula binucleada, interfase com broto nuclear, interfase com micronúcleo, prófase com micronúcleo, metáfase poliplóide, C-metáfase, metáfase com aderência cromossômica, anáfase com ponte cromossômica, telófase com cromossomo retardatário (Figura 3.6).

Com relação ao potencial genotóxico, foi verificado que os valores de IAC das amostras de saída foram menores que a de entrada, porém estes valores são estatisticamente semelhantes entre si. Ibeh e Umeham (2018) obtiveram para a amostra com 100% de efluente de cervejaria um IAC=1,62%, valor superior da amostra de entrada deste estudo, de 0,82%. Olorunfemi; Ogieseri e Akinboro (2011) investigaram o potencial citotóxico e genotóxico de três efluentes, entre eles o de cervejaria, utilizando o teste com *A. cepa*. Foi obtido tamanho médio radicular de 2,07cm para a amostra com 100% do efluente de cervejaria após 72h. Para o Índice Mitótico, foram utilizadas 4 concentrações diferentes do efluente de cervejaria (0,01, 0,1, 1 e 10%, v/v), no qual o IM variou de 9,80% a 6,28%, um valor próximo comparado ao presente estudo, e com IAC variando entre 2,45% e 5,41%. Os autores concluem que a partir dos resultados obtidos que a amostra de efluente cervejaria foi responsável por efeitos genotóxicos observados nas células da ponta da raiz da cebola.

Figura 3.6 Resultados das alterações celulares encontradas na análise de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*.

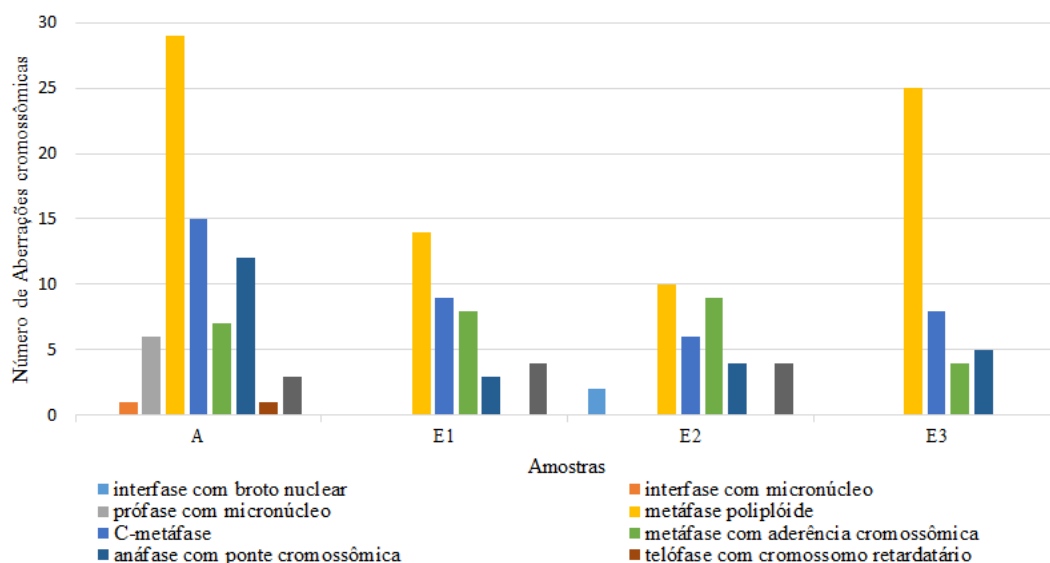


*A: Interfase normal; B: Prófase normal; C: Metáfase normal; D: Anáfase normal; E: Telófase normal; F: Telófase com cromossomo retardatário; G: Metáfase poliplóide; H: Prófase com micronúcleo; I: Metáfase com aderência cromossômica; J: Anáfase com ponte cromossômica; K: C- metáfase; L: Intérfase com micronúcleo; M: Intérfase com broto nuclear.

Já o potencial mutagênico foi identificado somente no controle positivo e na amostra de efluente, que é calculado quando há presença de micronúcleos, que são pequenos corpos extracelulares resultantes de quebra cromossômica durante a divisão celular ou ainda pelo processo de poliploidização, que ocorre quando há eliminação de excesso de DNA do núcleo em uma tentativa de restaurar as condições normais do número de cromossomos presente no núcleo da célula (ploidia) (FERETTI *et al.*, 2007).

A Figura 3.7 apresenta o total de alterações cromossômicas encontradas nas amostras de afluente e efluente.

Figura 3.7 Alterações cromossômicas encontradas nas amostras de afluente (A) e efluente (E1, E2, E3).



Sabe-se que agentes físicos, químicos ou biológicos podem ocasionar alteração celular, que pode dar origem a mutações por exemplo. Neste trabalho, foi identificado que o maior número de aberrações encontradas foi na metáfase (metáfase poliplóide, metáfase com aderência cromossômica e C-metáfase), indicando que as substâncias presentes nas amostras causam maior dano no processo de divisão celular, ou seja, pode prejudicar a reposição de células em um organismo, resultando em um mau funcionamento do mesmo. A aderência cromossômica é um processo que pode levar a morte celular ou levar a formação de pontes cromossômicas, devido a interferência durante a separação da anáfase (SABEEN *et al.*, 2020).

A análise de correlação de Pearson foi realizada para verificar se há relação significativa entre os resultados do ensaio ecotoxicológico e os parâmetros de DQO e NTK, no qual são apresentados os valores r na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 Matriz de correlação de Pearson

	IM	IAC	IMT	DQO	NTK
IM	1	-0,02	-0,09	-0,09	-0,09
IAC	-0,02	1	<i>0,99</i>	<i>-0,09</i>	<i>-0,09</i>
IMT	-0,09	<i>0,99</i>	1	<i>0,99</i>	<i>0,99</i>
DQO	-0,09	<i>0,99</i>	<i>0,99</i>	1	<i>0,99</i>
NTK	-0,09	<i>0,99</i>	<i>0,99</i>	<i>0,99</i>	1

*Valores em itálico possuem p -valor menor que 0,05

É possível observar que Citotoxicidade (IM) não possui correlação significativa com as outras variáveis estudadas. Com relação à Genotoxicidade (IAC) e ao Potencial Mutagênico (IMT), ambos possuem correlação significativa forte e positiva com DQO e NTK, ou seja, maior o número de aberrações cromossômicas encontradas quando houve alta concentração de matéria orgânica medida como DQO e NTK. Desta maneira, percebe-se que os parâmetros DQO e NTK são variáveis que se correlacionaram significativamente com a toxicidade do efluente de cervejaria. Rissardo *et al.* (2019), utilizando a eletrocoagulação como tratamento para efluente de microcervejaria e a *Artemia salina* para análise de toxicidade, constatou que com o tratamento aplicado ocorreu redução da concentração de matéria orgânica no efluente tratado, e conseqüentemente, reduziu a toxicidade dele. A inibição do crescimento celular ocorre devido à inibição da divisão celular, e este resultado reforça a necessidade de um tratamento adequado para efluentes de cervejaria, visto que o efluente de cervejaria não tratado possui alto potencial poluidor de acordo com a caracterização físico-química e análises ecotoxicológicas.

Olorunfemi; Ogieseri e Akinboro (2011) e Ibeh e Umeham (2018) relatam que o teste com *Allium cepa* é uma ferramenta útil e confiável para a triagem de genotoxicidade de efluentes industriais que pode ser empregada por gestores ambientais antes que esses efluentes sejam finalmente lançados no meio ambiente.

3.5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que o tratamento utilizado no efluente de cervejaria foi eficiente para redução de matéria orgânica e nitrogênio, além da redução do potencial genotóxico e mutagênico. Foram identificadas aberrações cromossômicas tanto nas amostras de entrada como nas de saída.

Para um melhor controle e monitoramento da qualidade ambiental, ensaios toxicológicos são recomendados para determinar o efeito nocivo que substâncias possam causar em um organismos-teste, avaliando desta forma o potencial risco ao meio ambiente e a vida humana, sendo uma maneira importante para órgãos públicos e privados monitorarem áreas com problemas ambientais causados pelo lançamento incorreto de efluentes.

REFERÊNCIAS

- ABNT. 2004 - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp, (*Cladocera*, *Crustácea*). **NBR 12713**. Rio de Janeiro. 2004, 17 p.
- ABNT. 2011. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. **NBR 15088**. Rio de Janeiro, 22 p.
- ANACLETO, L. R.; ROBERTO, M. M.; MARIN-MORALES, M.A. Toxicological effects of the waste of the sugarcane industry, used as agricultural fertilizer, on the test system *Allium cepa*. **Chemosphere**, v. 173, p. 31-42, jan. 2017.
- APHA, American Public Health Association, AWWA. WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, v. 21, Washington, 2005.
- ARRAES, A. I. O. M.; LONGHIN, S. R. Otimização de Ensaio de Toxicidade Utilizando o Bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 1958, jun. 2012.
- BRANDOLT, T. D.; LOBO, E. A. Avaliação ecotoxicológica utilizando bioensaios com *Daphnia magna* em água de lavoura de arroz no município de mostardas. **Tecno-Lógica**, v. 14, n. 2, p. 47-51, out. 2010.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - **Resolução n° 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, 2005.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – **Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre classificação de corpos d'água e estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, 2011.
- BUENO, A. P. M.; VASCONCELOS, M. G.; FRANCISCO, C. M.; PAVANIN, L. A. Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 32-36, set. 2017.
- CARITÁ, R.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M.A. Comparison of the toxicogenetic potential of sewage sludges from different treatment processes focusing agricultural use. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 21, p. 21475-21483, mai. 2019.
- COSTA, J. B. da. **Avaliação ecotoxicológica de efluente de tratamento secundário de esgoto sanitário após desinfecção com ácido peracético, cloro, ozônio e radiação ultravioleta**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) -USP, São Carlos, 2007.

COSTA, M. H. P.; SILVA, P. C. C.; ROCHA, C. A. M. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 3, p. 40-44, set. 2016.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKI, V. L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.6, n. 1, p.33-38, mar. 2012.

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

FERETTI, D.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; CERETTI, E.; MORETTI, M.; MONARCA, S. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, n. 6, p. 561–572, jul.2007.

FISKEJÖ, G. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, v. 102, p. 99 -112, mar. 1985.

FURLEY, T. H.; DE MELLO, F. A.; SIQUEIRA, J. B. L. Principais questões ambientais causadas pelos efluentes de fábricas de celulose da América latina. **O Papel**, v. 79, n. 4, p. 70-77, abr. 2018.

GRANATO, D.; CALADO, V. M. A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. **Food Research International**, v.55, p.137-149, jan. 2014.

GUEVARA, M. D. F.; MELLO, A. G.; CORRÊA, É. K.; GUEDES, H. A. S.; CORRÊA, L. B.; NAZARI, M. T. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. **Revista Dae**, v. 67, n. 216, p. 44-51, jun. 2019

IBEH, O. I.; UMEHAM, S, N. Genotoxicity assessment of three industrial effluents using the *Allium cepa* bioassay. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 3, p. 115-122, mar. 2018.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 682, p. 71-81, ago. 2009.

LUTTERBECK, C. A.; ZERWES, F. V.; RADTKE, J. F.; KÖHLER, A.; KIST, L. T.; MACHADO, Ê. L. Integrated system with constructed wetlands for the treatment of domestic wastewaters generated at a rural property – Evaluation of general parameters ecotoxicity and cytogenetics. **Ecological Engineering**, v. 115, p. 1-8, jan. 2018.

MARIA, M. A.; LANGE, L. C.; AMARAL, M. Avaliação da toxicidade de efluentes de branqueamento de pasta celulósica pré e pós-degradação biológica. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 417-422, dez. 2014.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; LEVY, C. E.; FONTANETTI, C. S.; MARIN-MORALES, M.A. Monitoring the natural attenuation of a sewage sludge toxicity using the *Allium cepa* test. **Ecological Indicators**, v. 56, p. 60-69, mar. 2015.

MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity evaluation of environmental pollutants using analysis of nucleolar alterations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 9796-9806, fev. 2015.

MIGID, A.H.M., AZAB, Y.A., IBRAHIM, W.M. Use of plant genotoxicity bioassay for The evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, p. 57-64, jan. 2007.

MIOT, H. A. Avaliação da normalidade dos dados em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 16, n. 2, p. 88-91, jun. 2017.

OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil utilizando o teste *Allium cepa*. **Ambi-agua**, v. 6, n. 1, p. 90-103, abr. 2011.

OLORUNFEMI, D. I.; OGIESERI, U. M.; AKINBORO, A. Genotoxicity Screening of Industrial Effluents using Onion bulbs (*Allium cepa* L.). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, Nigeria, v. 15, n. 1, p. 211-216, mar. 2011.

PONTA GROSSA. **Instrução Normativa LA nº 3 - 001**, sobre instruções complementares e a documentação necessária para o licenciamento da Atividade Industrial. Ponta Grossa. Secretaria de Meio Ambiente. 2018.

RIEDER, A.; RODRIGUES, F. A. C.; SANTOS, M.D. dos; PEGAIANI, K. N. A.; ABREU, E. Potencial bioativo de ervas-de-passarinho: efeito do extrato aquoso de folhas de *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. (Santalaceae) na mitose. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. 1-14, 5 jul. 2021.

RISSARDO, I. O.; QUIÑONES, F. R. E.; OGLIO, I. C. D.; PAULI, A. R.; BORBA, C. E. Avaliação da remoção de matéria orgânica e toxicidade de efluente de cervejaria tratado por eletrocoagulação. In: Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 10, 2019, Fortaleza. **Anais**. Bauru: Ibeas, 2019. Disponível em: www.ibeas.org.br. Acesso em: 04fev. 2021.

ROA, O.; YEBER, Mc.; VENEGAS, W. Genotoxicity and toxicity evaluations of ECF cellulose bleaching effluents using the *Allium cepa* test. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 3, p. 471-477, ago. 2012.

ROBERTO, M. M.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M.A. Antigeno toxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. **Genetics And Molecular Biology**, v. 39, n. 2, p. 257-269, jun. 2016.

ROVEROTO, G. P.; TELES, J. C.; VUITIK, G. A.; BATISTA, J. S. S.; BARANA, A. C. Craft Brewery Wastewater Treatment: a Fixed-Bed Single-Batch Reactor with Intermittent Aeration to Remove COD and TN. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p.1 – 14, abr. 2021.

SABEEN, M.; MAHMOOD, Q.; BHATTI, Z.A., FARIDULLAH, M.I., BILAL, M.; HAYAT, T.; IRSHAD, U.; AKBAR, T.A.; ARSLAN, M.; SHAHID, N. *Allium cepa* assay

based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations dueto heavy metal accumulation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 5, p. 1368-1374, mai. 2020.

SÁ JÚNIOR, E. F.; MELO, O. T.; SANTOS, R. L. Avaliação ecotoxicológica de um efluente industrial de reciclagem de papelão utilizando *Daniorerio* e *Allium cepa*. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia (UFAMA)**, v. 26, p. 01-07, jan. 2016.

SANTOS, A. C.; MARTINS, C. S.; MELO, N. A.; ALAMY FILHO, J.E. Quantificação das cargas de nitrogênio e fósforo na sub-bacia hidrográfica do ribeirão Bom Jardim (MG). **Revista Dae**, v. 68, n. 225, p. 15-33, set. 2020.

SOARES, L. M.; COLDEBELLA, P. F.; FRIGO, J.P. Water quality assessment of brazilian rivers using *Allium cepa* meristematic cells as a bioindicator. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 6983-6999, jan. 2021.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. **Ensayo de toxicidade aguda com sementes de lechuga *Lactuca sativa***. In: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. Ensayos toxicológicos para La evaluación de sustancias químicas em agua y suelo: la experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008.

SOUZA, C. C.; AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q. Ensaio toxicológico aplicado à análise de águas contaminadas por fármacos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 217-228, abr. 2020.

TRAPP, K. C.; HISTER, C. A. L.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; BOLIGON, A. A.; TEDESCO, S. B. Determination of phenolic compounds and evaluation of cytotoxicity in *Plectranthus barbatus* using the *Allium cepa* test. **Caryologia. International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**, v. 73, n. 2, p. 143-153, mai. 2020.

VIANA, L. O.; MARTINS, K. G.; SOUZA, K. V.; STROPARO, E.C. Fitotoxicidade de efluente da indústria cervejeira em sementes de *Lactuca sativa*. **Revista Internacional de Ciências**, v. 7, n. 2, p. 265-275, jan. 2018.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho realizou uma abordagem da geração ao tratamento do efluente de uma microcervejaria, com foco na redução de DQO e NT do mesmo. Verificou-se que o efluente gerado é poluidor e que necessita de adequado tratamento para ser disposto novamente ao meio ambiente. Em microcervejarias, muitas vezes não há espaço suficiente para implantação de uma ETE, além de possuir produção em batelada. Desta forma a ideia de um reator compacto para tratamento secundário e terciário do efluente foi proposto neste estudo. O reator compacto possuía leito empacotado com miniBiobob[®], operado a 30 °C com aeração intermitente e recirculação. Esta configuração proposta foi eficiente na remoção de DQO e NT, atendendo os níveis exigidos pela legislação. Além disso, através dos testes de genotoxicidade com *Allium cepa* mostrou que o tratamento realizado também reduziu o potencial genotóxico e mutagênico do efluente.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Este estudo apresenta grande potencial para continuidade e desta forma sugerem-se as seguintes ações:

- Realizar estudo de aumento de escala e de viabilidade econômica deste tipo de reator na melhor condição operacional obtida.
- Avaliar a aplicação do efluente tratado para fertirrigação devido ao resultado do crescimento das raízes no Capítulo 3.