Universidade de São Paulo
Escola de Engenharia de São Carlos
Departamento de Hidráulica e Saneamento

Heitor Róger Alves e Dias

Co-digestão anaeróbia de efluente têxtil com levedura residual oriunda do processo de fermentação alcoólica visando remoção de cor e produção de biogás

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos-SP

2020

Heitor Róger Alves e Dias

Co-digestão anaeróbia de efluente têxtil com levedura residual oriunda do processo de fermentação alcoólica visando remoção de cor e produção de biogás

Dissertação apresentada Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Márcia H. R. Z. Damianovic

São Carlos-SP

2020

Ficha catalográfica

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

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

D541c Dias, Heitor Rôger Alves e
Co-digestão anaeróbia de efluente têxtil com
levedura residual oriunda do processo de fermentação
alcoólica visando remoção de cor e produção de biogás /
Heitor Rôger Alves e Dias; orientadora Márcia Helena
Rissato Zamariolli Damianovic. São Carlos, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e
Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2020.

1. degradação anaeróbia. 2. corante azo. 3.
levedura residual. 4. co-digestão. 5. descoloração. 6.
metano. 7. efluente têxtil. 8. salino. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

Folha de julgamento**FOLHA DE JULGAMENTO**

Candidato: Engenheiro **HEITOR RÓGER ALVES E DIAS.**

Título da dissertação: " Co-digestão anaeróbia de efluente têxtil com levedura residual oriunda do processo de fermentação alcoólica visando remoção de cor e produção de biogás".

Data da defesa: 07/08/2020.

Comissão Julgadora:**Resultado:**

Profa. Dra. **Márcia Helena Rissato Zamarilli Damianovic**
(Orientadora)

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

Aprovado

Profa. Dra. **Sávia Gavazza dos Santos Pessoa**
(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

Aprovado

Prof. Dr. **Fabício Motteran**
(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

Aos meus pais, Dedé e Floriano
à Alcy
ao Lucas
Dedico com carinho

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida com saúde, por me fortalecer diariamente e me permitir aprender, seja sobre ciências ou sobre a vida. Sou grato e feliz por isso.

À minha família, por me apoiar sempre. Por sempre acreditar e se esforçarem para que eu tivesse o melhor.

Ao Lucas pelo companheirismo, carinho, pela paciência e por me ajudar a ser uma pessoa melhor.

À Alcy pela melhor amizade, por me apoiar e ouvir e se dedicar a me ajudar. Aos amigos do Grupo X, e Aqui tá Bom pela amizade e apoio.

À Ceci (André, Ju, Lady, Paty, Pipe e Tomás), por me acolherem a fazer esse período mais fácil de viver.

À minha orientadora Profa. Márcia por acreditar e confiar no meu trabalho. Pela sua disponibilidade para compartilhar o conhecimento, meu muito obrigado.

Aos técnicos do Laboratório de Processos Biológicos-LPB, Elô, Bell, Carol, Janja e Fernando pela ajuda e ensinamentos. Agradeço, também, aos demais profissionais do SHS: Sá, Priscila, Rose e Silvana.

Aos companheiros de pesquisa do LPB pelas inúmeras ajudas, ensinamentos e bons momentos. Agradeço especialmente a Alana, Cris, Drica, Fabrício, Fuess, GHDO, Jean, Jenny, Lili, Luana, Naty e Williane pelos ensinamentos e dicas que contribuíram para meu trabalho.

Aos colegas da Turma 2019/2020 PPG-SHS, em especial André, Andreza, Bruno, Gabi, Gabriel e Manu pela sincera amizade.

Ao programa PPG-SHS, à EESC e à USP pelo ensino de qualidade e toda a estrutura para que pudesse aprender e desenvolver minha pesquisa de maneira excepcional.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPESP pelo suporte financeiro e financiamento da pesquisa.

A minha psicóloga, Maria Luiza Ricomi, por me ouvir e me ajudar a entender meus anseios.

A todos que de alguma forma contribuíram no processo fazendo dele mais fácil.

Eu agradeço!

Ali morava um estranho homem
Acordava tão cedo que ainda era noite
Saia de sua casa envolto no sopro do vento,
Sem sentir fome ou frio
Caminhava por uma estrada de terra,
Por longos descampados
Caminhava horas a fio na sombra das estrelas
Sua companhia era o som dos insetos e os sussurros da Lua
Não tinha destino, mas por vezes o achava
Caminhava sem propósito,
E recolhia as latas do caminho
E as vezes, caminhava até o Sol
Pegava então uma das latas, e ali guardava todo o brilho
Voltava então por seu caminho
No bolso um raio de luz

Lucas Rocha Delatorre

Resumo

DIAS, Heitor Róger Alves e. Co-digestão anaeróbia de efluente têxtil com levedura residual oriunda do processo de fermentação alcoólica visando remoção de cor e produção de biogás. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

As indústrias têxteis são um segmento industrial importante no Brasil, sendo o estado de São Paulo responsável por 29,9% do valor bruto da produção Nacional do setor. Essas indústrias geram grandes vazões de efluentes com elevada concentração de sais, compostos utilizados no processo produtivo e presença de corantes não fixados no processo de tingimento. A remoção dos corantes ainda é um desafio, visto que as tecnologias mais utilizadas se baseiam na transferência de fase por adsorção em meios abióticos ou bióticos, gerando massas de lodo contaminadas, que requerem disposição. A presente pesquisa propôs o tratamento dessa classe de efluentes, pela transformação biológica do corante azo *Direct Blue 71*. Para tanto, a utilização, em codigestão com levedura residual de cerveja foi proposta, visando contribuir com compostos que acelerem o processo de degradação do corante, em etapa anaeróbia. Nos ensaios de batelada, avaliaram-se os efeitos de constituintes do referido efluente com concentração de NaCl ($1,50 - 8,25 - 15,00 \text{ g.L}^{-1}$) e de matéria orgânica, (DQO: $500 - 1500 - 2500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$) sobre a descoloração, associada à produção de biogás. Utilizou-se planejamento fatorial e análise de superfície resposta. Os mesmos fatores foram investigados durante a operação contínua de um reator anaeróbio de leito estruturado (ASTBR) nos intervalos de concentração de 500 a $1500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$, para DQO, e de $1,5$ a $24,0 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$, para salinidade. Resultados dos ensaios de batelada demonstraram que a eficiência de descoloração, em 72h, foi superior a 82% para todas as condições testadas. A velocidade de remoção de cor (K) e taxa máxima de produção de metano (R_{Max}) foram afetadas negativamente pela concentração de NaCl. Por outro lado, a matéria orgânica oriunda da levedura favoreceu R_{Max} e K , reduzindo os efeitos negativos da salinidade sobre esses fatores. No sistema contínuo, o ASTBR exibiu robustez no tratamento do efluente para salinidade de até $12,0 \text{ gNaCl.L}^{-1}$, com eficiências de remoção de DQO e de cor superiores a 70% e 80%, respectivamente.

A produção de biogás permaneceu estável durante toda a operação, com rendimento médio de produção de metano de $160 \text{ mL-CH}_4.\text{gDQO}^{-1}$. As diferentes condições operacionais aplicadas selecionaram a população microbiana do inóculo, impactando principalmente o domínio bactéria, permitindo o estabelecimento e manutenção dos processos bioquímicos de transformação dos constituintes avaliados. O estudo demonstrou o efeito positivo da utilização da levedura residual como fonte de doadores de elétrons e outros constituintes, como os nutrientes, contribuindo para o desenvolvimento do processo de remoção de cor e produção de biogás.

Palavras-chave: ambiente salino, concentração de NaCl, concentração salina, corantes azo, degradação anaeróbia, co-digestão, levedura residual, mediador redox, descoloração, salinidade, remoção de cor.

Abstract

DIAS, Heitor Róger Alves e. Anaerobic co-digestion of textile wastewater with residual yeast from alcoholic fermentation aiming color removal and biogas production. 2020. Master Thesis (Master in Hydraulic and Sanitation Engineering) - São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2020.

The textile industry is an important industrial segment in Brazil, being São Paulo's state responsible for 27% of the national production in the sector. These industries generate large effluent flows with a high concentration of salts, compounds used in the production process, and dyes not fixed in the dyeing process. The removal of dyes is still a challenge, since the most used technologies are based on phase transfer by adsorption in abiotic or biotic media, generating contaminated sludge, which require proper disposal. The present research proposed the treatment of this class of effluents, by biological transformation of the azo dye Direct Blue 71. Therefore, the use in co-digestion with beer residual yeast was proposed, aiming to contribute with substances that accelerate the process of degradation of the dye, in the anaerobic stage. In batch tests, the effects of residual yeast (COD: 500 - 1500 - 2500 mg-O₂.L⁻¹) associated with a concentration of NaCl (1.50 - 8.25 - 15.00 g.L⁻¹) was assessed on discoloration and biogas production. It was used factorial planning and response surface analysis. The same factors were investigated during the continuous operation of an anaerobic structured bed reactor (ASTBR) in the concentration ranges from 500 to 1500 mg-O₂.L⁻¹, for COD, and from 1.5 to 24.0 g-NaCl.L⁻¹, for salinity. Results from batch tests demonstrated that the discoloration efficiency, in 72 hours, was higher than 82% for all conditions tested. The rate of color removal (K) and the maximum rate of methane production (R_{Max}) were negatively affected by the concentration of NaCl. However, organic matter from yeast favored R_{Max} and K, reducing the negative effects of salinity on these variables. In the continuous system, ASTBR showed robustness in the treatment of effluent for salinity of up to 12.0 g-NaCl.L⁻¹, with COD and color removal efficiencies above 70% and 80%, respectively. Biogas production remained stable throughout the operation, with an average methane yield of 160 mL-CH₄.gCOD⁻¹. The different operational conditions applied selected the inoculum sludge population, mainly impacting the bacterium domain, allowing the establishment and maintenance of the biochemical

processes. The study demonstrated the positive effect of using residual yeast as a source of electron donors and other constituents, such as nutrients, contributing to the improvement of color removal process.

Keywords: textile effluent, saline, azo dyes, anaerobic degradation, co-digestion, residual yeast, redox mediator, discoloration.

Lista de figuras

Figura 1 - Participação das regiões no valor bruto de produção da indústria têxtil e número de empresas no Brasil.....	27
Figura 2 - Efluentes gerados nas etapas produtivas da indústria têxtil.....	28
Figura 3 - Diferentes aplicações de corantes	32
Figura 4 - Produção global de fibras têxteis.	33
Figura 5 - Estrutura do cromóforo azo.....	33
Figura 6 - Esqueleto antraquinônico.....	34
Figura 7 - Cromóforo H presentes em corantes índigos.....	35
Figura 8 - Estrutura molecular da fenotiazina-tiantrona.....	36
Figura 9 - Representação esquemática de um corante reativo.	37
Figura 10 - Estrutura de mediadores redox utilizados na biotransformação de poluentes.....	47
Figura 11 - Estrutura molecular do corante Direct Blue 71	50
Figura 12 - Sistema de válvulas 3 vias luer-slip de coleta de amostras gasosas e líquidas.	54
Figura 13 - Varredura nas concentrações de 5 a 100 mg.L ⁻¹ com indicação do comprimento de onda com maior absorbância, 587nm.....	55
Figura 14 - Curva de calibração corante Direct Blue 71, Concentração x Abs....	56
Figura 15 - Foto e esquema do ASTBR, apresentando reator e sistema de monitoramento da produção de biogás.	59
Figura 16 - Remoção de cor nos experimentos agrupados para as mesmas concentrações de salinidade (1,50, 8,25 e 15,00 g-NaCl.L ⁻¹).....	72
Figura 17 - Produção acumulada de metano para as diferentes condições experimentais.	73
Figura 18 - Remoção de cor nos experimentos agrupados para as mesmas suplementações de matéria orgânica expressa na forma de DQO (500, 1500 e 2500 mg-O ₂ .L ⁻¹).....	75
Figura 19 - Produção acumulada de metano agrupadas para as diferentes suplementações de matéria orgânica utilizadas.....	77
Figura 20 - Diagrama de Pareto dos coeficientes de regressão para a taxa máxima de descoloração, K. Nível de significância de 5%.....	79
Figura 21 - Gráfico de valores observados versus preditos para a resposta taxa máxima de descoloração, K (Z ₁).	81

Figura 22 - Superfície de resposta para a variável taxa máxima de descoloração, $K(Z_1)$ como função da suplementação de matéria orgânica e concentração de NaCl.	82
Figura 23 - Diagrama de Pareto dos coeficientes de regressão para a taxa máxima de produção de metano, R_{Max} . Nível de significância de 5%	84
Figura 24 - Gráfico de valores observados versus preditos para a resposta taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2).	85
Figura 25 - Superfície de resposta para a variável taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2) como função da suplementação de matéria orgânica e concentração de NaCl.	86
Figura 26 - a) Foto de amostras dos afluente e efluente do reator ao lado de amostra de água utilizadas para avaliação da remoção de cor. b) Espectro das amostra de afluente e efluente do ASTBR. Amostra coletada no dia 114 de operação, Final da Fase II, $ER_{Cor587} = 86\%$ e $ER_{VIS} = 79\%$	88
Figura 27 - Concentrações afluente e efluente do corante DB71 e eficiências de remoção de cor calculadas pelo pico de maior absorbância e pela área do espectro do visível durante operação do reator ASTBR.	89
Figura 28 - Gráficos boxplot apresentando a variação da eficiência de remoção de cor em cada fase operacional para análises pelo comprimento de onda de maior absorbância, ER_{Cor587} (a) e área do espectro do visível, ER_{CorVIS} , (b).	90
Figura 29 - Gráficos apresentando as concentrações afluente e efluente de DQO e sua eficiência de remoção (a) e boxplot apresentando a variação dos dados nas diferentes Fases operacionais do ASTBR.	92
Figura 30 - Gráficos de razão Al/AP(a) e alcalinidade parcial efluente (b) do reator ASTBR Durante Fases de operação.	95
Figura 31 - Gráficos apresentando boxplot do pH efluente (a), pH efluente e afluente (b) e condutividade durante operação do reator ASTBR (c).	96
Figura 32 - Gráfico da vazão de biogás, $Q_{diagás}$, vazão de metano, Q_{CH_4} e conteúdo de metano no biogás, $CH_4\%$, durante operação do reator ASTBR.	98
Figura 33 - Gráfico do rendimento da produção de metano, CH_4Y , e da produção volumétrica de metano, PV_{CH_4} durante operação do reator ASTBR.	99
Figura 34 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE para Domínio Bactéria (a-b-c) e Archea (d-e-f)) observados ao fim das análises batelada.	101

Figura 35 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE de fragmentos do rDNA 16S para o Domínio Bactéria. 105

Figura 36 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE de fragmentos do rDNA para o Domínio Archaea. 106

Lista de tabelas

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos em efluentes gerados nas etapas de produção de têxteis avaliados em diferentes trabalhos.....	29
Tabela 2 - Composição do efluente têxtil sintético e da solução de nutrientes traço.	51
Tabela 3 - Fatores estudados nos ensaios em batelada.	52
Tabela 4 - Condições experimentais do planejamento.....	53
Tabela 5 - Parâmetros de monitoramento e frequência de análise para ensaios em batelada.....	58
Tabela 6 - Condições operacionais aplicadas ao reator ASTBR operando em TDH de 24 horas com corante DB71 na concentração de 65mg.L ⁻¹	60
Tabela 7 - Parâmetros de monitoramento e frequência de análise para o reator ASTBR.....	61
Tabela 8 - Equações utilizadas para os cálculos das variáveis resposta durante monitoramento do reator em operação contínua.....	63
Tabela 9 - Pontos de coleta das amostras para análise microbiológica do reator ASTBR.....	64
Tabela 10 - Caracterização de leveduras residuais coletadas e comparação com caracterizações encontradas na literatura.....	66
Tabela 11 - Variáveis resposta do planejamento fatorial 3 ² apresentando os efeitos da suplementação de matéria orgânica com levedura residual e concentração de NaCl no meio na degradação de efluente têxtil simulado contendo Direct Blue 71.	69
Tabela 12 - Rendimento máximo da produção de metano obtido a partir dos dados do Modelo de Gompertz.	71
Tabela 13 - ANOVA dos coeficientes de regressão para a resposta taxa máxima de descoloração, K (Z ₁), com Nível de significância de 5%.....	79
Tabela 14 - ANOVA para o ajuste de um modelo quadrático à resposta taxa máxima de descoloração, K (Z ₁). Nível de significância de 5%.....	80
Tabela 15 - ANOVA dos coeficientes de regressão para a resposta taxa máxima de produção de metano, R _{Max} (Z ₂), com Nível de significância de 5%.	83
Tabela 16 - ANOVA para o ajuste de um modelo quadrático à resposta taxa máxima de produção de metano, R _{Max} (Z ₂). Nível de significância de 5%.....	85

Tabela 17 - Índices ecológicos, Shannon (H') e Dominância (D), calculados a partir das curvas densitométricas obtidas a partir dos perfis de bandas do DGGE correlacionados com os parâmetros de monitoramento das Fases das amostras. 104

Sumário

Ficha catalográfica	iv
Folha de julgamento	v
Agradecimentos.....	ix
Resumo	xiii
Abstract	xv
Lista de figuras	xvii
Lista de tabelas	xx
Sumário	xxii
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	24
2. REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1. Indústria têxtil.....	26
2.2. Efluente têxtil	27
2.3. Corantes têxteis	31
2.3.1. Classificação dos corantes de acordo com estrutura química.....	33
2.3.2. Classificação dos corantes quanto a aplicação.....	37
2.4. Tratamento de efluentes salinos	41
2.5. Tratamento de efluentes da indústria têxtil	42
2.6. Levedura residual como co-substrato para tratamento de efluentes têxteis	45
2.7. Mediadores redox na descoloração reductiva de azo corantes	46
3. OBJETIVOS	48
3.1. Objetivos específicos	48
4. MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1. Levedura residual	49
4.1.1. Origem da levedura residual	49
4.1.2. Caracterização da levedura residual	49
4.2. Efluente têxtil sintético	49

4.2.1.	Solução estoque de corante.....	49
4.2.2.	Efluente sintético	50
4.3.	Origem do inóculo.....	51
4.3.1.	Caracterização do inóculo	52
4.4.	Ensaio de batelada	52
4.4.1.	Avaliação da remoção de cor	54
4.4.2.	Determinação da constante de descoloração	56
4.4.3.	Análises físico-químicas	57
4.4.4.	Avaliação da produção de biogás	57
4.4.5.	Determinação de parâmetros cinéticos	58
4.5.	Operação de reator em regime contínuo	58
4.5.1.	Análises físico-químicas	61
4.5.2.	Ácidos graxos voláteis.....	62
4.5.3.	Quantificação da produção de biogás	62
4.6.	Análises microbiológicas.....	64
4.6.1.	Extração de DNA.....	64
4.6.2.	Reação em cadeia polimerase (PCR)	64
4.6.3.	Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE)	65
5.	RESULTADOS	65
5.1.	Caracterização da levedura residual.....	65
5.2.	Ensaio de batelada	69
5.2.1.	Efeitos da suplementação de matéria orgânica com levedura residual	70
5.2.2.	Efeito da concentração de NaCl.....	73
5.2.3.	Modelo empírico e superfície de resposta.....	78
5.3.	Operação do reator contínuo	87
5.3.1.	Avaliação da remoção de cor	87

5.3.2.	Avaliação da remoção de matéria orgânica (DQO)	92
5.3.3.	Alcalinidade, pH e condutividade	94
5.3.4.	Avaliação da produção de metano	97
5.3.5.	Ácidos graxos voláteis	100
5.4.	Análise da diversidade microbiana por DGGE	100
5.4.1.	Ensaio em Batelada	100
5.4.2.	Operação em regime contínuo	102
6.	CONCLUSÕES	107
7.	REFERÊNCIAS	108

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A indústria têxtil apresenta grande relevância para a indústria nacional e, em especial, para o estado de São Paulo, que é responsável por 29,9% do valor bruto de produção nacional, valor na ordem de 26,6 bilhões de reais no ano de 2017 (IBGE/SIDRA, 2017). A indústria têxtil paulista produziu cerca de 574 mil toneladas de produtos têxteis, em 2017 (SINDTÊXTIL, 2018).

Associados aos processos de produção da indústria têxtil e de confecção, tem-se a geração de efluentes caracterizados pela presença de corantes, sais, sólidos e elevada matéria orgânica, sendo esses efluentes gerados em diferentes valores de pH (BISSCHOPS; SPANJERS, 2003). Esse efluente apresenta elevado potencial poluidor, visto que suas características apresentam capacidade de alteração da qualidade da água pelo consumo de oxigênio, conferindo cor, afetando os processos fotossintéticos, aumentando a concentração de sais no meio, além de contaminar o ambiente com compostos recalcitrantes tóxicos afetando fauna, flora e humanos (DOS SANTOS; CERVANTES; VAN LIER, 2007; PINHEIRO; TOURAUD; THOMAS, 2004; VAN DER ZEE; VILLAVERDE, 2005).

A legislação brasileira impõe limites para alguns parâmetros de lançamentos de efluentes (pH, temperatura, concentração de óleos e graxas, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), contaminantes orgânicos e inorgânicos, entre outros) e suas condições e padrões de lançamento de acordo com o enquadramento do corpo hídrico (BRASIL, 2005, 2011). Dessa forma, segundo a Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), o efluente não deve alterar as características de enquadramento do corpo hídrico receptor e deve cumprir as metas obrigatórias da qualidade do efluente.

Um outro ponto a ser considerado está relacionado à presença de corantes nos efluentes das indústrias têxteis. A legislação não estabelece limites para o lançamento de efluentes com cor, apenas determina que o efluente não deve alterar a classificação do corpo hídrico. A maioria das empresas apenas cumpre a legislação, uma vez que condicionantes do licenciamento ambiental visam à manutenção da qualidade dos corpos d'água e o equilíbrio dos compartimentos ambientais, dessa forma lançando quantidades significantes de efluentes não tratado no ambiente, contendo corantes e outras moléculas com potencial de causar degradação ambiental.

Os corantes azo são os mais utilizados pela indústria têxtil, sendo produzidas cerca de 7×10^5 toneladas anualmente (PUVANESWARI; MUTHUKRISHNAN; GUNASEKARAN, 2006). Diferentes tecnologias são utilizadas com o objetivo de remoção de cor de efluentes têxteis, sendo o processo anaeróbio quando pensando em métodos biológicos, considerada uma das mais adequadas. Em condições anaeróbias, os equivalentes de redução são preferencialmente utilizados para a redução dos corantes azo, o que não ocorre em condições aeróbias, pois o oxigênio é um acceptor de elétrons mais eficiente, não permitindo que o elétron esteja disponível para a quebra das ligações azo, dessa forma não ocorrendo a remoção de cor. (DOS SANTOS, 2004). Por outro lado, deve-se atentar ao fato de que o processo de remoção de cor em condições anaeróbias está associado ao rompimento da ligação azo, que ao fim leva à geração de aminas aromáticas (JAYAPAL et al., 2018; POPLI; PATEL, 2014). Tais compostos conferem toxicidade ao efluente e recalcitrância à digestão anaeróbia, necessitando de pós tratamento, sendo normalmente empregado sistemas aeróbios (IŞIK; SPONZA, 2008; VAN DER ZEE; LETTINGA; FIELD, 2001; VAN DER ZEE; VILLAVERDE, 2005).

Sabe-se que a utilização de sistemas aeróbios como alternativa principal e exclusiva não é a melhor escolha para os efluentes têxteis. Em condições aeróbias, a remoção de cor está associada principalmente a adsorção dos corantes a biomassa, levando remoção de cor insuficiente, degradação incompleta dos corantes e seus subprodutos, gasto energético elevado no processo de aeração, além de problemas relacionados ao tratamento e disposição do lodo (VAN DER ZEE; VILLAVERDE, 2005; VICTRAL et al., 2017).

Limitações da utilização da tecnologia anaeróbia na remoção de cor estão associadas à velocidade do processo e à suplementação insuficiente de doadores de elétrons. Segundo Costa et al. (2010), a presença de um co-substrato, que poderá ser uma fonte de nutrientes e funcionará como doador de elétrons na reação de descoloração, apresenta condições favoráveis para a remoção de cor em biorreatores operados sob condições anaeróbias. A co-digestão possibilita a disponibilização de nutrientes aos microrganismos no processo de tratamento não presentes em determinados efluentes, como é o caso dos efluentes têxteis.

Dentro os resíduos agroindústrias produzidos no Brasil é passível de ser utilizado como co-substrato na degradação de corantes têxteis destacasse a levedura residual. A levedura residual é um dos resíduos gerados no processo de

fermentação alcoólica, caracterizado pela elevada demanda química de oxigênio (DQO), alto teor proteico e consequente elevada concentração de nitrogênio, além da presença de vitaminas e minerais em sua composição (MATHIAS; MELLO; SRVULO, 2014; TABUCHI, 2013). Dentre as vitaminas presentes na levedura residual tem-se a riboflavina, que atua como mediadores redox na descoloração redutiva de corantes têxteis (DOS SANTOS et al., 2005). Estudos mostraram que os mediadores redox podem ser utilizados como forma de acelerar a transferência de elétrons no processo de descoloração redutiva dos corantes azo (ENCINAS-YOCUPICIO et al., 2006; VAN DER ZEE; CERVANTES, 2009).

A partir das características dos efluentes têxteis e do potencial de remoção de cor em ambientes anaeróbios, o presente projeto visa avaliar a co-digestão de efluente têxtil salino com levedura residual oriunda do processo de fermentação cervejeira. Pretendeu-se que a levedura residual atuasse como fonte suplementar de doadores de elétrons e nutrientes, durante o processo de digestão anaeróbia, contribuindo para o balanço energético positivo, com a geração de metano.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Indústria têxtil

A indústria têxtil compreende o setor industrial responsável pela produção e processamento de fios, fibras, tecidos e posterior manufatura de vestuário, artigos de decoração, artigos para casas, entre outros produtos (BABU et al., 2007).

Dentre as indústrias de transformação no Brasil, o setor têxtil e de confecção se destaca em todo o mundo devido ao profissionalismo, tecnologia, criatividade e porte. A indústria têxtil nacional é autossuficiente na produção de algodão e referência mundial em moda praia, *jeanswear* e *homewear*. Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT), esse setor teve faturamento de US\$ 176,8 bilhões no ano de 2018, valor 7,3% maior que o ano anterior. É a segunda maior empregadora na indústria de transformação (setor industrial responsável por transformar um elemento em outro, ou seja, uma matéria-prima em um bem), gerando cerca de 1,5 milhões de empregos diretos e quase 8 milhões de empregos indiretos em mais de 25,2 mil empresas formais pelo país (ABIT, 2018).

O Brasil é o quinto maior produtor de têxteis do mundo e quarto maior na produção de confecções, porém com inserção global reduzida, uma vez que a maior parte da sua produção destina-se ao consumo interno (MILNITZ; LUNA, 2017). No

Brasil, a indústria têxtil se concentra em três regiões: sudeste, sul e nordeste (Figura 1).

O estado de São Paulo concentra 29,1% das indústrias têxteis e de confecção do país, sendo responsável por 29,9% do valor bruto de produção nacional (IBGE/SIDRA, 2017). Dentre os principais aglomerados têxteis do estado de São Paulo, destacam-se a Região Metropolitana de São Paulo, Campinas e região, Americana, Araraquara e Piracicaba (JUNIOR, 2017).

Figura 1 - Participação das regiões no valor bruto de produção da indústria têxtil e número de empresas no Brasil.

Fonte: IBGE (2017).

Observa-se, portanto, a importância da indústria têxtil e de confecção para o Brasil e, em especial, para o estado de São Paulo. O setor é formado por indústrias de pequeno e médio porte, que apresentam restrições econômicas para modernização de seu processo produtivo, implicando em produtos de maior custo quando comparado a produtos asiáticos.

2.2. Efluente têxtil

A geração de grande volume de efluentes líquidos está relacionada aos processos produtivos de têxteis, em que a utilização de grandes volumes de água é necessária nas etapas envolvidas. As características e a quantidade destes efluentes estão associadas às etapas do processo de fabricação, às técnicas, aos

equipamentos utilizados, ao material a ser processado, aos diferentes produtos químicos utilizados, entre outros (BISSCHOPS; SPANJERS, 2003; CORREIA; STEPHENSON; JUDD, 1994). (Tabela 1)

O processo mais comum de produção de têxteis envolve as etapas de engomagem, desengomagem, lavagem, branqueamento, mercerização, tingimento e enxaguamento, como apresentado na Figura 2.

No processo de engomagem, agentes engomantes como amido, derivados de amido, álcool polivinílico, poliácido, carboximetilcelulose entre outros são adicionados à fibra para conferir resistência e minimizar a quebra de fibras (CORREIA; STEPHENSON; JUDD, 1994). O efluente dessa etapa é gerado em menor quantidade quando comparado a outras, porém é caracterizado pelas elevadas demandas químicas de oxigênio (DQO), DBO e sólidos suspensos (BISSCHOPS; SPANJERS, 2003).

Figura 2 - Efluentes gerados nas etapas produtivas da indústria têxtil.

Fonte: Adaptado de Scholz (2018).

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos em efluentes gerados nas etapas de produção de têxteis avaliados em diferentes trabalhos.

Etapa	DQO (g.L ⁻¹)	DBO (g.L ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	SDT (g.L ⁻¹)	pH	Cor (ADMI)	Consumo de Água (L.Kg ⁻¹)
Engomagem	4,6 - 5,9	0,6 - 5,2	8,5 - 32,0	-	7,0 - 9,5	-	0,5 - 7,8
Desengomagem	4,6 - 5,9	1,7 - 5,2	16,0 - 32,0	-	-	-	3,0 - 9,0
Lavagem	8,0	0,1 - 2,9	7,6 - 17,4	-	10,0 - 13,0	694	19,1,0 -43,0
Branqueamento	6,7 - 13,5	0,1 - 1,7	2,3 - 14,4	4,8 - 19,5	7,0 - 12,4	153	2,5 - 124,3
Mercerização	1,6	0,05 - 0,1	0,6 - 1,9	4,3 - 4,6	5,5 - 9,5	-	232,7 - 308,2
Tingimento	0,2 - 4,6	0,01 - 1,8	0,5 - 14,1	0,05 ¹	5,0 - 10,7	1450-4750	5,0 - 300,2

DQO, demanda química de oxigênio; DBO: demanda bioquímica de oxigênio; ST, sólidos totais; ADMI, *American Dye Manufacturer Institute*; ¹No caso de corantes reativos a concentração de sais pode chegar a 60-100 g/L, dessa forma os valores listados na tabela podem variar de acordo a fibra e tipo de corantes utilizados.

Fonte: Adaptado de Beltrame (2000), Bisschops e Spanjers (2003); Dos Santos, Cervantes, Van Lier (2007); Encinas-Yocupicio et al. (2006) e Scholz (2018)

O excesso de agentes engomantes dificulta as etapas posteriores, tais como o tingimento, branqueamento e impressão. A desengomagem visa à retirada do excesso de material impregnado na etapa anterior. No processo utiliza-se hidrólise ácida ou enzimática, oxidação (brometo de sódio, clorito de sódio, etc.) e surfactantes para remover impurezas das fibras e excessos de engomantes (BABU et al., 2007).

No processo de branqueamento ocorre a remoção da cor natural presente nas fibras, visando a obtenção de fios claros e brilhantes (HOLKAR et al., 2016). A fibra é submetida a agentes oxidantes, tais como hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, silicato de sódio, entre outros agentes auxiliares (CORREIA; STEPHENSON; JUDD, 1994).

A mercerização consiste em impregnar os fios e tecidos com solução alcalina, comumente soda cáustica, para proporcionar aparência brilhante e sedosa, além de aumentar a absorção de corantes e conferir resistência (BABU et al., 2007). O efluente dessa etapa apresenta baixa DBO e teor de sólidos, elevado valor de pH, podendo apresentar óleos naturais e graxas (SARAYU; SANDHYA, 2012).

A etapa de tingimento ou pintura consiste em colorir as fibras e tecidos ou estampagem de tecidos. No tingimento, o corante é aplicado em um banho na forma de solução, enquanto na estampagem, o corante é aplicado em uma pasta espessa do corante para evitar sua propagação (HOLKAR et al., 2016). O efluente dessa etapa é caracterizado pela presença de corante não fixado a fibra, agentes auxiliares, elevada DQO ($1100-7500 \text{ mg-O}_2\cdot\text{L}^{-1}$), presença de metais pesados oriundos das moléculas dos corantes (Cr, Cu, Hg, etc.) entre outras substâncias utilizadas no processo de tingimento (CORREIA; STEPHENSON; JUDD, 1994; SCHOLZ, 2018).

O efluente têxtil é caracterizado pelo grande volume, alta turbidez, pela presença de sólidos orgânicos e inorgânicos, pela presença de óleos, graxas, surfactantes, íons metálicos, sais, ácidos e bases, entre outras substâncias utilizadas no processo de produção dos fios e tecidos durante a cadeia produtiva (BHATIA et al., 2017; BISSCHOPS; SPANJERS, 2003; YANG et al., 2018). Uma das principais características dos efluentes têxteis é a presença de cor. Durante o processo de tingimento, dependendo da classe do corante, de 2% a 50% dos corantes utilizados são descartados no efluente do processo de tingimento. (PANDEY; SINGH; IYENGAR, 2007). Além do aspecto da água residuária impactar o ambiente, os

corantes e os subprodutos formados precisam ser removidos antes que essa atinja o ambiente, devido às suas propriedades carcinogênicas e mutagênicas (BAËTA et al., 2015). Além disto, corantes e outras substâncias presentes nos efluentes têxteis contribuem para o consumo de oxigênio dissolvido (OD) nos corpos d'água interferem no processo de fotossíntese, promovem a mortandade e a diminuição da biodiversidade aquática, além de apresentarem propriedades recalcitrantes permanecendo no ambiente por décadas (BAËTA et al., 2013; CERVANTES; SANTOS, 2011; SARATALE et al., 2011).

Diante da necessidade de prevenção da degradação ambiental oferecida pelo efluente têxtil, assim como o atendimento à legislação nacional de disposição de efluentes, a adoção de medidas para redução dos impactos gerados por esses efluentes é fundamental.

2.3. Corantes têxteis

Os corantes, além da utilização em fibras têxteis, apresentam diversas aplicações, tais como na indústria de alimentos, cosméticos, na pigmentação de couro e papel, no cristal líquido de displays, indústria de tintas, na medicina, entre outros produtos, como apresentado na Figura 3 (MUSTROPH, 2014; SHAHID; ISLAM; MOHAMMAD, 2013; ZIARANI et al., 2018).

Corantes são classificados por diferentes em função de suas diferentes características, seja pela estrutura química, cor, método de aplicação, solidez, solubilidade, rota de síntese, origem, data de invenção, nome técnico, entre outras características (CLARK, 2011; GÜRSES et al., 2016).

Comumente, os corantes são classificados de acordo com sua aplicação ou estrutura química. De acordo com sua estrutura química, os grupos mais comuns são: os azos, os antraquinônicos, o índigo, o nitro, os sulfatados, entre outros. Quanto a sua forma de aplicação, os principais grupos são: reativos, dispersos, ácidos, básicos, diretos, entre outros (GÜRSES et al., 2016).

Na conformação dos corantes tem-se a presença de duas estruturas, uma responsável pela cor, os cromóforos, e os auxocromos, responsáveis pela intensificação da cor. Dentre os cromóforos, se destacam os azo ($-N=N-$), carbonila ($-C=O$), nitro ($-NO_2$), índigos, grupos quinoide. Os mais importantes auxocromos são as aminas ($-NH_3$), Carboxil ($-COOH$), sulfonato ($-SO_3H$), e hidroxila ($-OH$) (DOS SANTOS, 2004).

Figura 3 - Diferentes aplicações de corantes

Fonte: Adaptado de Shahid, Islam e Mohammad (2013).

Embora em domínio público não se tenha disponível o valor da produção anual de corantes têxteis, uma estimativa deste montante é assumir que em média 2% da massa da fibra têxtil é utilizada em massa de corante durante o processo de tingimento (BURKINSHAW, 2016). Segundo o relatório *Preferred Fiber & Materials-Market Report 2018*, a produção de fibras têxteis no ano de 2017 foi na ordem de 105×10^6 toneladas, das quais cerca de 51% foi de poliéster, 24,5% algodão e o restante dividido entre fibras sintéticas, de origem animal e vegetal, conforme apresentado na Figura 4. Dessa forma, pode-se estimar que a produção global de corantes para a indústria têxtil foi na ordem de $2,1 \times 10^6$ toneladas de corantes.

Figura 4 - Produção global de fibras têxteis.

Fonte: Adaptado de Textile Exchange (2018).

2.3.1. Classificação dos corantes de acordo com estrutura química

2.3.1.1. Corantes azo

É característica dos corantes azo a presença de uma ou mais estruturas do cromóforo azo, como apresentado na Figura 5. Nos corantes azo, os auxocromos direto, reativo e disperso são comumente encontrados em sua estrutura.

Figura 5 - Estrutura do cromóforo azo.

Fonte: Adaptado de Gürses et al. (2016)

Os corantes azo apresentam síntese relativamente simples e quase ilimitado número de substituintes, representam a classe de corantes maior e mais versátil,

compreendendo mais de 60% da produção mundial. São utilizados na produção de têxteis, fármacos, plásticos, papel, impressão entre outras, apresentando brilho e intensidade na cor (ANANTHASHANKAR et al., 2013; GÜRSES et al., 2016).

Os corantes azo são sintetizados pela reação conhecida como acoplamento diazo, na qual uma amina aromática diazotizada é acoplada a grupo fenol, naftol, amina aromática ou a algum composto que apresenta um grupo metileno ativo (FREEMAN; MOCK, 2007). A composição dos corantes azo confere a essas substâncias recalcitrância e produtos de degradação tóxicos, tais como aminas, entre compostos aromáticos utilizados em sua síntese.

2.3.1.2. Corantes antraquinônicos

Os corantes antraquinônicos são a segunda classe mais importante de corantes, apresentando vantagens como brilho e resistência ao desbotamento. Diferente dos corantes azo, que não possuem fontes naturais, os antraquinônicos são substâncias encontrados em fungos, bactérias, líquens e plantas (GÜRSES et al., 2016).

A síntese dos corantes antraquinônicos envolve a introdução de um substituinte em um esqueleto antraquinônico, conforme figura Figura 6 ou fechamento dos anéis precursores da antraquinona, sintetizando o núcleo. Diferente dos corantes azo, a variedade de estruturas resultantes é restrita, uma vez que a estrutura principal apresenta apenas oito centros de substituição (GREGORY, 2009).

Figura 6 - Esqueleto antraquinônico.

Fonte: Adaptado de Gregory (2009).

2.3.1.3. Corantes índigos

Corantes índigos são caracterizados pela coloração azul, sendo utilizados principalmente na coloração do jeans, presente em diferentes tons, podendo

apresentar efeito desbotado (ANANTHASHANKAR et al., 2013). A produção de outros compostos indigóides é relevante para a medicina, semicondutores e cosméticos (GÜRSES et al., 2016).

Uma particularidade do corante índigo é o fato de uma molécula pequena apresentar coloração azul, característica não evidenciada em corantes azo ou antraquinônicos, que requerem uma extensiva conjugação de grupos doadores e aceptores de elétrons (GREGORY, 2009). É presente nos corantes índigos o cromóforo H, responsável pela cor do índigo, apresentado na Figura 7.

Figura 7 - Cromóforo H presentes em corantes índigos

Fonte: Adaptado de Gregory (2009).

A principal rota de síntese desses corantes é baseada em variações do método Pfleger, que envolve a reação de anilina, formaldeído e cianeto de hidrogênio. O fenilglicinonitrilo, produto da reação, é subsequente hidrolisado e então tratado em meio básico de soda levando a formação indoxil, que após oxidação forma o índigo (GŁOWACKI et al., 2012).

2.3.1.4. Corantes sulfurosos

Os corantes sulfurosos são utilizados em sua maioria para coloração de fibras celulósicas. Constituem uma importante classe de corantes com bom custo benefício na entrega de corantes de cor terciária, especialmente na cor preta (GÜRSES et al., 2016).

São sintetizados pelo aquecimento de aminas aromáticas, fenóis ou compostos nitrogenados na presença de enxofre ou polissulfetos alcalinos. Corantes sulfurosos

são insolúveis em água e reduzidos para a forma leuco solúvel nos processos de tingimento utilizando sulfito de sódio (GREGORY, 2009).

Diferentemente das outras classes de corantes, não existe nos corantes sulforosos a presença de um cromóforo. Eles consistem em uma estrutura molecular de fenotiazina-tiantrona, na qual se tem a presença de pontes de sulfeto e grupos tiazina, Figura 8 (GREGORY, 2009).

Figura 8 - Estrutura molecular da fenotiazina-tiantrona

Fonte: Adaptado de Gregory (2009).

2.3.1.5. Corantes nitro e nitroso

Os corantes nitro e nitroso, caracterizados por apresentar moléculas pequena, são ideais para penetração em fibras densas, tais como poliéster. Primordialmente esses corantes eram utilizados no tingimento de fibras animais como lã e seda (GREGORY, 2009).

Formados pela reação de ácido nitroso com fenóis e naftóis, são caracterizados pela presença de um ou mais grupos nitro ou nitroso ligados a um grupo doador de elétrons através de um sistema aromático (GÜRSES et al., 2016).

2.3.2. Classificação dos corantes quanto a aplicação

2.3.2.1. Corantes reativos

Corantes reativos são caracterizados por apresentarem em suas moléculas um ou mais grupos reativos capazes de formar uma ligação covalente com um grupo compatível da fibra a ser tingida (GÜRSES et al., 2016). Os corantes reativos são formados de quatro partes principais, como apresentado na Figura 9:

1. O cromógeno ou cromóforo, parte responsável pela cor do corante;
2. O sistema reativo, que permite que o corante reaja com o substrato a ser tingido. Essa parte pode sofrer o fenômeno de hidrólise durante o processo de tingimento, tornando-o não reativo com a fibra têxtil. Tal fenômeno é indesejável, uma vez que, devido à inutilização do sítio reativo, diminui a eficiência de tingimento;
3. Uma unidade de ponte ou ligação, que liga o cromógeno ao sistema reativo;
4. Os grupos solubilizantes, que, ligados ao cromógeno, promove a solubilidade das moléculas do corante em água (CHATTOPADHYAY, 2011).

Figura 9 - Representação esquemática de um corante reativo.

Fonte: Adaptado de Chattopadhyay (2011).

Assim como nos corantes diretos, grupos de ácido sulfônico aderidos as moléculas garantem a solubilidade dos corantes reativos (GÜRSES et al., 2016). Os principais cromógenos presentes nos corantes reativos são os azos, antraquinona, trifendioxazina, ftalocianina e formazan (GREGORY, 2009; ZEE, 2002).

Os corantes reativos são utilizados principalmente na coloração de fibras celulósicas, proteínas e poliamida. Comumente, materiais submetidos à coloração com corantes reativos apresenta excelente resistência a processos de lavagem e à degradação pelos efeitos da luz solar (CHATTOPADHYAY, 2011).

2.3.2.2. Corantes ácidos

O nome corante ácido vem da condição na qual normalmente o processo de tingimento das fibras ocorre. São utilizados principalmente na coloração de fibras proteicas (seda e lã), poliamida sintética (nylon) e, em menor quantidade, fibras acrílicas, polipropileno, assim como misturas dessas fibras com algodão, poliéster, *rayon* (tecido de fibra celulósica), entre outros (CLARK, 2011; GÜRSES et al., 2016).

São caracterizados pela presença de um ou mais grupos do ácido sulfônico ou carboxílico em suas moléculas, sendo representado principalmente por compostos azo, antraquinônicos e trifenilmetano (CHATTOPADHYAY, 2011). Apresentam uma extensa gama de cores, conferem tons brilhantes, apresentando de ruim a excelente resistência à lavagem e aos efeitos da luz solar, características essas variando conforme estrutura química do corante (GÜRSES et al., 2016).

2.3.2.3. Corantes básicos

Os corantes básicos, também conhecido como corantes catiônicos, são caracterizados pela dissociação molecular em água, sendo o cátion resultante responsável pela coloração de fibras. A coloração será mais efetiva em fibras nas quais se tem a presença de sítios aniônicos, levando a formação de ligações covalentes. (GÜRSES et al., 2016). São utilizados principalmente na coloração de fibras acrílicas, papel, nylon e alguns poliésteres modificados (CLARK, 2011).

Corantes básicos são aplicados ordinalmente em condições fracamente ácidas (pH= 4,5-5,5), com controle de temperatura, normalmente na presença de agentes retardantes, visando controlar a taxa de tingimento e formação de camadas uniformes (FREEMAN; MOCK, 2007). O corantes básicos apresentam alta taxa de transferência para a fibra, resultando em tingimento com alta resistência, não necessitando de pós-tratamento para melhor fixação (RICHARDS, 2012).

São representados principalmente pelas classes *diazahemicyanine*, triarilmetano, cianina, tiazina, oxazina entre outras (GREGORY, 2009).

2.3.2.4. Corantes dispersos

Os corantes dispersos foram desenvolvidos para a coloração da primeira fibra hidrofóbica desenvolvida, o acetado de celulose, sendo atualmente empregados no tingimento de fibras sintéticas (acetato de celulose, poliéster, poliamida, acrílico, entre outras) (FREEMAN; MOCK, 2007; ZEE, 2002).

Corantes dispersos são caracterizados pela pouca ou inexistente solubilidade em água, apresentam caráter não iônico e normalmente são aplicados em fibras hidrofóbicas a partir de dispersões aquosas (CLARK, 2011). Os cromóforos azo e antraquinona representam cerca de 85% dos corantes dispersos, sendo o restante representado por *styryl*, metino, nitro, entre outros (CHATTOPADHYAY, 2011).

A classe de corantes dispersos é diversa em cores, apresenta boa resistência à lavagem, com resistência aos efeitos da luz solar dependendo da estrutura do corante empregado (FREEMAN; MOCK, 2007). Os corantes dispersos são também empregados nos processos de impressão por transferência térmica e transferência térmica por difusão de corante para impressão fotográfica digital (GÜRSSES et al., 2016).

2.3.2.5. Corantes diretos

Corantes diretos são moléculas caracterizadas por uma estrutura planar, altamente conjugada, que apresentam uma ou mais estrutura de sais de sódio oriundos do ácido sulfônico, que confere solubilidade a essas moléculas. A presença de uma estrutura planar e o comprimento da molécula permite maior interação pelas forças de van der Waals, dipolo e pontes de hidrogênio entre a molécula do corante e as fibras celulósicas (CHATTOPADHYAY, 2011). Comparado com outros corantes, os corantes diretos apresentam alta massa molecular que, geralmente, promove uma maior fixação (GÜRSSES et al., 2016).

Utilizados principalmente no tingimento de algodão, celulose regenerada, papel, couro e, menos comumente, nylon, os corantes diretos são principalmente compostos azo, alguns representantes estilbenos, ftalocianinas, e oxazinas (GREGORY, 2009). São corantes de fácil aplicação, apresentando uma ampla gama

de cores e custo relativamente baixo (CLARK, 2011). Raramente corantes diretos são aplicados na forma de misturas, uma vez que o controle do tingimento seria mais difícil (RICHARDS, 2012).

Os corantes diretos são divididos em três classes (A, B e C) de modo a auxiliar na combinação apropriada para o resultado final da cor. A classe A são corantes com boa migração e uniformidade, sendo empregado de 5-20% de sais no início do processo de tingimento. Corantes da classe B apresentam inferior migração e uniformidade, e requer um maior controle na adição de sais a fim de obter uma boa qualidade de tingimento. Apresentam moléculas maiores e tem maior resistência a lavagem. Os corantes da classe C possuem as maiores moléculas entre os corantes diretos, conseqüentemente, apresentam a maior resistência a lavagem, e, por outro lado, a pior migração e uniformidade na aplicação.

Apesar dos corantes diretos apresentarem alta substantividade, isto é atração do corante para a fibra ou tendência de sair da solução de corante para a fibra, tal fato não os leva a apresentarem elevada exaustão, ou seja razão entre a quantidade de corante absorvida pelo substrato e a quantidade de corante originalmente disponível, o que conseqüentemente leva a uma baixa reprodutibilidade de cores no processo de tingimento (GÜRSES et al., 2016).

No presente estudo foi utilizado o corante *Direct Blue 71*, no qual está presente três estruturas do cromóforo azo, que quando quebradas, levam a formação de aminas. O DB71 é um corante de aplicação direta aplicado na indústria têxtil na coloração de produtos à base de algodão, caracterizado pela coloração azul escura, apresenta solubilidade de 10 g.L⁻¹ em água (60 °C) (“WDV”, 2020).

Historicamente, com o avanço da química orgânica milhares de novos corantes foram sintetizados em poucas décadas, ocorrendo uma grande expansão da indústria química na Europa, onde atualmente cinco empresas produzem 75% da demanda mundial de corantes (BOOTH et al., 2012; GREGORY, 2009). Junto ao desenvolvimento dos corantes e de diversos outros produtos químicos, veio a preocupação em minimizar os impactos ambientais gerados pela produção e consumo. Dessa forma do desenvolvimento de técnicas de tratamentos de efluentes se faz sempre crescente de modo a minimizar a poluição ambiental.

2.4. Tratamento de efluentes salinos

Águas residuárias salinas tem origens em diferentes atividades industriais, como produtoras de fertilizantes, farmacêuticas, pesticidas, herbicidas, alimentos, corantes, têxteis, petroquímicas, mineração, processos de dessalinização, entre outras (LIN; SHYU; SUN, 1998).

O descarte de efluentes com elevada salinidade sem tratamento prévio tem o potencial de causar impactos ao desenvolvimento de organismos vivos em ambiente aquático, afetar na potabilidade da água, impactar na agricultura e fertilidade dos solos. Além disso, associado a salinidade, esses efluentes podem contaminar o meio com poluentes tóxicos e de difícil degradação, tais como metais pesados, compostos orgânicos, pesticidas, antibióticos, entre outras substâncias presentes no efluente (ZHAO et al., 2020). A gestão ambiental desses efluentes tem se tornado cada vez mais restritiva e o tratamento tem sido prioridade para geradores, pesquisadores, agências reguladoras e engenheiros (XIAO; ROBERTS, 2010).

Técnicas físico-químicas são empregadas para tratamento de efluentes salinos devido sua frequente recalcitrância, sendo mais comuns a utilização das técnicas de evaporação, coagulação-floculação, troca iônica e aplicação de membranas (LEFEBVRE; MOLETTA, 2006). Esses tratamentos estão relacionados a elevados custos de implantação e operação, sendo, quando possível, associados ou substituídos por técnicas biológicas.

Métodos biológico aplicado ao tratamento de efluentes salinos tem sido amplamente estudados e aplicados devido robustez, versatilidade, custos operacionais e possibilidade de recuperação energética pela produção de biogás (GAGLIANO et al., 2017; ZHAO et al., 2020).

A digestão anaeróbia é principal alternativas para o tratamento biológico de efluentes associado a produção de biogás, apresentando, no caso de efluentes salinos, algumas limitações devido toxicidade ao sódio e a outras substâncias presentes nesses efluentes (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008).

Geralmente, elevadas concentrações de sais podem afetar a atividade celular, provocar plasmólise e morte celular devido ao intenso crescimento da pressão osmótica. Associado a esse fator, está o fato de que os compostos orgânicos presentes nesses efluentes são pouco ou não biodegradáveis, dificultando a manutenção da atividade celular (LAY; LIU; FANE, 2010; MCCARTY, 1964; RINZEMA; LIER; LETTINGA, 1988; VYRIDES; STUCKEY, 2009). Alternativas para

superar os efeitos adversos ao tratamento biológico provocados pela salinidade e outras substâncias presentes nos efluentes salinos incluem aclimação, bioaugmentação, seleção de cepas, co-digestão, pré-tratamentos, (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008; ZHAO et al., 2020).

Lefebvre et al. (2007) afirmam que apesar dos obstáculos impostos pela salinidade, a digestão anaeróbia vem sendo utilizada de forma satisfatória no tratamento de efluentes com elevada salinidade, utilizando inóculos halófilos e processos de adaptação. Rinzema; Lier; Lettinga, (1988) observaram que a produção de metano a partir do acetato era inibida em 10, 50 e 100% respectivamente a concentrações de Na^+ de 5, 10 e 14 g.L^{-1} . Wang; Hou; Su, (2017) demonstraram que a atividade bacteriana na acidogênese, etapa intermediária da metanogênese, era pouco inibida a uma concentração de 20 g.L^{-1} de NaCl, por outro lado, a atividade metanogênica era significativamente afetada, causando um decréscimo de 42,2% na produção de CH_4 .

Apesar de alguns obstáculos, principalmente na produção de biogás, a digestão anaeróbia é aplicável ao tratamento de efluentes com elevada salinidade. A utilização de organismos halotolerantes ou aclimação são medidas utilizadas para alcançar estabilidade de reatores. Otimização de processos para cada tipo de efluente é fundamental para alcançar-se uma maior robustez na operação.

2.5. Tratamento de efluentes da indústria têxtil

Os principais desafios no tratamento de efluentes têxteis estão relacionados com sua composição, que além de ser muito complexa devido às diversas substâncias presentes, é variável de acordo o produto processado, tecnologia empregada, tipo de indústria, entre outros fatores. Dentre os desafios, a presença dos corantes torna essa tarefa mais difícil, visto que os corantes são desenvolvidos para apresentar resistência à degradação, seja pela luz, microrganismos, lavagem, entre outros fatores.

É fundamental que no processo de tratamento, sejam removidos os materiais sólidos, diminua-se a carga orgânica, remova-se substâncias com potencial poluidor (ácidos, bases, metais pesados, entre outras), cor e preferencialmente, remova-se os subprodutos gerados pela degradação desses corantes, visto que podem apresentar caráter tóxico a biota e a à saúde humana (VICTRAL, 2015).

O tratamento de efluentes têxteis é realizado por processos e operações físicos, químicos, biológicos ou a combinação destes, cada um apresentando suas vantagens e limitações.

Dentre os processos físico-químicos se destacam: a precipitação, coagulação, floculação ou flotação que, a partir da utilização de agentes químicos, promovem a aglomeração ou precipitação de substâncias presentes no efluente, para posterior remoção por processo físico. As técnicas de adsorção são empregadas, sejam em materiais mais tradicionais como o carvão ativado, zeolita e argila, ou mesmos em materiais alternativos como resíduos da produção vegetal (serragem, palhas, cascas de grãos, etc); Os processos oxidativos avançados (Permanganato, Peróxido de Hidrogênio, UV, Fenton, Cloro e derivados e Ozônio), que se baseiam na aplicação de radicais com alto poder oxidativo na degradação de moléculas orgânicas; Os processos de filtração por membrana (ultra-, nano-, micro filtração, osmose reversa, etc.) que possibilita a separação de partículas, coloides e macromoléculas através da passagem do efluente por membrana filtrante (HOLKAR et al., 2016; SIDDIQUE et al., 2017; WANG et al., 2011).

Tais processos apesar de melhorarem significativamente a qualidade do efluente, seja pela remoção do material em suspensão, diminuição da carga orgânica ou redução do potencial poluidor, apresentam alguns limitantes. A geração de lodo em grandes quantidades, muitas vezes com caráter tóxico, é um destes limitantes, necessitando de controle, tratamento e disposição adequada. Outros fatores limitadores são os altos custos e complexidades operacionais, como por exemplo, aqueles relacionados à aplicação de reagentes coagulantes, oxidantes e adsorventes, os elevados investimentos iniciais e de manutenção relacionados a alguns processos, como nos sistemas de filtração por membrana e nos processos oxidativos avançados. Ineficiências na remoção de corantes e degradação de compostos tóxicos presentes no efluente, ou simples transferência dessas substâncias para uma fase sólida também são fatores a serem considerados (POPLI; PATEL, 2014).

Os processos biológicos, que envolvem a utilização de bactérias, fungos, algas entre outros organismos na biodegradação das substâncias presentes nos efluentes têxteis, constituem outra alternativa para o tratamento de efluentes têxteis, com consequente melhoria nas características do efluente.

Quando comparados com o métodos físico, químicos e suas combinações, os processos biológicos: i) apresentam melhor custo benefício; ii) são mais ambientalmente corretos; iii) geram menor volume de lodo; iv) levam à degradação dos compostos presentes no efluente, ocasionando a remoção de cor e possível diminuição da toxicidade aliada à potencial mineralização da matéria orgânica; v) menor consumo de água (tratamento ocorre em altas concentrações sem a necessidade de diluição do efluente) quando comparado a outros métodos de tratamento (BHATIA et al., 2017; HOLKAR et al., 2016).

No tratamento de efluentes têxteis, os sistemas anaeróbio-aeróbio combinados são avaliados como umas das melhores alternativas na degradação e possível total mineralização dos efluentes têxteis (CERVANTES; SANTOS, 2011; POPLI; PATEL, 2014; VAN DER ZEE; VILLAYERDE, 2005).

Um outro ponto a ser analisado é que, em condições aeróbias, o oxigênio é aceptor preferencial de elétrons quando comparados aos corantes azo devido a presença de grupos funcionais eletrofílicos em sua estrutura. Dessa forma, os corantes não são reduzidos preferencialmente, tornando-os mais resilientes a processos aeróbios de degradação (VICTRAL et al., 2016).

Em contra partida, sistemas anaeróbios aplicados no tratamento efluentes têxteis apresentam condições favoráveis para a quebra das ligações azo, presentes nas moléculas dos corantes, levando a remoção de cor. Por consequência, tem-se a formação de aminas aromáticas e outros subprodutos, tóxicos e carcinogênicos a animais. Tais compostos são resistentes a tratamentos anaeróbios subsequentes, porém facilmente removíveis por processo aeróbio (COLLIVIGNARELLI et al., 2019).

A descoloração bacteriológica em processos anaeróbios inicia-se tipicamente pela redução anaeróbia catalisada pela azoredutase ou pela clivagem das ligações azo, seguida pela degradação das aminas aromáticas resultantes (SPONZA; IŞIK, 2005). Normalmente esse processo é mais facilmente alcançado pela ação de um consórcio microbiano, ao invés da utilização de um microrganismo isolado.

Além disso, o processo de descoloração por redução dos corantes azo é afetado significativamente por fatores como: tempo de detenção hidráulica (TDH); estrutura e concentração do corante; concentração da biomassa; toxicidade do efluente; características e concentração de substratos doadores de elétrons; presença de competidores no processo de redução (nitrito, nitrato, outros compostos orgânicos), e mediadores redox (VAN DER ZEE; VILLAYERDE, 2005).

A investigação da influência de mediadores redox e doadores de elétrons no processo de descoloração redutiva de corantes azo vem sendo estudada por diversos grupos de pesquisa (AMORIM et al., 2013; BAÊTA et al., 2012; BAHIA et al., 2018; BISSCHOPS; DOS SANTOS; SPANJERS, 2005; DOS SANTOS; CERVANTES; VAN LIER, 2006; VICTRAL et al., 2017).

2.6. Levedura residual como co-substrato para tratamento de efluentes têxteis

O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo e o segundo maior produtor de etanol, gerando quantidade expressiva de subprodutos no processo produtivo (GOVERNO DO BRASIL, 2017; RENEWABLE FUELS ASSOCIATION, 2018). A levedura residual é gerada durante o processo de fermentação alcoólica, sendo que a biomassa multiplica-se de três a seis vezes, valor esse que depende das condições de fermentação, substrato, tipo de levedura, condições de inoculação, geração da levedura, entre outros fatores (FERREIRA et al., 2010). Tal subproduto é destinado principalmente à alimentação animal, nutrição humana, entre outros (YAMADA et al., 2003).

A quantidade de levedura residual gerada durante os processos fermentativos varia de 1,5-4 kg (com 85 a 90% de umidade) para cada 100 litros de cerveja produzida (EL RAYES ENVIRONMENT CORP.; B.C. VANCOUVER, 1997; MATHIAS; MELLO; SRVULO, 2014). Este resíduo apresenta elevada concentração de sólidos (principalmente biomassa de levedura), alto teor proteico, presença de lipídeos, RNA, vitaminas (em especial as do complexo B), minerais (Ca, P, K, Mg, Fe, entre outros), presença de açúcares não fermentados na fase líquida, ácidos orgânicos, etanol, entre outros compostos orgânicos gerados no processo de fermentação (CABALLERO-CÓRDOBA; PACHECO; SGARBIERI, 1997; MATHIAS; MELLO; SRVULO, 2014; TABUCHI, 2013).

A levedura residual apresenta DQO variando de 160-277 g.L⁻¹, fato justificado pela grande quantidade de sólidos, etanol e outros compostos presente na suspensão (DI BIASE et al., 2018; NEIRA; JEISON, 2010; ZUPANČIČ; PANJIČKO; ZELIĆ, 2017). Tal característica, associada à presença de nutrientes e da riboflavina, faz desse efluente agroindustrial uma boa fonte de doadores de elétrons, mediador redox e nutrientes para a digestão anaeróbia com efluentes têxteis.

A codigestão da levedura residual com efluente da produção de cerveja mostrou-se favorável e apresentou incremento satisfatório da produção de biogás em estudos recentes (NEIRA; JEISON, 2010; ŠKRJANEC; MARINŠEK; ZUPANC, 2012; ZUPANCIC et al., 2000; ZUPANČIČ; PANJIČKO; ZELIĆ, 2017; ZUPANČIČ; ŠKRJANEC; MARINŠEK LOGAR, 2012).

Estudos demonstraram resultados satisfatórios de remoção de cor e DQO na co-digestão de efluente têxtil com co-substratos ricos em matéria orgânica biodegradável (RASOOL; MAHMOUD; LEE, 2015; SENTHILKUMAR et al., 2009, 2011)). Nessas condições, o co-subtrato atuou como fonte de elétrons para a descoloração redutiva de corantes azo, e em alguns estudos, como fonte de carbono para produção de metano (CH_4).

O uso de riboflavina, que atua como mediador redox no processo de degradação redutiva de corantes azo, tem sido estudado por diversos autores, apresentando resultados promissores (BAHIA et al., 2018; DOS SANTOS et al., 2004; ENCINAS-YOCUPICIO et al., 2006; VICTRAL et al., 2017).

2.7. Mediadores redox na descoloração redutiva de azo corantes

Os mediadores redox (MR), também conhecidos como transportadores de elétrons, são moléculas orgânicas capazes de oxidar e reduzir de forma reversível, proporcionando a habilidade de atuar como carreador de elétrons em diversas reações de oxirredução (WATANABE et al., 2009). Os mediadores redox aceleram reações pela diminuição da energia total de ativação de uma reação, sendo em alguns casos pré-requisito para que a reação ocorra (VAN DER ZEE; CERVANTES, 2009).

A Figura 10 apresenta a estrutura de mediadores redox utilizados na biotransformação de poluentes. Para um MR ser efetivo no processo de transferência de elétrons, seu potencial redox padrão (E'^0) deve idealmente estar entre os potenciais das duas reações intermediárias, a de oxidação que vai doar elétrons e a de redução que vai receber os elétrons. Porém, sua eficiência de funcionamento depende também de suas energias de ativação para os processos de oxidação e redução. (VAN DER ZEE; CERVANTES, 2009).

Figura 10 - Estrutura de mediadores redox utilizados na biotransformação de poluentes.

Fonte: Adaptado de Van der Zee e Cervantes (2009).

No processo de digestão anaeróbia, a degradação de compostos recalcitrantes por meio da redução, em reações de oxirredução, ocorrem geralmente em taxas lentas devido à transferência de elétrons limitada e aos efeitos tóxicos, levando esses sistemas a apresentarem fraco desempenho ou mesmo colapso (VAN DER ZEE et al., 2001).

A digestão anaeróbia apresenta altas eficiências no processo de descoloração de efluentes contendo corantes, porém o processo de descoloração ocorre normalmente lentamente, requerendo elevados tempo de detenção hidráulica (TDH)

(VAN DER ZEE; VILLAYERDE, 2005). Os MR são capazes de transferir elétrons em reações de oxirredução entre uma extensa variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, com potencial de aceleração do processo de redução dos corantes azo, principal classe de corantes utilizada pela indústria. Segundo Van der Zee e Cervantes (2009), a utilização dos MR tem se mostrado relevante para a aplicabilidade de processos biológicos na remoção de corantes azo de efluentes (VAN DER ZEE; CERVANTES, 2009).

A levedura residual, efluente da produção de cerveja, foi a fonte de substrato orgânico, de mediadores redox e nutrientes. A principal hipótese testada foi que o co-substrato levedura de cerveja poderia contribuir para a estabilidade do processo anaeróbio e aumentar a eficiência de degradação de corantes, com consequente remoção de cor por meio do favorecimento da cinética de descoloração anaeróbia

3. OBJETIVOS

Avaliar as eficiências de remoção de cor e de matéria orgânica, associada à produção de biogás em um biorreator anaeróbio utilizado para a co-digestão de efluente têxtil salino contendo o corante azo *Direct Blue 71* (DB71) e levedura residual proveniente da produção cervejeira.

3.1. Objetivos específicos

- Avaliar a influência da matéria orgânica oriunda de levedura residual e da concentração de NaCl na eficiência de remoção de cor e produção de biogás utilizando planejamento fatorial e reatores com alimentação em batelada.
- Avaliar a remoção de cor, a remoção de matéria orgânica e a produção de biogás em reator anaeróbio contínuo utilizado para co-digestão de efluente têxtil sintético com levedura residual.
- Avaliar os efeitos da suplementação de matéria orgânica e nutrientes da levedura residual e da concentração de NaCl na estrutura das comunidades microbianas utilizando DGGE.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi dividido em três etapas, a saber: A) Caracterização da levedura residual proveniente do processo de produção cervejeira; B) Ensaios em batelada para avaliação da influência da concentração de sais e matéria orgânica oriunda da levedura residual na remoção de cor e produção de biogás; C) Avaliação da remoção de cor e produção de biogás em um reator contínuo de escala de bancada.

4.1. Levedura residual

4.1.1. Origem da levedura residual

Amostras de levedura residual OP, obtidas em cervejaria artesanal localizada em Araraquara (SP), foram utilizadas nos experimentos. As amostras de levedura foram coletadas diretamente das dornas de fermentação onde o processo já se encontrava na fase final de produção e nas quais a levedura seria destinada ao descarte. A levedura residual foi centrifugada (Hettich MICRO200, a 9000 rpm, 5 min) para armazenamento. A parte sólida foi armazenada em baixas temperaturas (aproximadamente 3 °C) e a fase líquida congelada (-10 a -5 °C), visando diminuir a degradação do efluente.

4.1.2. Caracterização da levedura residual

A suspensão de levedura residual foi avaliada em relação aos parâmetros de DQO total e dissolvida - mg.L⁻¹ (APHA, 2012), valor de pH (Potenciômetro), série de sólidos (sólidos totais-ST, sólidos totais fixos-STF e sólidos totais voláteis-STV) (APHA, 2012), nitrogênio Kjeldahl (NTK) (APHA, 2012), carboidratos (DUBOIS et al., 1956; MILLER, 1959), quantificação de riboflavina (BUENO-SOLANO et al., 2009) e determinação de etanol (ADORNO; HIRASAWA; VARESCHE, 2014).

4.2. Efluente têxtil sintético

4.2.1. Solução estoque de corante

O *Direct Blue 71* (DB71), apresentado na Figura 11, é um corante azo direto que possui três cromóforos azo e três grupos sulfonatos que conferem ao corante uma maior solubilidade em meio aquoso, além de garantir uma melhor interação entre o

corante e a fibra. O DB71 é utilizado principalmente na indústria têxtil para coloração de fios e tecidos a base de algodão.

Figura 11 - Estrutura molecular do corante Direct Blue 71

Fonte: Sigma Aldrich.

Para a preparação de solução estoque do corante foram dissolvidos 6,5 g de DB71 (Sigma Aldrich – 50% pureza - CAS Number 4399-55-7) em 1000 mL de água destilada. A dissolução do corante foi realizada mediante agitação com auxílio de agitador magnético por 2 horas. A solução stock de DB71 ($6,5 \text{ g.L}^{-1}$) foi armazenada em frasco âmbar a temperatura ambiente para posterior utilização. Análise de demanda química de oxigênio foi realizada na solução estoque, obtendo valor de $827 \text{ g-O}_2\text{.gDB71}^{-1}$.

4.2.2. Efluente sintético

A formulação do efluente sintético seguiu as concentrações apresentadas na Tabela 2. A salinidade variou nos ensaios em batelada e durante operação de reator contínuo. A definição das concentrações dos componentes da água residuária sintética, solução nutriente e micronutrientes utilizadas nos testes foi baseada em outros estudos tratando efluentes têxteis sintéticos e reais (COSTA et al., 2010; FLORENCIO et al., 1993; SANTOS, 2012). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

No preparo do efluente sintético, tanto para ensaios em batelada quanto para o reator anaeróbio contínuo, foi considerada a pureza do corante. Dessa forma, como o corante apresentava 50% de pureza, utilizou-se o dobro do volume da solução estoque de corante a fim de se manter a concentração de corante em 65 mg.L^{-1} .

Tabela 2 - Composição do efluente têxtil sintético e da solução de nutrientes traço.

Parâmetro e constituintes	Ensaio batelada (mg.L ⁻¹)	Reator contínuo (mg.L ⁻¹)
DB71	65	65
NaCl	1500-15000	1500-24000
pH	6,8-7,2	-
Levedura residual (DQO, mg O ₂ .L ⁻¹)	500-2500	500-1500
K ₂ HPO ₄	250	250
MgSO ₄ .7H ₂ O	100	100
CaCl ₂	10	10
NaHCO ₃	600	600
Micronutrientes	1 mL.L ⁻¹	1 mL.L ⁻¹

Composição da solução estoque de micronutrientes.

Constituinte	mg.L ⁻¹
FeCl ₂ .H ₂ O	2000
ZnCl ₂	50
MnCl ₂ .4H ₂ O	500
NiCl ₂ .6H ₂ O	95
NaSeO ₃ .5H ₂ O	162
H ₃ BO	50
CuCl ₂ .2H ₂ O	40
CoCl ₂ .6H ₂ O	2000
AlCl ₃ .6H ₂ O	90
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	50

Com o objetivo de minimizar a acidificação do efluente antes da entrada do reator, a alimentação era preparada três vezes por semana.

4.3. Origem do inóculo

O inóculo anaeróbio utilizado nos ensaios em batelada e no reator contínuo foi coletado de dois reatores UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*) instalado na Avícola Dacar (Indústria de abate de aves), Tietê (SP) e da indústria Ingredion Brasil

(indústria de processamento e refino de ingredientes industriais de origem agrícola), Mogi Mirim(SP). A mistura do inóculo (50:50 % em massa) visou obter biomassa com maior diversidade microbiana.

4.3.1. Caracterização do inóculo

Os inóculos foram caracterizados por meio de análise de Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Voláteis (STV), Sólidos Totais Fixos (STF) conforme Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012) .

4.4. Ensaio de batelada

Ensaio de batelada foram realizados com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de matéria orgânica (levedura residual) e da salinidade do efluente na remoção de cor e produção de biogás no processo de codigestão. Os fatores estudados são apresentados na Tabela 3. Foi utilizado o planejamento fatorial 3^2 com duas repetições, totalizando 18 ensaios. Os níveis de salinidade (g-NaCl.L^{-1}) foram definidos a partir das características dos efluentes têxteis reais e de estudos avaliando os efeitos da salinidade em microrganismos durante tratamento de efluentes em ambiente anaeróbio. Os níveis de matéria orgânica promovida pela levedura residual, avaliados na forma de DQO ($\text{mg-O}_2\text{.L}^{-1}$) fornecida pela levedura residual foram definidos a partir de processos envolvendo o tratamento de efluentes da indústria cervejeira tendo a levedura residual como co-substrato.

Os resultados dos experimentos (Tabela 4) foram analisados com o uso do software Statistica 12.0 e o ajuste do modelo foi avaliado por análise de variância (ANOVA).

Tabela 3 - Fatores estudados nos ensaios em batelada.

Variável	Níveis da Variável 1		
	-1	0	1
DQO ($\text{mg-O}_2\text{.L}^{-1}$)	500	1500	2500
(g-NaCl.L ⁻¹)	Níveis da Variável 2		
	-1	0	1
	1,50	8,25	15,00

Tabela 4 - Condições experimentais do planejamento.

Experimentos	Planejamento Codificado		Planejamento Decodificado	
	DQO (mg-O ₂ .L ⁻¹)	(g-NaCl.L ⁻¹)	DQO (mg-O ₂ .L ⁻¹)	(g-NaCl.L ⁻¹)
1	-1	-1	500	1,50
2	-1	0	500	8,25
3	-1	1	500	15,00
4	0	-1	1500	1,50
5	0	0	1500	8,25
6	0	1	1500	15,00
7	1	-1	2500	1,50
8	1	0	2500	8,25
9	1	1	2500	15,00
10	-1	-1	500	1,50
11	-1	0	500	8,25
12	-1	1	500	15,00
13	0	-1	1500	1,50
14	0	0	1500	8,25
15	0	1	1500	15,00
16	1	-1	2500	1,50
17	1	0	2500	8,25
18	1	1	2500	15,00

Os ensaios foram realizados em frascos Duran™ com capacidade total de 2300 mL, preenchidos em 55% do volume (1250 mL de volume reacional) com efluente e inóculo. Foi mantida uma relação alimento microrganismo de 0,4 g-DQO.gSSV⁻¹. O lodo anaeróbio foi centrifugado (5 minutos, 9000 rpm) e o sobrenadante desprezado, a fim de diminuir o aporte de matéria orgânica presente no sobrenadante do lodo em suspensão. Os frascos foram vedados com butila e tampa rosqueável adaptada para acesso ao conteúdo do franco do reator. Foram colocadas duas agulhas (40 mm × 1,20 mm) acopladas a torneira 3 vias luer-slip para coleta de amostra gasosa e líquida, como mostrado na Figura 12. Após fechados, os frascos foram purgados por 15 minutos com nitrogênio e incubados a 30 °C e 130 rpm (Incubadora Shaker New Brunswick I26). Amostras líquidas e gasosas foram coletadas para análise em

períodos determinados no decorrer dos testes, atentando-se ao volume máximo de 10% do volume inicial de meio reacional.

Figura 12 - Sistema de válvulas 3 vias luer-slip de coleta de amostras gasosas e líquidas.

Fonte: Próprio autor

Experimentos controle foram feitos para cada suplementação de matéria orgânica avaliada visto que a relação A/M gerava diferentes quantidades de lodo no meio reacional. Esses ensaios denominados *Branco* eram compostos de lodo anaeróbio, solução nutriente e solução de corante sintético, estando ausente a levedura residual e NaCl no meio.

4.4.1. Avaliação da remoção de cor

A avaliação de remoção de cor nos ensaios foi realizada por meio da absorbância do pico do comprimento de onda de maior absorbância (Abs), Equação 1 (VAN DER ZEE; LETTINGA; FIELD, 2001). Determinou-se o pico de maior absorbância (587 nm) do corante *Direct Blue 71* por meio de varredura realizada no espectrofotômetro (Espectrofotômetro Macherey-Nagel, NANOCOLOR UVVIS II), Figura 13. As amostras foram previamente diluídas em solução tampão fosfato pH 7,4 (10,86 g.L⁻¹ de NaH₂PO₄·2H₂O e 5,98 g.L⁻¹ de NaHPO₄·2H₂O), objetivando garantir a estabilização e padronização do pH em todas as análises (VAN DER ZEE;

LETTINGA; FIELD, 2001), e as varreduras foram realizadas nas concentrações de 5 a 100 mg.L⁻¹.

Durante os ensaios alíquotas de 3 mL da fase líquida eram retiradas para análise de remoção de cor. As amostras foram centrifugadas (5 minutos, 9000 rpm) e o sobrenadante diluído duas vezes na mesma solução tampão utilizada para a varredura realizada previamente.

Equação 1: Eficiência de remoção de cor.

$$ER_{cor} = \left(1 - \frac{Abs_t}{Abs_{t0}}\right) \times 100$$

em que: ER_{cor} é a eficiência de remoção de cor num dado tempo, Abs_{t0} é a absorbância no tempo inicial e Abs_t é a absorbância num determinado tempo.

Figura 13 - Varredura nas concentrações de 5 a 100 mg.L⁻¹ com indicação do comprimento de onda com maior absorbância, 587nm.

Fonte: Próprio autor

Os resultados foram utilizados para a construção de uma curva de calibração (Concentração × Abs) utilizada para estimar degradação do corante DB71, apresentada na Figura 14.

Figura 14 - Curva de calibração corante Direct Blue 71, Concentração x Abs.

Fonte: Próprio autor

4.4.2. Determinação da constante de descoloração

Assume-se que, nas horas iniciais do experimento a concentração de matéria orgânica encontra-se em excesso, não sendo limitante do processo. Uma reação de primeira ordem em relação à concentração do corante foi utilizada para descrever o processo de descoloração. A taxa de pseudo-primeira ordem “k” foi determinada utilizando a Equação 2:

Equação 2:

$$A = A_0 \cdot e^{-kt}$$

Em que A é a Absorbância de corante num dado tempo, A_0 é a absorbância inicial do corante, k é a constante de primeira ordem de descoloração, e t é o tempo (calculado em dias e horas). O valor de K foi calculado avaliando os pontos

experimentais de maior taxa de descoloração considerando no mínimo quatro observações.

4.4.3. Análises físico-químicas

As análises de matéria orgânica (DQO), valores de pH e série de sólidos (ST, STF, STV) foram realizados de acordo metodologia APHA; AWWA; WEF, 2012.

4.4.4. Avaliação da produção de biogás

A composição de biogás (CH₄ e dióxido de carbono (CO₂)) foi determinada por cromatografia gasosa (GC-2014, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA) utilizando detector de condutividade térmica (TCD) de acordo LEBRERO et al., 2016. A concentração molar obtida por análise cromatográfica foi em seguida utilizada para calcular o volume de CH₄ produzido por cada batelada, utilizando o volume do *head space* e variação da pressão produzida como referência para os cálculos apresentados na Equação 3. A variação da pressão nos fracos foi monitorada durante o experimento utilizando um manômetro (MDD50, T&S Equipamentos Eletrônicos, São Carlos, SP, Brasil).

Equação 3:

$$V_{CH_4}^t = \frac{C_{CH_4}^t \times V_{headspace} \cdot R \cdot T}{P} + V_{CH_4}^{t-1}$$

em que: C_{CH₄}^t, V_{headspace}, R, T, P, V_{CH₄}^{t-1}, são respectivamente a concentração de CH₄ (mol.L⁻¹) em um dado tempo “t”, o volume do headspace (L), a constante dos gases ideais (0,082 atm.L⁻¹.mol⁻¹.K⁻¹), a temperatura (K), a pressão (atm), a produção acumulada de CH₄ no tempo “t-1” (L). Os cálculos foram realizados considerando condições padrões de temperatura e pressão, T = 273.15 K = 0 °C e P = 1 atm. O impacto da solubilização de gases na fase líquida não foi considerado nos cálculos devido a incapacidade de quantifica-los, uma despressurização periódica do sistema foi feita visando diminuir essa perda.

4.4.5. Determinação de parâmetros cinéticos

O modelo de Gompertz modificado foi ajustado aos dados de produção acumulada de CH₄ para cada batelada, com modelo descrito pela Equação 4 (ZWIETERING et al., 1990).

Equação 4:

$$Met(t) = Met_{max} \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{2,718281 R_{max}}{Met_{max}} (lag - t) + 1 \right] \right\}$$

em que: Met(t) (mL) é a produção acumulada de metano a um tempo t (h); Met_{max} é o volume máximo de gás produzido; R_{max} é a taxa máxima de produção (mL.h⁻¹); e lag é a fase lag anterior a fase exponencial de produção de metano (h). Os resultados foram modelados com os dados ajustados às condições normais de temperatura e pressão (CNTP).

Os ensaios em bateladas foram mantidos até que fosse observada estabilização na produção de biogás. A Tabela 5 apresenta o resumo das análises e frequência em que foram realizadas.

Tabela 5 - Parâmetros de monitoramento e frequência de análise para ensaios em batelada.

Parâmetro	Método	Frequência
DQO	Espectrofotométrico	Início e fim
pH	Potenciômetro	Início e fim
Cor	Espectrofotométrico	A cada duas horas no início com aumento do intervalo ao decorrer do ensaio
Biogás	Cromatografia Gasosa	A cada 2 horas no início com aumento do intervalo ao decorrer do ensaio

4.5. Operação de reator em regime contínuo

Os sistemas contínuos são bons para demonstrar robustez/resiliência e aplicabilidade de resultados obtidos em experimentos de batelada em sistemas

contínuos, que por muitas vezes estão mais próximos da realidade. Dessa forma, o principal objetivo do reator em regime contínuo foi avaliar o desempenho do reator ASTBR (*anaerobic structured-bed reactor*) durante o período em que foi alimentado com efluente têxtil, sob diferentes condições operacionais.

O reator ASTBR foi construído em acrílico com volume útil de 2,5 L, diâmetro de 90 mm e 530 mm e comprimento. O reator apresentou leito fixo contendo oito hastes de espuma de poliuretano (10×10×300 mm) fixadas em tela de aço inoxidável alocadas na estrutura do reator. A Figura 15 apresenta a foto do reator dentro da câmara de controle de temperatura.

Figura 15 - Foto e esquema do ASTBR, apresentando reator e sistema de monitoramento da produção de biogás.

Obs: Medidas em centímetros.

Fonte: próprio autor.

O reator foi inoculado com a mesma mistura de lodos utilizada nas bateladas. A inoculação foi baseada no protocolo descrito por ZAIAT; CABRAL; FORESTI, 1994. O lodo foi triturado após diluição em água (proporção 1:1), preencheu-se o reator com o lodo batido, já com as tiras de espumas de poliuretano dentro, até que as mesmas fossem cobertas pelo lodo, deixou-se em contato por duas horas, então drenou-se o excesso de lodo e, ao final, iniciou-se a alimentação por bombeamento.

O reator foi mantido em câmara (Adamo 313/R/E) com temperatura controlada em 35 °C. A alimentação, inserida no reator por bombeamento em fluxo ascendente, era preparada e armazenada a temperatura de 4 °C e então bombeada para o reator por bomba peristáltica Gilson, modelo Minipuls 3. O reator foi operado por 174 dias com 7 fases de operação, conforme apresentado na Tabela 6. A carga orgânica volumétrica teórica variou de 0,5 a 1,5 g.L⁻¹.d⁻¹ com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 24 horas e demanda química de oxigênio afluente (DQO_{af}) variando de 0,5 a 1,5 g.L⁻¹. A Tabela 7 apresenta as análises de monitoramento realizadas e as respectivas frequência durante o período de monitoramento.

Tabela 6 - Condições operacionais aplicadas ao reator ASTBR operando em TDH de 24 horas com corante DB71 na concentração de 65mg.L⁻¹.

Fase	DQO (mg-O ₂ .L ⁻¹)	TDH (h)	Tempo de operação (d)	NaCl (g.L ⁻¹)	NaHCO ₃ (g.g ⁻¹ DQO)
0	500	24	0-38 (38)	1,5	1,1
I	500		38-85 (47)	1,5	1,1
II	1000		85-104 (19)	1,5	1,1
III	1500		104-129 (25)	1,5	1,1/0,75
IV	1500		129-143 (14)	3,0	0,75
V	1500		143-153 (10)	6,0	0,75
VI	1500		153-164 (11)	12,0	0,75
VII	1500		164-174 (10)	24,0	0,75

Tabela 7 - Parâmetros de monitoramento e frequência de análise para o reator ASTBR.

Parâmetro	Método	Frequência
DQO	Espectrofotométrico	3 x Semana
pH	Potenciômetro	3 x Semana
Ácidos graxos voláteis	Cromatografia Gasosa	3 x Semana
Alcalinidade	Titulométrico	3 x semana
Remoção de Cor	Espectrofotométrico	3 x Semana
Biogás	Cromatografia Gasosa	3 x Semana

4.5.1. Análises físico-químicas

As análises de DQO bruta, valores de pH e série de sólidos (ST, STF, STV) foram realizadas de acordo metodologia APHA; AWWA; WEF, 2012. A alcalinidade foi avaliada seguindo metodologia descrita por RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986.

A avaliação da remoção de cor para o reator ASTBR foi realizada de duas formas. Seguiu a mesma metodologia de diluição utilizada nos ensaios em batelada descrita no item 4.4.1, seguindo a Equação 5, e analisando a área abaixo da curva de absorbância do corante no espectro do visível, de 400 a 750 nm, Equação 6.

Equação 5: Eficiência de remoção de cor pelo pico de maior absorbância, 587nm.

$$ER_{Cor587} = \left(1 - \frac{Abs_{ef}}{Abs_{af}}\right) \times 100$$

em que: ER_{Cor587} é a eficiência de remoção de cor num dado dia, Abs_{af} é a absorbância do afluente do reator e Abs_{ef} é a absorbância do efluente do reator.

Equação 6: Eficiência de remoção de cor pela análise do espectro do visível.

$$ER_{CorVIS} = \left(1 - \frac{\text{Área}_{ef}}{\text{Área}_{af}}\right) \times 100$$

em que: ER_{CorVis} é a eficiência de remoção de cor num dado dia, Área_{af} é a área do espectro do visível do afluente do reator e Área_{ef} é a área do espectro do visível do efluente.

4.5.2. Ácidos graxos voláteis

A quantificação de ácidos graxos voláteis (AGVs) foi realizada por cromatografia gasosa, em instrumento GC 2010 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, EUA) equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna HP-INNOWAX (comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 μm) seguindo método descrito por Adorno (2014).

4.5.3. Quantificação da produção de biogás

A vazão de gás foi monitorada diariamente por sistema tubo U de deslocamento de coluna d'água associado a um sistema Arduino conectado ao *headspace* do reator (VEIGA et al., 1990). A composição de biogás foi determinada por cromatografia gasosa (GC-2014, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA) utilizando detector de condutividade térmica (TCD) de acordo LEBRERO et al., 2016.

As variáveis resposta para avaliação do desempenho do reator ASTBR são: eficiência de remoção de DQO (ER_{DQO} , em %), Vazão diária de biogás ($Q_{\text{biogás}}^{\text{dia}}$, em $\text{mL} \cdot \text{dia}^{-1}$), produção volumétrica de CH_4 (PV_{CH_4} , em $\text{mL} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), rendimento de metano (CH_4Y , em $\text{mL} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{DQO}$), conteúdo de metano no biogás ($\% \text{CH}_4$, em %), eficiência de remoção de cor (ER_{Cor} , em %), razão alcalinidade intermediária-alcalinidade parcial (AI/AP). A Tabela 8 apresenta as equações para o cálculo das variáveis resposta apresentadas.

Tabela 8 - Equações utilizadas para os cálculos das variáveis resposta durante monitoramento do reator em operação contínua.

Variável	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de calculo
Eficiência de remoção de DQO, ER_{DQO}	%	$ER_{DQO} = \left(\frac{DQO_{af} - DQO_{ef}}{DQO_{af}} \right) \times 100$	DQO _{af} : DQO afluente ao reator (g.L ⁻¹) DQO _{ef} : DQO efluente ao reator (g.L ⁻¹)
Eficiência de remoção de cor, ER_{Cor587}	%	$ER_{Cor587} = \left(1 - \frac{Abs_{af}}{Abs_{ef}} \right) \times 100$	Abs _{af} : absorbância do afluente Abs _{ef} : absorbância do efluente
Eficiência de remoção de cor, ER_{CorVIS}	%	$ER_{CorVIS} = \left(1 - \frac{\acute{A}rea_{af}}{\acute{A}rea_{ef}} \right) \times 100$	Área _{af} : área do espectro do visível no afluente Área _{ef} : área do espectro do efluente
Vazão diária de biogás, $Q_{gás}^{dia}$	mL.d ⁻¹	$Q_{gás}^{dia} = \frac{V_{TU}}{t_{medição}}$	V _{TU} : volume de gás medido no tubo em U (mL) t _{medição} : tempo de medição (d)
Produção volumétrica de Metano, PV_{CH_4}	mL.CH ₄ .L ⁻¹ .d ⁻¹	$PV_{CH_4} = \frac{Q_{gás}^{dia} \times \%CH_4}{V_r}$	Q _{gás} ^{dia} : Vazão diária de biogás (mL.d ⁻¹) % CH ₄ : conteúdo de metano no biogás (%) V _r : Volume do reator (L)
Rendimento de metano, CH ₄ Y	mL.CH ₄ .gDQO ⁻¹	$CH_4Y = \frac{Q_{gás}^{dia} \times \%CH_4}{Q_{af} \times (DQO_{af} - DQO_{ef})}$	Q _{gás} ^{dia} : Vazão diária de biogás (mL.d ⁻¹) % CH ₄ : conteúdo de metano no biogás (%) Q _{af} : vazão afluente do reator (L.dia ⁻¹) DQO _{af} : DQO afluente ao reator (g.L ⁻¹) DQO _{ef} : DQO efluente ao reator (g.L ⁻¹)

4.6. Análises microbiológicas

As análises de DGGE teve como objetivo entender a dinâmica e diferenciação da comunidade microbiana durante os ensaios em batelada e durante operação do reator contínuo, conforme Tabela 9. Para as bateladas foram coletadas amostras ao fim de cada experimento. Para as bateladas, visando reduzir o número de amostras, as réplicas foram misturadas visto que as condições de operação eram iguais, ao fim resultando em 12 amostras. No reator contínuo foi comparado a diferença da comunidade microbiana presente no suporte de espuma (LE) e ao fundo do reator (LF). Para tal, foi feita a comparação das populações de arqueias e bactérias presentes nas amostras avaliadas utilizando eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE).

Tabela 9 - Pontos de coleta das amostras para análise microbiológica do reator ASTBR.

Coleta	Fase de operação	Condição do meio	
		DQO (mg-O ₂ .L ⁻¹)	NaCl (g.L ⁻¹)
Inóculo			
C1	Final da Fase III		1,5
C2	Final da Fase VI	1500	12,0
C3	Final da Fase VII		24,0

4.6.1. Extração de DNA

A extração de DNA das amostras do reator e das bateladas foi realizada utilizando fenol, clorofórmio e lise mecânica com auxílio de vórtex associado a aplicação de pérolas de vidro (150-212 µm Sigma-Aldrich) segundo método de Sakamoto; Maintinguer; Varesche, 2019. A qualidade do DNA extraído foi averiguada por eletroforese em gel de agarose 0,8%, corado com *Blue Green Loading Dye I*, de acordo com as instruções do fabricante.

4.6.2. Reação em cadeia polimerase (PCR)

O gene 16S do rRNA bacteriano foi amplificada utilizando os primers 968 FGC-1401 R (NUBEL et al., 1996) nas condições a seguir: Pré-desnaturação a 95 °C por 7 minutos; 45 segundos de desnaturação a 94 °C; Anelamento por 45 segundos a 56 °C; Extensão por 1 minuto a 72 °C; extensão final por 10 minutos também a 72 °C; e por fim resfriamento a 4 °C. Para o domínio Archaea a PCR foi realizada

utilizando os primers 1100 FGC e 1400 R (KUDO et al., 1997) nas seguintes condições: Pré- desnaturação a 94 °C por 5 minutos; 1 minuto de desnaturação a 94 °C; Anelamento por 1 minuto a 55 °C; extensão por 1 minuto a 72 °C; Extensão final por 7 minutos a 72 °C; e resfriamento a 4 °C.

Para as etapas de desnaturação, anelamento e extensão foram realizados 35 ciclos para os dois domínios analisados. Os produtos das PCR foram analisados por meio de eletroforese em gel de agarose 1,2% e corado com *Blue Green Loading Dye I* e como padrão de tamanho foi usado o marcador *Low DNA Mass Ladder (Invitrogen)*.

4.6.3. Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE)

Após a amplificação dos genes 16S rRNA foi realizada a técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE). Os produtos da PCR foram aplicados em gel de poliacrilamida com um gradiente linear desnaturante (ureia e formamida) de 45% a 65% (100% corresponde a 7M ureia – 40% v/v formamida deionizada). A eletroforese foi realizada em 75 Volts a 60 °C por 16 horas. O gel foi corado em solução de corante *Diamond™ Nucleic Acid Dye* (Promega) seguindo indicações do fabricante. Em seguida a imagem foi capturada com auxílio do software L.PixTouchb (Loccus Biotechnology) com iluminação UV. O perfil de bandas do DGGE foi analisado e o dendograma de similaridade foi obtido usando o software BioNumerics V.7.2. Para análise do índice de diversidade de Shannon (H) e Dominância (D) foi utilizado o software Past V.4.0.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização da levedura residual

A DQO bruta das amostras analisadas apresentou valores de 246,2 g-O₂.L⁻¹ e 275,8 g-O₂.L⁻¹, apresentando 68% e 52% DQO solúvel, respectivamente. Os valores elevados de DQO bruta encontrados são justificados pela presença de etanol, açúcares residuais (carboidratos), biomassa celular da levedura residual, entre outras substâncias. Os resultados obtidos indicaram o potencial de aplicação das leveduras testadas para o processo de digestão anaeróbia junto ao efluente têxtil. A Tabela 10 apresenta os resultados da caracterização em comparação com resultados apresentados na literatura.

Tabela 10 - Caracterização de leveduras residuais coletadas e comparação com caracterizações encontradas na literatura

Amostra	DQO (g-O ₂ .L ⁻¹)			Sólidos (g.L ⁻¹)			pH	Carboidratos (g.L ⁻¹)	Etanol (g.L ⁻¹)	NTK (g.L ⁻¹)
	Bruta	Dissolvida	Particulada	ST	STF	STV				
LR – OP*	246,2	167,6	78,6	122,6	0,6	117,0	4,8	40,8	33,7	7,5
LR – WB*	275,8	143,4	132,4	142,8	1,2	130,9	4,6	27,7	51,7	8,4
Zupančič et al. (2012)	277,0			188,0		177,0				11,4
Zupančič et al (2017)	265,0			185,0		175,0				12,0
Neira e Jeison (2010)	200,0	90,0	110,0							

ST: Sólidos totais, STF: Sólidos totais fixos, STV: Sólidos totais voláteis, NTK: Nitrogênio total Kjeldahl, *Leveduras residuais coletadas e utilizadas nos experimentos.

Os valores são considerados satisfatórios quando analisada a utilização desse resíduo para digestão anaeróbia, visto que os resíduos da produção de cervejas apresentam elevada DBO e consequentemente elevada relação DBO/DQO (MATHIAS; MELLO; SRVULO, 2014). As elevadas concentrações de carboidratos ($40,8 \text{ g.L}^{-1}$) e de etanol ($33,7 \text{ g.L}^{-1}$) nesses resíduos garantem uma fácil biodegradabilidade, sendo sua utilização apropriada como doador de elétrons para a redução do azo e como substrato para a metanogênese.

Apesar da maior parte da DQO estar na fração dissolvida, a concentração de sólidos – majoritariamente devido às células de levedura – é bastante elevada na levedura residual. Na amostra OP, o valor de ST determinado foi de $122,6 \text{ g.L}^{-1}$. O elevado teor de sólidos são os principais limitantes no processo de digestão anaeróbia da levedura residual pura. Tal fato é justificado pelo maior tempo de digestão, acúmulo de sólidos e formação de caminhos preferencias na manta de lodo (quando utilizando reatores UASB), possibilidade de acúmulo de compostos nitrogenados, visto que a concentração de compostos nitrogenados é grande nas células de levedura (NEIRA; JEISON, 2010; ŠKRJANEC; MARINŠEK; ZUPANC, 2012).

Nas amostras de levedura analisadas, a concentração de nitrogênio total NTK apresentou valores próximos àqueles encontrados na literatura – $7,5$ e $8,4 \text{ g.L}^{-1}$ para as leveduras OP e WB, respectivamente (Tabela 10). Para a suplementação do reator com uma DQO de $1500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$, seria introduzido no reator 80 mg.dia^{-1} de NTK total.

Škrajanc, Marinšek e Zupanc (2012) demonstraram que a adição de até 2,8% de levedura residual a reator UASB tratando efluentes da produção de cerveja não apresentaram efeitos negativos ao processo. Em um outro trabalho utilizando um reator anaeróbio em bateladas sequenciais (ASBR), a adição de até 12% apresentou valores satisfatórios de produção de biogás e remoção de DQO.

No presente estudo foi avaliada a suplementação de matéria orgânica a partir da levedura residual. Estudou-se, nas bateladas, a adição de DQO nos níveis de 500, 1500 e $2500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$. Tais valores representam adição de aproximadamente 0,2%, 0,5%, e 0,9% de levedura residual ao efluente têxtil, nessa ordem. A fração sólida da levedura residual adicionada aos experimentos foi de $0,5 \text{ g-ST.gDQO}^{-1}$. No reator contínuo, as concentrações de DQO avaliadas foram de 500, 1000, 1500 e 2500 mg-

$\text{O}_2\text{.L}^{-1}$; o que representou adição de aproximadamente 0,2%, 0,3%, 0,5% e 0,9% de levedura residual ao efluente têxtil, respectivamente.

Os resultados de remoção de DQO, em regime contínuo, demonstraram que a adição de levedura residual se mostrou satisfatória nas proporções avaliadas. Pode-se afirmar que o TDH estudado, de 24 horas, foi suficiente para degradação da fração sólida. Para as bateladas, observou-se a necessidade de longos períodos de monitoramento a fim de obter uma estabilização da produção de biogás, fato esperado e provavelmente ocasionado pela necessidade de um maior tempo de hidrólise da fase sólida. No ASTBR essa hidrólise ocorre com a retenção das partículas ao longo do leito do reator e no meio suporte.

O pH da levedura residual (pH 4,8) não afetou o processo de digestão, visto que o volume de levedura residual utilizado era muito pequeno, não tendo capacidade de alterar o pH do meio. De modo análogo, a presença do nitrogênio na forma de NTK, após diluição para um aporte de DQO $1500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$, foi de 40 mg-NTK.L^{-1} , adequada como fonte de nutrientes e não oferecendo ao consórcio microbiano pelo acúmulo de nitrogênio amoniacal. Segundo McCarty (1964), concentrações de nitrogênio amoniacal na faixa de 50 a 200 mg.L^{-1} apresentam efeito benéfico aos processos anaeróbios, não apresentando efeitos adversos até 1000 mg.L^{-1} .

Na fase líquida da levedura residual OP e WB, encontrou-se riboflavina na concentração de 0,15 e $0,21 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente, o que equivale a 0,40 e $0,56 \mu\text{mol.L}^{-1}$. O valor encontrado é pequeno quando pensamos em sua utilização como mediador redox, visto que para as suplementações de matéria orgânica com DQO de $1500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$ a concentração final de riboflavina no meio seria de aproximadamente $0,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ quando utilizando a levedura OP.

Por outro lado, ressalta-se que a maior parte da riboflavina está presente no interior das células de levedura, sendo provavelmente liberada durante o processo de digestão. Victral et al. (2017) encontraram $92 \mu\text{g}$ de riboflavina por grama de levedura após otimização da liberação da riboflavina do meio intracelular por pré-tratamento físico-químico. Pensando nessa relação, condições de suplementação de matéria orgânica com DQO de $1500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$, seriam aportados cerca de $0,70 \text{ g-ST.L}^{-1}$ que, seguindo essa relação, resultariam em $59 \mu\text{g.L}^{-1}$ de riboflavina no meio. Nos experimentos de remoção de cor realizados por Victral, utilizando $0,35 \text{ g.L}^{-1}$ de extrato de levedura produzido, o que representaria cerca de $32 \mu\text{g.L}^{-1}$ de riboflavina no meio, a ação do mediador resultou numa velocidade de descoloração 2,1 vezes

maior que o experimento sem a adição da riboflavina. Baêta et al. (2012) observou que a presença $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de extrato de levedura, com $50,0 \text{ } \mu\text{g}$ de riboflavina por grama de extrato, foi capaz de aumentar a remoção de cor em cerca de 30% e reator UASB tratando efluente sintético contendo Drimaren blue HFRL (50 mg.L^{-1}) e operado a temperatura ambiente.

Diante do exposto, observa-se a potencial aplicação da levedura residual como fonte de matéria orgânica biodegradável. Atuará como fonte de elétrons para a quebra das ligações azo e de carbono para produção de biogás com possível aproveitamento energético. Além disso a presença da riboflavina favorece o processo de descoloração.

5.2. Ensaio em batelada

O planejamento fatorial 3^2 com duas repetições foi utilizado para avaliação da influência da suplementação de matéria orgânica oriunda da levedura residual ($500, 1500$ e $2500 \text{ mg-O}_2\text{.L}^{-1}$) e da concentração de NaCl ($1,5, 8,25$ e $15,0 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$) na remoção de cor e produção de biogás. A descoloração com 12 e 24 horas de ensaio, a constante de descoloração, K , e a taxa máxima de produção de biogás (R_{Max}) foram utilizados como variáveis de desempenho do processo. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Variáveis resposta do planejamento fatorial 3^2 apresentando os efeitos da suplementação de matéria orgânica com levedura residual e concentração de NaCl no meio na degradação de efluente têxtil simulado contendo Direct Blue 71.

Ensaio	DQO ($\text{mg-O}_2\text{.L}^{-1}$)	NaCl (g.L^{-1})	Z_1 K (dia^{-1})	Z_2 Descoloração 12horas (%)	Z_3 Descoloração 24horas (%)	Z_4 R_{Max} ($\text{mLCH}_4\text{.h}^{-1}$)
1/10	500	1,50	$2,08 \pm 0,03$	$20,5 \pm 1,4$	$68,4 \pm 0,9$	$0,97 \pm 0,00$
2/11	500	8,25	$1,41 \pm 0,03$	$12,2 \pm 0,4$	$54,2 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,01$
3/12	500	15,0	$0,82 \pm 0,00$	$9,4 \pm 0,1$	$36,2 \pm 0,6$	$0,83 \pm 0,04$
4/13	1500	1,50	$2,07 \pm 0,02$	$54,5 \pm 0,3$	$79,6 \pm 0,3$	$6,49 \pm 0,45$
5/14	1500	8,25	$2,15 \pm 0,03$	$42,4 \pm 0,6$	$80,4 \pm 0,6$	$7,26 \pm 0,64$
6/15	1500	15,0	$1,49 \pm 0,02$	$34,9 \pm 0,8$	$73,9 \pm 0,2$	$3,94 \pm 0,14$
7/16	2500	1,50	$2,88 \pm 0,01$	$73,8 \pm 0,1$	$87,4 \pm 0,8$	$18,70 \pm 0,36$
8/17	2500	8,25	$2,82 \pm 0,04$	$63,9 \pm 1,0$	$91,7 \pm 0,0$	$19,76 \pm 0,37$
9/18	2500	15,0	$2,44 \pm 0,03$	$55,1 \pm 0,7$	$91,6 \pm 0,2$	$9,97 \pm 0,02$

5.2.1. Efeitos da suplementação de matéria orgânica com levedura residual

Os gráficos da Figura 16 apresentam os efeitos da suplementação de matéria orgânica com levedura residual na descoloração do corante azo DB71. Foram testadas as suplementações de DQO de 500, 1500 e 2500 mg-O₂.L⁻¹. Em todos os experimentos realizados, após 72 horas de monitoramento, a remoção final de cor alcançou valores acima de 82%.

Pelos gráficos a, b e c da Figura 16, observa-se que a concentração de matéria orgânica afetou positivamente a remoção de cor. Para as concentrações de 1500 e 2500 mg-O₂.L⁻¹, houve 100% de remoção de cor em cerca de 50 h de experimento ante o valor de 80% nos testes de 500 mg/L (após 72h).

Com o incremento da concentração de NaCl, houve um decréscimo mais acentuado na eficiência de descoloração para o menor nível de concentração de matéria orgânica estudado de 500 mg-O₂.L⁻¹. O comportamento sugere que, em condições com maior suplementação de matéria orgânica, os microrganismos conseguem suportar melhor as adversidades do meio. É também possível inferir que a suplementação de DQO de 500 mg-O₂.L⁻¹ tenha sido insuficiente para manter uma alta taxa de remoção de cor associados à realização dos outros processos microbianos que também demandam elétrons, como a metanogênese. Esse comportamento poderia ser minimizado caso o consórcio microbiano fosse adaptado às condições salinas de operação ou caso o aumento da salinidade fosse feito de forma gradativa (ZHAO et al., 2020).

Outras evidências dos efeitos da suplementação de matéria orgânica na remoção de cor podem ser verificadas na Tabela 11, em que quanto maior a concentração de DQO, para os experimentos com a mesma salinidade, maiores os valores de taxa de remoção de cor, K, e de descoloração em 12 e 24 horas.

Ao avaliar efeitos da concentração de matéria orgânica na produção de biogás, observa-se que, quanto maior a suplementação, maior a tangente da curva de produção acumulada de biogás (Figura 17). Este fato pode ser confirmado pelos valores de R_{Max} presentes na Tabela 11.

A partir da modelagem, observou-se que os valores de rendimento máximo da produção de metano (P_{Max}), Tabela 12, foram similares nas diferentes condições testadas. Visto que P_{Max} representa a produção máxima de metano estimada normalizada pela concentração de matéria orgânica. No intervalo de concentrações de matéria orgânica (DQO) testado, não foi evidenciada inibição por substrato, pelo

contrário, houve melhora do desempenho da digestão anaeróbia, refletido nos valores de R_{Max} . Os resultados indicam que a salinidade não interrompeu o processo de digestão anaeróbia.

Tabela 12 - Rendimento máximo da produção de metano obtido a partir dos dados do Modelo de Gompertz.

Ensaio	P_{Max} (mL-CH ₄ .gDQO ⁻¹)
1/10	229,9±1,3
2/11	225,2±2,0
3/12	217,7±2,2
4/13	255,4±6,7
5/14	250,9±7,4
6/15	259,0±0,4
7/16	225,6±2,5
8/17	251,6±8,0
9/18	271,0±0,4

Figura 16 - Remoção de cor nos experimentos agrupados para as mesmas concentrações de salinidade (1,50, 8,25 e 15,00 g-NaCl.L⁻¹)

Figura 17 - Produção acumulada de metano para as diferentes condições experimentais.

Pela Figura 17, observa-se que, para os experimentos com mesma concentração inicial de matéria orgânica, a produção final de biogás foi similar. Essa observação pode ser confirmada pelos valores máximos de produção, P_{Max} , obtidos na modelagem (Tabela 12). Além disso, observa-se maior fase de adaptação (fase *lag*) dos microrganismos ao meio nos ensaios com nível de salinidade de 15,0 g-NaCl.L⁻¹. Menores fases de adaptação poderiam ser observadas no caso de aclimação previa da biomassa à salinidade (CHEN; HAN; SUNG, 2003).

5.2.2. Efeito da concentração de NaCl

Os gráficos da Figura 18 apresentam os efeitos da concentração de NaCl na descoloração do corante azo DB71 ao longo do tempo. Foram testadas as salinidades de 1,50, 8,25 e 15,00 g-NaCl.L⁻¹. Em todos os experimentos realizados, após 72 horas de monitoramento, a remoção final de cor alcançou valores satisfatórios, sendo todos acima de 82%.

Pelos gráficos da Figura 18, constata-se que os resultados dos ensaios, variando a salinidade, apresentaram comportamento inverso àqueles quando se variou a suplementação de matéria orgânica. Quanto menor a concentração de NaCl, maior a

inclinação da curva de remoção de cor, evidenciando uma maior taxa de descoloração, K , como pode ser confirmado na Tabela 11. Consequentemente, quanto maiores valores de K para os experimentos de menor salinidade, maior foi a descoloração com 12 e 24 horas de experimento.

Nos ensaios *Branco*, à medida em que se aumentou a suplementação de matéria orgânica com levedura residual – e, consequentemente, a DQO do meio –, houve aumento da concentração de microrganismos adicionada a esses experimentos para manter a relação alimento microrganismo (A/M) fixa. Consequentemente, verificou-se um perfil diferente de remoção de cor para os ensaios em Branco nas diferentes suplementações de matéria orgânica estudadas.

Diante dessa variação experimental apresentam-se algumas justificativas para tal comportamento:

- (i) Como descrito na metodologia, o lodo anaeróbico foi centrifugado e o sobrenadante desprezado antes de misturado ao efluente a ser tratado, objetivando diminuir o aporte de matéria orgânica presente no sobrenadante do lodo em suspensão. É importante considerar que parte do material sólido do lodo apresenta características de biodegradabilidade, contribuindo para a presença de doadores de elétrons para quebra das ligações azo. Com isso, quanto mais biomassa no meio, maior o aporte de matéria degradável e maior será a remoção de cor, sem a necessidade de adição de outras fontes de carbono. Além disso, associado à presença de matéria orgânica no meio, ocorre a morte celular e liberação de material biodegradável;
- (ii) A adsorção, fenômeno presente nos lodos associados aos processos biológicos, sendo visualmente evidentes quando tratando efluentes com cor. Observou-se, nos testes em batelada Branco, que a remoção de cor foi de 11% para o Branco do experimento de DQO 500 mg-O₂.L⁻¹ (1,6 g-SSV.L⁻¹), 82% no Branco do experimento de DQO 1500 mg-O₂.L⁻¹ (4,1 g-SSV.L⁻¹) e 93% no Branco do experimento de DQO 2500 mgO₂.L⁻¹ (6,6 g-SSV.L⁻¹).

Figura 18 - Remoção de cor nos experimentos agrupados para as mesmas suplementações de matéria orgânica expressa na forma de DQO (500, 1500 e 2500 $\text{mg-O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)

A participação da matéria orgânica presente no lodo como doador de elétrons para quebra da ligação azo é a primeira hipótese. Bahia et al. (2018) e Victral et al. (2017) encontraram 12% de adsorção em lodo inativado durante experimentos em batelada (1 g-SSV.L^{-1}) tratando o monoazo Yellow Gold Remazol. Alvarez et al. (2016) em ensaios batelada de remoção de cor (1 g-SSV.L^{-1}) utilizando consorcio marinho avaliaram a descoloração de DB71 e encontraram 7% de remoção de cor por adsorção em lodo inativado e 12% por endogenia.

- (iii) Devido à relação A/M aplicada, quanto maior a DQO dos experimentos maior a concentração de biomassa, e consequentemente maior a ocorrência da endogenia, e consequentemente maior será a descoloração decorrente de processos endógenos.

Os efeitos do NaCl na produção de Biogás apresentaram pouca interferência no volume final produzido, como pode ser visto na Figura 19 e nos resultados da produção máxima estimados pelo modelo.

O comportamento da produção de biogás foi semelhante nas três concentrações de NaCl estudadas, sendo que ao final dos experimentos, o rendimento máximo estimado, P_{Max} ($\text{mL-CH}_4.\text{gDQO}^{-1}$), foi semelhante (Tabela 12). Por outro lado, ao avaliar a taxa máxima de produção de biogás, R_{max} ($\text{mL-CH}_4.\text{h}^{-1}$), observa-se o efeito da salinidade na atividade microbiana durante o processo de metanogênese, evidenciados nos valores de K presentes na Tabela 11.

De forma semelhante ao evidenciado a taxa de remoção de cor K, a taxa máxima de produção de biogás (R_{max}) foi afetada especialmente nos ensaios empregando

Figura 19 - Produção acumulada de metano agrupadas para as diferentes suplementações de matéria orgânica utilizadas

concentração de NaCl de 15,00 g.L⁻¹. Nessas condições, possivelmente a morte e consequente renovação celular competem com a produção de biogás, dessa forma afetando as taxas de produção de metano.

Nos experimentos observou-se leve aumento da taxa de produção máxima de metano à medida que aumentou a concentração de NaCl de 1,50 para 8,25 g.L⁻¹, com posterior decaimento ao se aproximar de 15,00 g.L⁻¹. Vyrides, Bonakdarpour, e Stuckey (2014) observaram comportamento semelhante, com a adição de 20,0 ou 30,0 g-NaCl.L⁻¹ aumentou-se a eficiência de descoloração em processo anaeróbio como a ensaios em batelada contendo corante azo Reactive Black-5.

Não foram observados inibição ou colapso do sistema para o nível máximo de salinidade estudado, evidenciando que é possível a produção de metano tratando efluente têxtil em concentrações mais elevadas de NaCl.

5.2.3. Modelo empírico e superfície de resposta

Os resultados do planejamento fatorial 3², realizado a partir dos dados obtidos nos testes de bateladas, foram utilizados para construção de um modelo empírico para as respostas taxa máxima de descoloração, K e Taxa máxima de produção de metano, R_{Max}. A partir da interação das variáveis “matéria orgânica” (X) na forma de levedura residual expressa em DQO (mg-O₂.L⁻¹) e a concentração de NaCl (Y) (mg.L⁻¹) foram geradas duas superfícies Z.

5.2.3.1. Taxa máxima de descoloração, K

A descoloração é uns dos principais indicativos da quebra da ligação azo e consequente início do processo de degradação das moléculas do corante. A taxa de descoloração descreve a velocidade do processo, sendo parâmetro importante para dimensionamento e operação de reatores tratando efluentes têxteis. O modelo construído que relaciona matéria orgânica (X) e concentração de NaCl (Y) aos valores de K encontrados experimentalmente é mostrado na Equação 7.

Equação 7:

$$Z_1 = 2,014 + 0,637X + 0,17X^2 - 0,381Y - 0,161Y^2 + 0,203X.Y$$

Todos os efeitos analisados, lineares e quadráticos, foram considerados importantes no teste ANOVA dos coeficientes gerados, sendo estatisticamente significantes ($p < 0,05$) (Tabela 13). O gráfico de Pareto apresenta os efeitos padronizados para os fatores e suas interações (Figura 20). Os efeitos lineares da suplementação de matéria orgânica são os mais significativos na estimativa de valores de K, em função da necessidade de doadores de elétrons para que ocorra a descoloração redutiva dos corantes azo.

Tabela 13 - ANOVA dos coeficientes de regressão para a resposta taxa máxima de descoloração, K (Z_1), com Nível de significância de 5%.

Fatores	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t_{Calc}	p-valor
Média	2,014	0,064	31,61	<0,0001
X	0,637	0,035	18,26	<0,0001
X^2	0,170	0,060	2,82	0,0155
Y	-0,381	0,035	-10,92	<0,0001
Y^2	-0,161	0,060	-2,67	0,0204
X.Y	0,203	0,043	4,76	0,0005

Figura 20 - Diagrama de Pareto dos coeficientes de regressão para a taxa máxima de descoloração, K. Nível de significância de 5%

A concentração de NaCl, por outro lado, afetou a resposta de forma negativa. Elevadas concentrações de NaCl podem conferir condições adversas no meio para desenvolvimento do consórcio microbiano, principalmente afetando a pressão osmótica. Dessa forma, em condições de elevada salinidade, ocorre diminuição da atividade celular e morte de microrganismos por lise celular e, como consequência, há redução da taxa de descoloração (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008).

Ao se avaliar a qualidade do ajuste do modelo quadrático, a regressão foi considerada estatisticamente significativa, com $p\text{-valor} < 0,0001$ (Tabela 14). O valor de F_{Calc} obtido foi de 96,5, valor muito superior ao valor tabelado de 3,10 (ao nível de 95%). Segundo Box; Wetz, 1973, para um modelo apresentar elevada capacidade de previsão o valor de F_{Calc} deve ser, no mínimo, de quatro a cinco vezes maior que o valor de F_{tabelado} . Para o modelo de previsão de K, F_{tabelado} foi de 3,10, assim F_{Calc} é 31 vezes o valor de F_{tabelado} , demonstrando que o modelo, para a faixa estudada, é altamente preditivo. O coeficiente de determinação (R^2) obtido foi de 0,976, indicando que o modelo quadrático explica 97,6% da variação total.

Tabela 14 - ANOVA para o ajuste de um modelo quadrático à resposta taxa máxima de descoloração, K (Z_1). Nível de significância de 5%

Fonte da variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{Calc}	p-valor
Regressão	7,2	5	1,4	96,5	<0,0001
Resíduos	0,2	12	0,0145		
Falta de ajuste	0,2	3	0,1	35,5	<0,0001
Erro puro	0,0	9	0,0028		
Total	7,3	17			

Por outro lado, a razão entre o quadrado médio da falta de ajuste e o quadrado médio do erro puro foi de 35,5, valor superior ao F_{tabelado} de 3,86, demonstrando que o modelo apresenta falta de ajuste, fato esse confirmado pelo teste estatístico, com $p\text{-valor} < 0,0001$. O erro puro representa uma variação aleatória nos dados experimentais, próximo a zero no presente estudo. Nesse caso, apesar da falta de ajuste ser baixa, o erro puro tende a zero, portanto o F_{Calc} da razão entre falta de ajuste e erro puro tende a valores elevados, superando muito o valor tabelado, como

indicado anteriormente, não atendendo as análises estatísticas. Mesmo não estando em conformidade com esta premissa estatística, o modelo descreve de forma satisfatória os dados encontrados como pode ser visto na Figura 21, para a coleção de dados obtidas experimentalmente.

Figura 21 - Gráfico de valores observados versus preditos para a resposta taxa máxima de descoloração, K (Z_1).

A Figura 22 apresenta a superfície de resposta obtida para a variável Z_1 (taxa máxima de descoloração, K) feita a partir do modelo empírico descrito na Equação 7. A resposta aumenta à medida que aumenta a variável X (DQO) que, como visto anteriormente, tem a maior contribuição no modelo estatístico. Nos níveis estudados, não foi possível identificar uma região ótima, porém compreende-se que com uma elevada suplementação de matéria orgânica, compatível ao potencial dos processos bioquímicos envolvidos, é possível manter-se elevadas taxas de remoção de cor em concentrações elevadas de NaCl, normalmente encontradas em efluentes de tingimento de têxteis.

Figura 22 - Superfície de resposta para a variável taxa máxima de descoloração, $K(Z_1)$ como função da suplementação de matéria orgânica e concentração de NaCl.

Os resultados indicaram que, em efluentes com o corante têxtil DB71 e com elevada salinidade, foi possível conseguir taxas elevadas de remoção de cor a partir da suplementação com levedura residual. Vale ressaltar que, além de fonte de carbono e de elétrons, a levedura apresenta em sua constituição nutrientes que auxiliam na manutenção da atividade microbiana e na obtenção das altas taxas de remoção de cor encontradas.

5.2.3.2. Taxa máxima de produção de metano, R_{MAX}

A produção de metano é uma das vantagens associadas ao tratamento de efluentes por processos anaeróbios. A taxa máxima de produção (R_{MAX}) representa a velocidade máxima de produção de metano por um consórcio microbiano.

Juntamente ao potencial de produção de metano, permite julgar a viabilidade do aproveitamento energético a partir da produção de biogás tratando efluentes. O modelo que relaciona concentração de matéria orgânica (X) e concentração de NaCl (Y) aos valores de R_{Max} (Z_2) obtidos experimentalmente é mostrado na Equação 8.

Equação 8:

$$Z_2 = 7,588 + 7,596X + 2,651X^2 - 1,904Y - 2,539Y^2 + 2,148X.Y$$

Assim como o encontrado para a modelagem da variável K (Z_1), todos as variáveis e suas interações analisadas foram considerados significativas pelos testes ANOVA dos coeficientes gerados, sendo estatisticamente relevantes ($p < 0,05$) (Tabela 15). O gráfico de Pareto apresenta os efeitos padronizados para os fatores e suas interações analisados, Figura 23.

Tabela 15 - ANOVA dos coeficientes de regressão para a resposta taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2), com Nível de significância de 5%.

Fatores	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t _{Calc}	p-valor
Média	7,588	0,732	10,37	<0,0001
X	7,596	0,401	18,94	<0,0001
X ²	2,651	0,694	3,82	0,0025
Y	-1,904	0,401	-4,75	<0,0005
Y ²	-2,539	0,694	-3,66	0,0033
X.Y	-2,148	0,491	-4,37	0,0009

Observa-se -se que os efeitos lineares da suplementação de matéria orgânica é o mais significativo na estimativa de valores de R_{Max} . A partir das diferentes reações que acontecem durante processo de digestão anaeróbia, a matéria orgânica é transformada a partir de uma série de reações em metano (ANUKAM et al., 2019). Não foi evidenciado inibição pelo substrato na produção de metano e considera-se que a composição da levedura residual auxilia na realização dos processos de remoção de cor e manutenção celular.

Figura 23 - Diagrama de Pareto dos coeficientes de regressão para a taxa máxima de produção de metano, R_{Max} . Nível de significância de 5%

A concentração de NaCl, por outro lado, apresentou efeito negativo na produção de metano. Outros estudos relataram que elevadas concentrações de NaCl conferem características adversas ao desenvolvimento, principalmente, das arqueas metanogênicas, responsáveis pela produção de metano (RINZEMA; LIER; LETTINGA, 1988; WANG; HOU; SU, 2017).

O modelo foi considerado estatisticamente significativo, com $p\text{-valor} < 0,0001$ (Tabela 16). O valor de F_{Calc} obtido foi de 85,7, valor superior ao valor tabelado de 3,10 (ao nível de 95%), demonstrando capacidade de previsão. O valor de R^2 obtido foi de 0,972, indicando que 97,2% da variação na taxa de produção de metano pode ser explicada em função da concentração de NaCl e de matéria orgânica, para os intervalos estudados.

No entanto, igualmente ao ocorrido para modelagem de K (Z_1), o modelo demonstrou falta de ajuste, confirmado pelo teste estatístico, com $p\text{-valor} < 0,0001$. Mesmo com a falta de ajuste, o modelo consegue antecipar os valores de R_{Max} com precisão admissível, sendo que, nos níveis mais baixos e mais elevados da resposta os ajustem pior qualidade, como pode ser verificado na Figura 24.

Figura 24 - Gráfico de valores observados versus preditos para a resposta taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2).

Tabela 16 - ANOVA para o ajuste de um modelo quadrático à resposta taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2). Nível de significância de 5%

Fonte da variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{Calc}	p-valor
Regressão	826,7	5	165,3	85,7	<0,0001
Resíduos	23,2	12	1,9		
Falta de ajuste	21,4	3	7,1	35,7	<0,0001
Erro puro	1,8	9	0,2		
Total	849,8	17			

A Figura 25 apresenta a superfície de resposta obtida para a variável Z_2 (taxa máxima de produção de metano, R_{max}) feita a partir do modelo empírico descrito na Equação 8. A resposta aumenta significativamente com a elevação da DQO inicial do experimento, variável X (DQO), que como demonstrado no gráfico de Pareto apresenta maior contribuição no modelo estatístico. Por outro lado, a taxa de produção de metano decresce com o aumento da salinidade, embora esses efeitos

negativos sejam de menor magnitude. Assim como para a taxa de remoção de cor, K, observa-se decréscimo de R_{Max} em concentrações elevadas de NaCl. Não foi possível identificar uma região ótima ou de suplementação máxima de matéria orgânica na qual ocorra inibição e redução das taxas de produção de metano. Logo, compreende-se que mesmo com elevadas concentrações de NaCl, $> 10,00 \text{ g.L}^{-1}$, é possível que elevadas taxas de produção de metano sejam alcançadas.

Figura 25 - Superfície de resposta para a variável taxa máxima de produção de metano, R_{Max} (Z_2) como função da suplementação de matéria orgânica e concentração de NaCl.

Os testes em batelada possibilitaram identificar os efeitos da salinidade e suplementação de matéria orgânica no processo de descoloração e produção de metano. Foi observado que, mesmo em elevadas salinidades, a levedura consegue

auxiliar na manutenção dos processos biológicos de remoção de cor e produção de biogás sem a necessidade de uma outra fonte externa de carbono.

5.3. Operação do reator contínuo

A operação em regime contínuo teve como objetivo avaliar a robustez ASTBR em operação contínua no tratamento de efluente têxtil sintético, junto à levedura residual em diferentes condições operacionais.

O reator ASTBR foi inicialmente operado por 38 dias (Fase 0), período em que foi alimentado com efluente sintético, semelhante ao efluente cujas características estão descritas no item 4.2.2. Nessa fase, a alimentação foi realizada sem a adição de corante, tendo a levedura residual como fonte de matéria orgânica (DQO de 500 mg-O₂.L⁻¹) para proporcionar a consolidação da biomassa no leito de espuma. Nas fases subsequentes, em que foi adicionado o corante, ocorreu aumento da carga orgânica volumétrica (COV) em função do aumento da concentração da DQO de entrada, além do aumento da concentração de NaCl.

5.3.1. Avaliação da remoção de cor

A eficiência de remoção de cor foi avaliada periodicamente por meio da leitura da absorbância no comprimento de onda de maior absorbância, ER_{Cor587}, e pelo método do registro do espectro visível, ER_{CorVIS}.

A Figura 26a apresenta o aspecto visual do afluente e efluente do ASTBR no dia 144 de operação, para esse dia a ER_{Cor587} = 86% e ER_{VIS} = 79%. Isso ocorre, pois, a molécula do DB71 apresenta três ligações azo, e a quebra de uma ou mesmo duas ligações não garante a remoção total de cor. No caso do DB71, ele parte de um azul intenso para um lilás, à medida que as ligações azo são quebradas. Dessa forma, a ER_{CorVIS} foi utilizada para avaliar a remoção de cor não só relacionada a quebra da molécula de DB71, mas também de outras substâncias que conferem cor ao efluente, sendo mais verdadeiro que pelo comprimento de onda de maior absorbância da solução pura do corante.

A Figura 26b apresenta os espectros das amostras, como pode ser observado, ocorre uma atenuação da intensidade do pico e mudança do comprimento de onda do pico de maior absorbância de 587 nm para 538 nm. Os resultados das

determinações analíticas de remoção de cor estão apresentados nas Figura 27 e 28 a e b.

Figura 26 - a) Foto de amostras dos afluentes e efluente do reator ao lado de amostra de água utilizadas para avaliação da remoção de cor. b) Espectro das amostras de afluente e efluente do ASTBR. Amostra coletada no dia 114 de operação, Final da Fase II, $ER_{Cor587} = 86\%$ e $ER_{VIS} = 79\%$.

A partir dos dados presentes na Figura 27, observa-se que a remoção de cor alcançou eficiências maiores que 70%, desde os primeiros dias de operação, seja avaliando o pico de maior absorbância, ER_{Cor587} , (x) ou a área do espectro do visível, ER_{CorVIS} , (+).

Observa-se que, na fase I, houve aumento gradativo da eficiência de remoção de cor, o que pode ser comprovado pela grande variação das eficiências nessa fase, conforme Figuras 28 a e b, associado ao período de adaptação do consórcio microbiano ao corante. Com aproximadamente 36 dias de operação (após a adição do corante), o ASTBR alcançou eficiências de 89 e 82%, respectivamente, para ER_{Cor587} e ER_{VIS} .

Figura 27 - Concentrações afluyente e efluente do corante DB71 e eficiências de remoção de cor calculadas pelo pico de maior absorbância e pela área do espectro do visível durante operação do reator ASTBR.

Na fase II, com o aumento da DQO para 1000 mg O₂.L⁻¹ (COV= 1 kg-DQO.m⁻³.d⁻¹), os valores de eficiência de remoção de cor permaneceram estáveis, oscilando em torno de 88,8±1,0 e 82,3%±1,3%, respectivamente, para ER_{Cor587} e ER_{VIS} (Figura 28 a e b). Este comportamento é semelhante àquele observado ao final da fase I, sem melhora significativa devido ao aumento da COV de 0,5 para 1,0 kg-DQO.m⁻³.d⁻¹.

Na fase III, com DQO de 1500 mg-O₂.L⁻¹ (COV= 1,5kg-DQO.m⁻³.d⁻¹), nota-se maior flutuação na eficiência de remoção de cor, porém a eficiência média foi mantida, apresentando valores de ER_{Cor587} e ER_{VIS} de 85% e 77%, nessa ordem.

Pelos resultados até aqui observados, é possível afirmar que a suplementação de DQO de 1500 mg-O₂.L⁻¹ foi suficiente para proporcionar a descoloração do corante azo DB71 nas condições estudadas, uma vez que as eficiências remoção de cor foram na maior parte do tempo superiores a 80%.

As fases IV, V e VI foram caracterizadas pela variação da concentração de NaCl no meio, com duração em média de 10 dias cada fase. As Fases IV, V e VI apresentaram valores estáveis de remoção de cor, com valores próximos a $ER_{Cor587} \cong 92\%$ e $ER_{VIS} \cong 86$. Dessa forma, pode-se dizer que o ASTBR teve desempenho satisfatório de remoção de cor sob concentrações de NaCl de até 12 g.L^{-1} . Nesse mesmo período, o pH do meio teve uma tendência crescente, tendo variado de 7,2 a 7,6.

Figura 28 - Gráficos boxplot apresentando a variação da eficiência de remoção de cor em cada fase operacional para análises pelo comprimento de onda de maior absorbância, ER_{Cor587} (a) e área do espectro do visível, ER_{CorVIS} , (b).

A fase VII, apesar de ter apresentado eficiências de remoção de cor de $91,6\% \pm 2\%$, ocorreram dificuldades operacionais, devido à precipitação de parte do corante sob concentração de NaCl de 24 g.L^{-1} , no reservatório de alimentação, mantido sob

refrigeração. Os dados operacionais indicam que a concentração de entrada que antes era na faixa de 120 mg.L⁻¹ passou para aproximadamente 85 mg.L⁻¹, Figura 27.

Não se pode comprovar que a remoção de cor ocorrida no reator deveu-se às reações de transformação mediada pelo consórcio microbiano ou à precipitação. Além disso, vale ressaltar que os processos de adsorção são presentes no meio, visto que a biomassa e o leito do reator são suporte para que ocorra tal fenômeno, principalmente nas fases iniciais de operação onde a superfície está livre para que os processos de adsorção ocorram.

A salinidade impactou no processo de remoção de cor, porém não impediu que ele ocorresse. Como observado nos ensaios em batelada, um possível aumento do aporte de matéria orgânica no ASTBR poderia auxiliar nos processos bioquímicos. Além disso, um aumento mais gradual da salinidade favoreceria a adaptação da biomassa as novas condições do meio.

Eficiências de remoção de cor semelhantes ao presente trabalho foram observadas por Bahia et al. (2018) que utilizaram reator UASB em escala de bancada (TDH=24 horas) para tratamento de efluente têxtil sintético (contendo corante azo reativo Amarelo Ouro Remazol) e real diluído.. Os autores citados submeteram a levedura residual a pré-tratamento para liberação de riboflavina e obtiveram remoção de cor estável na faixa de 85% durante 70 dias de operação.

Como previamente discutido a presença de mediador redox durante a degradação anaeróbia do efluente têxtil mostrou-se responsável por acelerar a cinética de descoloração e aumento na eficiência de remoção de cor (BAHIA et al., 2018; DOS SANTOS et al., 2005; VICTRAL, 2015). Dos Santos et al. (2005) constataram que a adição de pequenas concentrações de riboflavina (0,05 mM $\cong$ 0,02 g.L⁻¹) aumentam em mais de 15 vezes a taxa de descoloração de corantes azo, comparado com controles sem a adição da riboflavina. Baêta et al. (2012) observaram que com adição de 500 mg.L⁻¹ de extrato de levedura, fonte de riboflavina, na ausência ou presença de glicose houve aumento da eficiência de remoção de cor de 62% para 92%, em reator anaeróbio de membrana submersa. Em estudos utilizando a levedura residual como fonte de riboflavina para atuar como mediador redox, Victral et al. (2017) encontraram eficiências de remoção de cor de 23% a 50% maiores que o controle.

Dessa forma, a utilização da levedura residual, quer como mediador redox riboflavina ou fonte de nutrientes aponta para seu efeito positivo no tratamento de efluentes contendo corantes azo.

5.3.2. Avaliação da remoção de matéria orgânica (DQO)

Os resultados das análises de DQO das amostras afluentes e efluentes do ASTBR, assim como as eficiências de remoção são apresentados na Figura 29 a e b. Vale ressaltar que os valores de DQO analisados são de DQO bruta, sem realização de centrifugação ou filtragem prévia às análises.

Figura 29 - Gráficos apresentando as concentrações afluente e efluente de DQO e sua eficiência de remoção (a) e boxplot apresentando a variação dos dados nas diferentes Fases operacionais do ASTBR.

O ASTBR apresentou estabilidade e atingiu eficiências de remoção de DQO superiores a 85% durante a maior parte do tempo de operação. Na fase de adaptação e desenvolvimento da biomassa no leito estruturado do reator, Fase 0, o reator apresentou eficiência média de remoção de DQO 89,1%.

A partir da Fase I ($\text{COV} = 0,5 \text{ kg-DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e $1,5 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$), houve adição do corante no meio. Nessa fase observou-se queda na eficiência de remoção de DQO e aumento da DQO afluente e efluente do reator. Essas mudanças são justificadas pelo comportamento do corante em ambiente anaeróbio. Em condições de anaerobiose ocorre a redução do corante, quebra das ligações azo com consequente remoção de cor e formação de aminas aromáticas, que contribuem com a DQO. As aminas aromáticas são recalcitrantes à digestão anaeróbia, permanecendo no meio e contribuindo para a DQO efluente, e consequente baixa eficiência na remoção de DQO (VAN DER ZEE; VILLAVERDE, 2005).

Na Fase II ($\text{COV} = 1,0 \text{ kg-DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e $1,5 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$), com o aumento da fração biodegradável, em função do aumento do aporte de levedura residual, o ASTBR alcançou eficiências de remoção de DQO em média de 76,5%, superior aos 67,5% da fase I. Nessa fase ocorreu maior flutuação das eficiências de remoção de DQO, $76,5\% \pm 4,4\%$, justificado pela flutuação de DQO de entrada, entretanto, a DQO efluente se manteve praticamente constante, evidenciando a robustez do ASTBR, em relação às variações diárias da DQO de entrada. Além da manutenção da qualidade do efluente em relação à DQO, a remoção de cor e produção de biogás foram estáveis.

Na fase III ($\text{COV} = 1,5 \text{ kg-DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e $1,5 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$), em que foi houve novo acréscimo no aporte de carga orgânica, o reator apresentou eficiência média de remoção de DQO de $81,1\% \pm 3,0\%$.

Na Fase IV, aumentou-se a concentração de NaCl no meio reacional de 1,5 para $3,0 \text{ g.L}^{-1}$. Contudo, houve aumento nas eficiências de remoção de cor e de DQO no reator, mantidas durante a Fase V, com $6,0 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$. Dessa forma, pode-se observar que a comunidade microbiana, mesmo com as mudanças de pressão osmótica no meio conseguiu suportar bem os processos biológicos. Na Fase VI ($12,0 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$), o ASTBR apresentou queda no desempenho. A eficiência média de remoção de DQO decresceu para 79,6%, enquanto o desempenho de descoloração manteve-se próxima a 85%.

Na Fase VII ($24,0 \text{ g-NaCl.L}^{-1}$), problemas operacionais, associados à alteração da solubilidade do corante, ocasionados pela elevada salinidade, levaram à precipitação do DB71, não garantido sua concentração afluente do reator. Além disso, ocorreram dificuldades nas análises de DQO, visto que o íon Cl^- é interferente na análise levando a resultados que subestimaram os valores da DQO. O método de precipitação do íon Cl^- com sulfato de prata foi ineficiente no presente trabalho, visto que junto ao cloreto era precipitado o corante, o que interferia na análise. Foi adotada a diluição como forma de diminuir os efeitos do íon, porém a interferência nas análises não foi mitigada, sendo maiores diluições visando a redução do íon cloreto ocasionou DQO abaixo dos limites de detecção. Dessa forma os dados referentes a DQO da Fase VII são pouco confiáveis.

Assumindo-se os mesmos erros nas DQOs efluente do ASTBR e avaliando os resultados encontrados, verificou-se queda na eficiência de remoção de DQO com valores próximos a 59,2%.

De forma geral, o ASTBR apresentou bom desempenho na remoção da DQO biodegradável no período operacional. A remoção DQO foi atribuída à matéria orgânica facilmente biodegradável. A fração relativa ao corante, de aproximadamente $130 \text{ mg-O}_2.\text{L}^{-1}$ para DB71 a uma concentração de 65 mg.L^{-1} permanece quase que inerte, uma vez que durante o processo de digestão anaeróbia ocorre somente a sua transformação em aminas aromáticas.

5.3.3. Alcalinidade, pH e condutividade

A relação AI/AP (alcalinidade parcial/alcalinidade intermediária) é uma ferramenta analítica que permite avaliar a estabilidade em processos anaeróbios. Durante todas as fases de operação, o ASTBR manteve uma operação estável e contínua, mantendo valor AI/AP próxima a 0,3, como observado na Figura 30 a, indicando a manutenção estável da digestão anaeróbia (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986).

Nas três primeiras fases após a adição do corante (Fases I, II e III), a relação AI/AP manteve-se próxima a 0,3. Já nas fases subsequentes, a relação esteve próxima a 0,4, em média, em função da redução da adição de alcalinizante (bicarbonato de sódio) no reator. Nas fases I, II e III adicionou-se a relação $1 \text{ g-NaHCO}_3.\text{gDQO}^{-1}$, durante a fase III essa relação foi reduzida para $0,75 \text{ g-NaHCO}_3.\text{gDQO}^{-1}$, que foi mantida nas fases seguintes. A mudança da relação não afetou na eficiência da remoção de DQO, remoção de cor ou produção de biogás.

Figura 30 - Gráficos de razão Al/AP(a) e alcalinidade parcial efluente (b) do reator ASTBR Durante Fases de operação.

Na Figura 30 b, observa-se que a alcalinidade parcial aumentou com o aumento da DQO afluente e consequente aumento da oferta de NaHCO₃. A partir do final da fase III e fases seguintes ocorreu queda da AP, ocasionado pela diminuição da relação g-NaHCO₃.gDQO.

Figura 31 - Gráficos apresentando boxplot do pH efluente (a), pH efluente e afluente (b) e condutividade durante operação do reator ASTBR (c).

Durante toda a operação o pH efluente do ASTBR manteve-se praticamente constante e próximo a 7,6, Figura 31 a, b e c. Na fase IV, observou-se queda e maior dispersão dos valores do pH efluente, provavelmente devido ao aumento da concentração de NaCl de 1,5 para 3,0 g.L⁻¹, levando a um possível desequilíbrio. Tal variação não impactou o processo de metanogênese. Nas fases seguintes, o pH permaneceu em valores próximos a 7,6.

A manutenção do pH acima de 7,0 e os elevados valores de alcalinidade parcial no efluente possibilitam refletir sobre a diminuição do fornecimento de agente alcalinizante ao sistema estudado, dessa forma reduzindo gastos operacionais, mantendo o pH adequado à digestão anaeróbia (SPEECE, 1986).

Na Figura 31 b observa-se uma maior oscilação dos valores de pH afluente, justificado pela acidificação da alimentação previamente a sua entrada no reator. Assim que observado o processo de acidificação foi alterado a frequência de preparação da alimentação, aumentando de duas vezes por semana para quatro. Os valores mais altos foram obtidos em amostras analisadas no dia em que a alimentação foi feita, já os mais baixos de afluentes com um ou dois dias após ter-se preparado a alimentação.

A condutividade foi utilizada para monitorar de forma indireta a salinidade no meio (Figura 31 c). Observam-se patamares de condutividade nas diferentes fases de operação do reator à medida que foi alterando a concentração de NaCl meio. A salinidade exerce sua influência nos processos realizados pela comunidade microbiana, foram aqui monitorados e observados a influência da salinidade na remoção de cor, produção de biogás e a alcalinidade do meio. A alteração da pressão osmótica do meio impõe a esses organismos condições desfavoráveis que requerem adaptação.

5.3.4. Avaliação da produção de metano

Os resultados de produção de metano durante a operação do ASTBR são apresentados nas Figuras 32 e 33.

Os resultados corroboram com o comportamento apresentado na remoção de DQO. Durante as fases I a V, o reator apresentou desempenho estável, mantendo a percentagem de metano no biogás e também o rendimento de produção de metano, como pode ser observado na Figura 33. Nas fases V e VI, observou-se decréscimo na remoção de DQO e, conseqüentemente na produção de metano, associado ao

impacto no consórcio microbiano em função do aumento da salinidade do meio. McCarty, (1964) observou inibição moderada à metanogênese em concentrações de Na^+ de 3,5 a 5,5 g.L^{-1} , faixa na qual a Fase VI se enquadra.

Figura 32 - Gráfico da vazão de biogás, $Q_{\text{diagás}}$, vazão de metano, Q_{CH_4} e conteúdo de metano no biogás, $\text{CH}_4\%$, durante operação do reator ASTBR.

Durante as fases I a V, o reator apresentou composição de metano média de 75,4%, com decaimento nas fases VI e VII para 67,7% e 65,7% respectivamente. O declínio pode ser justificado por uma possível desestabilização do reator em função do aumento da salinidade nessas fases, levando a mudanças das rotas metabólicas com direcionamento da energia produzida para síntese de novas células visando suportar a nova condição.

Avaliando a vazão volumétrica de biogás, nas fases I, II e III, onde ocorreram aumentos da COV, observa-se um comportamento de crescimento à mediada em que aumentou-se a COV; e estabilidade na produção durante as fases IV e V, em que a carga orgânica aplicada foi mantida, apesar do aumento da salinidade. Nas fases VI e VII observou-se declínio na produção de metano, fato que pode ser atribuído às concentrações de sais nessas etapas (12,0 g.L^{-1} e 24,0 mg.L^{-1} de NaCl , respectivamente). Rinzema; Van Lier e Lettinga (1988) encontraram para as concentrações de 5, 10 e 14 $\text{g-Na}^+.\text{L}^{-1}$ inibição de 10, 50 e 100%, respectivamente, da atividade máxima específica das metanogênicas acetoclásticas de um lodo

granular. Nas Fases VI e VII as concentrações de sódio chegaram a 4,7 e 9,4 g.L⁻¹, podendo explicar a diminuição da produção de metano.

Observa-se que os maiores valores de rendimento de metano ocorreram nas fases I, II e III, em que a salinidade no meio foi mantida em 1,5 g-NaCl.L⁻¹. Nas fases IV, V e VI, com concentrações de NaCl de 3,0, 6,0 e 12,0 g.L⁻¹, foram observados valores inferiores. É possível dizer que nas situações de maior stress o consorcio microbiano direcionou parte da energia produzida para manutenção da população microbiana, além das necessidades de síntese celular. Na fase VII, em que a concentração de NaCl foi de 24,0 g.L⁻¹, verificou-se valores maiores de rendimento, porém os resultados encontrados podem ser considerados inconsistentes, visto que as análises de DQO dessa etapa apresentaram erros experimentais devido às elevadas concentrações de Cl⁻, dessa forma os resultados referentes a Fase VII não são apresentados na Figura 33.

Figura 33 - Gráfico do rendimento da produção de metano, CH_4Y , e da produção volumétrica de metano, PV_{CH_4} durante operação do reator ASTBR.

Como justificado anteriormente na remoção de DQO, os valores menores de rendimento de produção de metano encontrados nas fases IV, V e VI possivelmente estão associados à elevada salinidade, que interferiu mais significativamente para população metanogênica (WANG; HOU; SU, 2017).

A partir dos resultados de apresentados observa-se que, a metanogênese foi mantida estável mesmo na presença do DB71 e compostos tóxicos gerados pela

degradação do corante, além da elevada salinidade com rendimentos de produção de metano entre 150 e 200 mL-CH₄.gDQO⁻¹.

5.3.5. Ácidos graxos voláteis

Durante a operação em regime contínuo, as amostras foram coletadas com o objetivo de avaliar a especiação dos ácidos graxos gerados nas etapas intermediárias da digestão anaeróbia, visando a interpretação dos resultados globais. Entretanto, as amostras avaliadas das etapas I a VI, observou-se que os ácidos orgânicos individualmente se encontravam abaixo do limite de detecção, o que está de acordo com as eficiências de remoção de DQO.

Dessa forma os resultados encontrados corroboram com as eficiências encontradas nas análises de remoção de DQO e nas eficiências de conversão da DQO inicial a metano.

5.4. Análise da diversidade microbiana por DGGE

5.4.1. Ensaios em Batelada

Os dendogramas ilustrados nas Figura 34, a, b e c para Bactérias e d, e, e f para Archeas, foram gerados a partir da análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA), utilizando o perfil de bandas apresentados no DGGE das amostras coletadas ao final dos ensaios em batelada, amplificadas por PCR para os domínios bactéria e arqueias respectivamente.

Para o domínio Bactéria, o índice de similaridade entre o inóculo e os experimentos variou de 50% a 71%. Entre os experimentos ficaram na faixa de 71% a 91%. Para Archaeas, o índice de similaridade entre o inóculo e os experimentos variou de 36% a 68%. Entre os experimentos ficaram na faixa de 36% a 89%.

Os dendogramas apresentados nas Figuras 34 indicam que, tanto para o domínio bactéria quanto para o domínio Archaea, à medida que se aumentou a suplementação de matéria orgânica no meio, o índice de similaridade entre os experimentos Branco (Experimentos com ausência de NaCl e Levedura) com os outros experimentos aumentou. Esse comportamento indica menor diferenciação ou menor seleção da comunidade microbiana nos experimentos com mais matéria orgânica disponível.

Na comparação das comunidades bacterianas e arqueias verificou-se maior similaridade entre os experimentos com concentração de NaCl de 1,5 e 8,25 g.L⁻¹ (1/10 com 2/4, 4/13 com 5/14 e 7/16 com 8/17). Na concentração de 15,0 g-NaCl.L⁻¹ (3/12, 6/15 e 9/18) observou-se que a similaridade foi menor quando comparado à concentração de 1,5 e 8,25 g-NaCl.L⁻¹, indicando que ocorreu uma maior diferenciação da comunidade microbiana.

Figura 34 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE para Domínio Bactéria (a-b-c) e Archea (d-e-f)) observados ao fim das análises batelada.

Lefebvre et al. (2007) observaram, em reatores batelada tratando etanol e vinhaça em diferentes concentrações de NaCl (0 a 60 g-NaCl.L⁻¹), apresentaram poucas mas significantes mudanças na população e na atividade microbiana em função da alteração da salinidade, além de uma forte relação entre a diversidade microbiana e complexidade do substrato. Além disso, observou que o aumento gradual da salinidade atua como mecanismos de seleção e aclimação dos microrganismos.

Mesmo com poucas mudanças na comunidade microbiana, em todos os experimentos o rendimento da produção de metano foi semelhante, próximo a 243 mL-CH₄.gDQO⁻¹, diferindo apenas na taxa de produção, reflexo das diferentes salinidades e suplementação inicial de matéria orgânica aplicadas. Além disso, a eficiência de descoloração, em 72 h, foi superior a 82% para todas as condições testadas. Diante disso, evidencia-se que a pouca mudança da comunidade microbiana garante a manutenção dos processos e eficiência dos mesmos.

5.4.2. Operação em regime contínuo

Os dendogramas ilustrados nas Figura 35 e 36, foram gerados por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) a partir do perfil de bandas do DGGE. As amostras foram coletadas em diferentes fases operacionais, amplificadas por PCR para os domínios *Bacteria* e *Archaea* respectivamente.

A Tabela 18 apresenta, para os domínios *Bacteria* e *Archaea*, os índices ecológicos de Shannon (H') e Dominância (D), calculados a partir das curvas densitométricas obtidas a partir dos perfis de bandas do DGGE e os correlaciona com os parâmetros de monitoramento. O índice H' é utilizado para determinar a diversidade alfa em uma amostra, similar a riqueza de uma espécie, no nosso caso menos específico, porém leva em consideração o número de diferentes espécies e a proporção em que cada espécie ocorre nos grupos amostrais (PEET, 1974). O índice D indica a uniformidade, ou homogeneidade, da distribuição de abundância de espécies em uma comunidade, variando de 0 a 1, onde 1 representa que a comunidade microbiana é composta por um único grupo microbiano.

Os índices de diversidade de Shannon para bactéria foi de 2,704 a 3,426 e para arqueia foi de 1,712 a 2,156. Tanto para bactéria como para arqueia o índice de diversidade foi maior para amostras do Leito quando comparado com amostras do

fundo, com exceção para a comunidade aqueia na fase VII que foi um pouco maior na amostra do fundo.

Para o domínio Bacteria (Figura 35), observa-se mudança significativa no perfil de bandas, ocorrendo aparecimento, intensificação e desaparecimento de algumas bandas quando comparamos o inóculo às outras amostras coletadas durante a operação do reator. Essa observação é confirmada pelo índice de similaridade de aproximadamente 41% entre o inóculo e as amostras. Na Tabela 18 verifica-se que o índice H' do inóculo é superior as demais amostras e o D é o menor, indicando maior diversidade e menor dominância no inóculo e que houve seleção de bactérias tolerantes às condições impostas no reator durante as diferentes fases. Esse fato é confirmado visualmente pelo perfil de bandas.

Tabela 17 - Índices ecológicos, Shannon (H') e Dominância (D), calculados a partir das curvas densitométricas obtidas a partir dos perfis de bandas do DGGE correlacionados com os parâmetros de monitoramento das Fases das amostras.

Domínio	Amostra	Salinidade (g-NaCl.L ⁻¹)	DQO (mg-O ₂ .L ⁻¹)	Descoloração (ER _{Cor587} , %)	Remoção de DQO (ER _{DQO} , %)	Produção Volumétrica (mL-CH ₄ .L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Shannon (H')	Dominância (D)
Bactéria	Inóculo (R-P+D)						3,426	0,038
	Fase III (R-LE-C1)	1,5		89,0	81,0	164,7	2,901	0,063
	Fase VI (R-LE-C2)						3,218	0,045
	Fase VI (R-LF-C2)	12	1500	91,4	81,2	155,4	2,704	0,100
	Fase VII (R-LE-C3)						2,999	0,061
	Fase VII (R-LF-C3)	24		91,1*	57,2*	131,7	2,715	0,081
Archaea	Inóculo (R-P+D)						1,907	0,159
	Fase III (R-LE-C1)	1,5		89,0	81,0	164,7	1,712	0,230
	Fase VI (R-LE-C2)						2,156	0,128
	Fase VI (R-LF-C2)	12	1500	91,4	81,2	155,4	1,769	0,193
	Fase VII (R-LE-C3)						1,885	0,178
	Fase VII (R-LF-C3)	24		91,1*	57,2*	131,7	1,923	0,166

Figura 35 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE de fragmentos do rDNA 16S para o Domínio Bactéria.

Comparando as amostras presentes na espuma do final da Fase III (R-LE-C1), com a do Final da Fase VI (R-LE-C2) observa-se que com o aumento da salinidade do meio, de 1,5 para 12,0 g-NaCl.L⁻¹, a similaridade das amostras foi de 76,8%. Mesmo com a mudança da comunidade microbiana do meio, o reator apresentou estabilidade para remoção de cor e DQO, com pequena diminuição da produção volumétrica de metano, como pode ser observado na Tabela 18. Observa-se que diversidade, H', aumenta (de 2,901 para 3,218) com essa mudança da salinidade e a dominância, D, diminui (de 0,063 para 0,047).

Quando aumentou-se a salinidade de 12,0 para 24,0 g-NaCl.L⁻¹ foi observado 73,7% de similaridade para as amostras da espuma do Final da Fase VI (R-LE-C2) e Final da Fase VII (R-LE-C3), com diminuição da diversidade e aumento da dominância dos organismos presentes no meio suporte. Por outro lado, fazendo a mesma comparação para as amostras do lodo de fundo do reator, Final da Fase VI (R-LF-C2) e Final da Fase VII (R-LF-C3), a similaridade das amostras é de 59,9% com presença de aumento do índice de diversidade, H', e diminuição da dominância. As observações indicam que a mudança nas condições do meio provou mudança na comunidade bacteriana, porém não apresentou feitos adversos significativos nos parâmetros de monitoramento.

Observa-se que, com o aumento da salinidade, tem-se maior similaridade entre as amostras do fundo do reator e do meio suporte espuma. Na Fase VI a similaridade entre R-LE-C2 e R-LF-C2 foi de 59,9%, já na Fase VII a similaridade foi a 94,05%, demonstrando que o aumento da salinidade diminuiu a diferenciação entre os organismos presentes no fundo e no leito estruturado de espuma. Ou seja, o biofilme do leito de espuma não conseguiu proteger os organismos presentes

nesse meio, estando expostos de forma semelhante a aqueles presentes no fundo do reator.

Para o domínio *Archaea*, apresentado na Figura 36, a similaridade no perfil de bandas entre o inóculo e as outras amostras coletadas durante as fases de operação do reator variou de 80,9% a 85,9%, indicando uma menor variabilidade da população quando comparado ao domínio bactéria.

O índice de diversidade, H' , diminuiu, quando comparamos o inóculo (R-P+D) com a amostra presente na espuma do final da Fase III (R-LE-C1), indicando uma possível seleção de organismos devido a salinidade, que na Fase 0 era 0 g-NaCl.L⁻¹ mudando para 1,5 g-NaCl.L⁻¹ na Fase III. A similaridade entre essas amostras foi de 80,9%.

Figura 36 - Dendograma gerado por análise de cluster (Correlação de Pearson, UPGMA) do perfil de bandas do DGGE de fragmentos do rDNA para o Domínio Archaea.

Comparando a comunidade de arqueias os resultados para nas amostras presentes na espuma, do final da Fase III (R-LE-C1) com final da Fase VI (R-LE-C2) apresentou similaridade de 80,9%. Nessa mudança, a salinidade foi de 1,5 a 12 g-NaCl.L⁻¹, ocorreu aumento da diversidade, H' , e diminuição da dominância, D . Nas duas fases de operação não ocorreram mudanças significativas nos parâmetros de monitoramento.

Na mudança da Fase VI (R-LE-C2) para Fase VII (R-LE-C3), para a biomassa da espuma, a similaridade das amostras foi de 94,1%, indicando menor mudança na comunidade de arqueias, diferente do que ocorreu para o Domínio bactéria, que teve semelhança dessas amostras de 73,7%. Comparando o lodo de fundo, final da Fase VI (R-LF-C2) com final da Fase VII (R-LF-C3), as amostras apresentaram

similaridade de 98,2%. Para o domínio *Archaea*, o aumento da salinidade de 12,0 para 24,0 g-NaCl.L⁻¹ não provocou grandes mudanças na comunidade de fundo do reator ou a presente no meio suporte de espumas. Por outro lado, observou-se diminuição da produção volumétrica de metano, com queda de cerca de 20%.

Observa-se que, tanto para bactérias quanto para *Archaea*, para o lodo presente na espuma, comprando-se a Fase VI (12,0 g-NaCl.L⁻¹) e a Fase VII (24,0 g-NaCl.L⁻¹), ocorreu diminuição da diversidade, H', e aumento da dominância, D. Já para o lodo de fundo, ocorreu aumento da diversidade, H', e diminuição da dominância, D. Esse fato pode ser justificado pela maior disponibilidade de nutrientes e matéria orgânica no fundo do reator, possibilitando maior desenvolvimento da comunidade presente no meio e maior proteção ao choque de cargas de sal e corante.

Observou-se que, com o aumento da salinidade, a similaridade entre as amostras do fundo do reator e do meio suporte espuma, de uma mesma fase, não se alteraram, sendo 80,2% o valor observado. Dessa forma, para o domínio *Archaea*, a salinidade influenciou na diferenciação entre os organismos presentes no fundo e no leito estruturado de espuma, podendo a espuma, no caso das *Archaeas*, *ter funcionado como proteção*.

6. CONCLUSÕES

Os ensaios em batelada demonstraram o potencial da levedura residual, quando aplicada em quantidades compatíveis com os processos bioquímicos ocorrentes, em auxiliar na manutenção da atividade microbiana mesmo em condições de elevada concentração de NaCl. Observou-se que mesmo em alta salinidade, NaCl > 10 g.L⁻¹ é possível se obter taxas de produção de metano, > 0,188 L-CH₄.dia⁻¹.L⁻¹, quando associado a suplementações de DQO de 2,5 g-O₂.L⁻¹.

O ASTBR, operado por um período de 174 dias, exibiu robustez durante o tratamento de um efluente têxtil sintético em co-digestão com levedura residual. O sistema demonstrou, em concentrações de NaCl de até 12,0 g-NaCl.L⁻¹, eficiências de remoção de DQO e de cor superiores a 70 e 80%, respectivamente. Quanto à produção de biogás, o reator foi estável, com médias de 74% de metano no biogás e rendimento de 160 mL-CH₄.gDQO⁻¹.

Para descoloração de um metro cúbico de efluente têxtil contendo 65 mg.L⁻¹ de DB71 em um ASTBR, seriam necessários 5,25 litros de levedura residual para condições de suplementação de matéria orgânica semelhantes com 1500 mg-O₂.L⁻¹.

O processo anaeróbio permitiu a remoção de cor pela transformação do corante em aminas aromáticas utilizando o potencial do processo. Entretanto, para redução do potencial poluidor do efluente é indicada etapa subsequente, sendo possível aplicação de um processo aeróbio, objetivo a degradação de compostos tóxicos que são mais susceptíveis a degradação em ambiente rico em oxigênio.

As análises microbiológicas evidenciaram mudanças na comunidade microbiana em virtude da salinidade. Nos ensaios em batelada e durante a operação do ASTBR observou-se que a levedura foi fundamental na manutenção da comunidade microbiana, o que refletiu nos resultados de remoção de cor e produção de metano.

De forma geral, o estudo mostrou o potencial da aplicação de levedura residual como co-substrato no processo de digestão anaeróbia visando descoloração de efluente têxtil, associando a produção de metano e em condições de elevada salinidade.

7. REFERÊNCIAS

ABIT. Perfil do Setor - Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. Disponível em: <<https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC / FID : Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). n. May, p. 406–414, 2014.

ALVAREZ, L. H.; MEZA-ESCALANTE, E. R.; GORTÁRES-MOROYOQUI, P.; MORALES, L.; ROSAS, K.; GARCÍA-REYES, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, A.. Influence of redox mediators and salinity level on the (bio)transformation of Direct Blue 71: kinetics aspects. *Journal of Environmental Management*, v. 183, p. 84–89, 2016.

AMORIM, S. M.; KATO, M.T.; FLORENCIO, L.; GAVAZZA, S.. Influence of Redox Mediators and Electron Donors on the Anaerobic Removal of Color and Chemical Oxygen Demand from Textile Effluent. *CLEAN - Soil, Air, Water*, v. 41, n. 9, p. 928–933, 8 set. 2013.

ANANTHASHANKAR, R.; GHALY, A.E.; ALHATTAD, M.; RAMAKRISHNAN, V.V.. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. *Journal of Chemical Engineering & Process Technology*, v. 05, n. 01, p. 1–18, 2013.

ANUKAM, A.; MOHAMMADI, A.; NAQVI, M.; GRANSTRÖM, K.. A Review of the Chemistry of Anaerobic Digestion: Methods of Accelerating and Optimizing Process Efficiency. *Processes*, v. 7, n. 8, p. 504, 2019.

APHA, A. P. H. A. Standard methods for the examination of water and wastewater. 2012

BABU, B. R.; PARANDE, A.K.; RAGHU, S.; KUMAR, T.. Cotton Textile Processing : Waste Generation and Effluent Treatment. v. 153, p. 141–153, 2007.

BAÊTA, B. E. L.; BAÊTA, B E L; AQUINO, S F; SILVA, S Q; RABELO, C. Anaerobic degradation of azo dye Drimaren blue HFRL in UASB reactor in the presence of yeast extract a source of carbon and redox mediator. *Biodegradation*, v. 23, n. 2, p. 199–208, abr. 2012.

BAÊTA, B.E.L.; AQUINO, S.F.; SILVA, S.Q.; RABELO, C.. Anaerobic degradation of a model azo dye in submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR) operated with powdered activated carbon (PAC). *Journal of Environmental Management*, v. 128, p. 462–470, 2013.

BAÊTA, B. E. L.; LIMA, D. R S; SILVA, S. Q.; AQUINO, S. F. L. Evaluation of soluble microbial products and aromatic amines accumulation during a combined anaerobic/aerobic treatment of a model azo dye. *Chemical Engineering Journal*, v. 259, p. 936–944, 2015.

BAHIA, M.; PASSOS, F.; ADARME, O. F. H.; AQUINO, S.F.; SILVA, S.Q.. Anaerobic-Aerobic Combined System for the Biological Treatment of Azo Dye Solution using Residual Yeast. *Water Environment Research*, v. 90, n. 8, p. 729–737, 2018.

BELTRAME, L. T. C. Caracterização de Efluente Têxtil e Proposta de Tratamento. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química., 2000.

BHATIA, D.; SHARMA, N.R.; SINGH, J.; KANWAR, R.. Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 47, n. 19, p. 1836–1876, 2017.

BISSCHOPS, I.; DOS SANTOS, A. B.; SPANJERS, H. Waste sizing solution as co-substrate for anaerobic decolourisation of textile dyeing wastewaters. *Water Science and Technology*, v. 52, n. 1–2, p. 397–403, 2005.

BISSCHOPS, I.; SPANJERS, H. Literature review on textile wastewater characterisation. *Environmental Technology*, v. 24, n. February, p. 1399–1411, 2003.

BOOTH, G. et al. Dyes , General Survey. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. p. 675–729.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. University of Wisconsin Technical Report, p. no995, 1973.

BRASIL. RESOLUÇÃO No 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. [s.l: s.n.].

BRASIL. RESOLUÇÃO No 430, DE 13 DE MAIO DE 2011. [s.l: s.n.].

BUENO-SOLANO, C. et al. CUANTIFICACIÓN DE RIBOFLAVINA (VITAMINA B2) EN PRODUCTOS LÁCTEOS POR HPLC. Revista chilena de nutrición, v. 36, n. 5, p. 136–142, 2009.

BURKINSHAW, S. M. Physico-chemical Aspects of Textile Coloration. [s.l: s.n.].

CABALLERO-CÓRDOBA, G. M.; PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Composicao química da Biomassa de Levedura integral (*Saccharomyces* sp.) e Determinacao do Valor Nutritivo da Proteína em Células Integras ou Rompidas Mecanicamente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1997.

CERVANTES, F. J.; SANTOS, A. B. D. Reduction of azo dyes by anaerobic bacteria: Microbiological and biochemical aspects. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 10, n. 2, p. 125–137, 2011.

CHATTOPADHYAY, D. P. Chemistry of dyeing. Woodhead Publishing Limited, 2011.

CHEN, W.-H.; HAN, S.-K.; SUNG, S. Sodium Inhibition of Thermophilic Methanogens. *Journal of Environmental Engineering*, v. 129, n. 6, p. 921–929, 2003.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process : A review. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 10, p. 4044–4064, 2008.

CLARK, M. Fundamental principles of dyeing. Woodhead Publishing Limited, 2011.

COLLIVIGNARELLI, M. C.; ABBÀ, A.; MIINO, M.C.; DAMIANI, S.. Treatments for color removal from wastewater: State of the art. *Journal of Environmental Management*, v. 236, n. February, p. 727–745, 2019.

CORREIA, V. M.; STEPHENSON, T.; JUDD, S. J. Characterisation of textile wastewaters - a review. *Environmental Technology (United Kingdom)*, v. 15, n. 10, p. 917–929, 1994.

COSTA, M. C.; DOS SANTOS, A.B.; MOTA, S.B.; MENDONÇA, G.L.F.; NASCIMENTO, R.F.. Descoloração redutiva de corantes azo e o efeito de

mediadores redox na presença do aceptor de elétrons sulfato. *Química Nova*, v. 33, n. 7, p. 1514–1519, 2010.

DI BIASE, A.; DEVLIN, T. R.; KOWALSKI, M. S.; OLESZKIEWICZ, J. A.. 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, 2018.

DOS SANTOS, A. B. Reductive Decolourisation of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge. Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2004.

DOS SANTOS, A. B.; IEMKE, A.E.; CERVANTES, F.J.; VAN LIER, J.B.. EFFECT of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30 degrees C) and thermophilic (55 degrees C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. *Chemosphere*, v. 55, n. 9, p. 1149–57, jun. 2004.

DOS SANTOS, A. B.; DE MADRID, M.P.; STAMS, A.J.M.; VAN LIER, J.B.; CERVANTES, F.J.. Azo dye reduction by mesophilic and thermophilic anaerobic consortia. *Biotechnology Progress*, v. 21, n. 4, p. 1140–1145, 2005.

DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Potentials of high-temperature anaerobic treatment and redox mediators for the reductive decolorization of azo dyes from textile wastewaters. *Water Science and Technology*, v. 54, n. 2, p. 151–156, 2006.

DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 12, p. 2369–2385, 2007.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F.. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EL RAYES ENVIRONMENT CORP.; B.C. VANCOUVER. Technical Pollution Prevention Guide for Brewery and Winery Operations in the Lower Fraser Basin. Environment Canada, p. 101, 1997.

ENCINAS-YOCUPICIO, A. A.; RAZO-FLORES, E.; SÁNCHEZ-DÍAZ, F.; DOS SANTOS, A. B.; FIELD, J. A.; CERVANTES, F. J.. Catalytic effects of different redox mediators on the reductive decolorization of azo dyes. *Water Science and Technology*, v. 54, n. 2, p. 165–170, 2006.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J.G.. Brewer' s Saccharomyces yeast biomass : characteristics and potential applications. Trends in Food Science & Technology, v. 21, n. 2, p. 77–84, 2010.

FLORENCIO, L.; JENIČEK, P.; FIELD, J.A.; LETTINGA, G.. Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. Journal of Fermentation and Bioengineering, v. 75, n. 5, p. 368–374, 1993.

FREEMAN, H. S.; MOCK, G. N. Dye Application , Manufacture of Dye Intermediates and Dyes. In: KENT, J. A. (Ed.). . Kent and Riegel's Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology. 11. ed. [s.l.] Springer, 2007. p. 499–590.

GAGLIANO, M. C.; ISMAIL, S. B.; STAMS, A. J.M.; PLUGGE, C. M.; TEMMINK, H.; VAN LIER, J. B.. Biofilm formation and granule properties in anaerobic digestion at high salinity. Water Research, v. 121, p. 61–71, 2017.

GŁOWACKI, E. D.; VOSS, G.; LEONAT, L.; IRIMIA-VLADU, M.; BAUER, S.; SARICIFTCI, N.S.. Indigo and Tyrian purple - From ancient natural dyes to modern organic semiconductors. Israel Journal of Chemistry, v. 52, n. 6, p. 540–551, 2012.

GOVERNO DO BRASIL. Brasil é o terceiro no ranking mundial de produção de cerveja. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br>>.

GREGORY, P. Dyes and Dye Intermediates. In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.

GÜRSES, A.; AÇIKYILDIZ, M.; GÜNEŞ, K.; GÜRSES, M. S.. Classification of Dye and Pigments. In: Dyes and Pigments. p. 31–45.

HOLKAR, C. R.; JADHAV, A.J.; PINJARI, D.V.; MAHAMUNI, N.M.; PANDIT, A.B.. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. Journal of Environmental Management, v. 182, p. 351–366, 2016.

IBGE/SIDRA. Pesquisa Industrial Anual – Empresa. Dados gerais das unidades locais industriais de empresas industriais com 5 ou mais pessoas ocupadas por Unidade da Federação - Tabela 1849.

IŞIK, M.; SPONZA, D. T. Anaerobic/aerobic treatment of a simulated textile wastewater. Separation and Purification Technology, v. 60, n. 1, p. 64–72, 2008.

JAYAPAL, M.; JAGADEESAN, H.; SHANMUGAM, M.; J, PERINBA DANISHA; MURUGESAN, S.. Sequential anaerobic-aerobic treatment using plant microbe integrated system for degradation of azo dyes and their aromatic amines by-products. Journal of Hazardous Materials, v. 354, n. May, p. 231–243, 2018.

JUNIOR, B. DE O. M. Setor têxtil. Caderno Setorial - Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste(ETENE), v. 16, n. Setembro, p. 1–18, 2017.

KUDO, Y.; NAKAJIMA, T.; MIYAKI, T.; OYAIZU, H.. Methanogen flora of paddy soils in Japan. FEMS Microbiology Ecology, v. 22, n. 1, p. 39–48, 1997.

LAY, W. C. L.; LIU, Y.; FANE, A. G. Impacts of salinity on the performance of high retention membrane bioreactors for water reclamation: A review. Water Research, v. 44, n. 1, p. 21–40, 2010.

LEBRERO, R.; TOLEDO-CERVANTES, A.; MUÑOZ, R.; DEL NERY, V.; FORESTI, E.. Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter and an algal-bacterial photobioreactor. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 91, n. 9, p. 2488–2495, 2016.

LEFEBVRE, O.; QUENTIN, S.; TORRIJOS, M.; GODON, J. J.; DELGENÈS, J. P.; MOLETTA, R.. Impact of increasing NaCl concentrations on the performance and community composition of two anaerobic reactors. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 75, n. 1, p. 61–69, 2007.

LEFEBVRE, O.; MOLETTA, R. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review. Water Research, v. 40, n. 20, p. 3671–3682, 2006.

LIN, S. H.; SHYU, C. T.; SUN, M. C. Saline wastewater treatment by electrochemical method. Water Research, v. 32, n. 4, p. 1059–1066, 1998.

MATHIAS, T. R. DOS S.; MELLO, P. P. M. DE; SRVULO, E. F. C. Solid wastes in brewing process: A review. Journal of Brewing and Distilling, v. 5, n. 1, p. 1–9, 2014.

MCCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. PUBLIC WORKS, v. 95, n. 9, p. 107–112, 1964.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar Use. Analytical Chemistry, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

MILNITZ, D.; LUNA, M. M. M. Caracterização da indústria têxtil e de confecções do estado de santa catarina: principais elos, parceiros e produtos comercializados. Revista da UNIFEBE, v. 1, n. 22, p. 166–182, 2017.

MUSTROPH, H. Dyes , General Survey. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 2014.

NEIRA, K.; JEISON, D. Anaerobic co-digestion of surplus yeast and wastewater to increase energy recovery in breweries. Water Science and Technology, v. 61, n. 5, p. 1129–1135, 2010.

PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 59, n. 2, p. 73–84, mar. 2007.

PEET, R. K. The Measurement of Species Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 5, n. 1, p. 285–307, 1974.

PINHEIRO, H. M.; TOURAUD, E.; THOMAS, O. Aromatic amines from azo dye reduction: Status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. *Dyes and Pigments*, v. 61, n. 2, p. 121–139, 2004.

POPLI, S.; PATEL, U. D. Destruction of azo dyes by anaerobic – aerobic sequential biological treatment : a review. n. 2, 2014.

PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 44, n. August, p. 618–626, 2006.

RASOOL, K.; MAHMOUD, K. A.; LEE, D. S. Influence of co-substrate on textile wastewater treatment and microbial community changes in the anaerobic biological sulfate reduction process. *Journal of Hazardous Materials*, v. 299, p. 453–461, 2015.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. World Fuel Ethanol Production. Disponível em: <<https://ethanolrfa.org>>.

RICHARDS, P. R. Dye types and application methods. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2012.

RINZEMA, A.; LIER, J. VAN; LETTINGA, G. Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 10, p. 24–32, 1988.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Water Pollution Control Federation*, v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986.

SAKAMOTO, I. K.; MAINTINGUER, S. I.; VARESCHE, M. B. A. Phylogenetic characterization and quantification by most probable number of the microbial communities of biomass from the upflow anaerobic sludge blanket reactor under sulfidogenic conditions. *Acta Scientiarum - Technology*, v. 41, n. 1, p. 1–11, 2019.

SANTOS, B. R. T. Efeito de diferentes doadores de elétrons e da variação de concentração de sulfato na descoloração redutiva do corante direct black 22. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

SARATALE, R. G.; SARATALE, G. D.; CHANG, J. S.; GOVINDWAR, S. P.. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 42, n. 1, p. 138–157, 2011.

SARAYU, K.; SANDHYA, S. Current Technologies for Biological Treatment of Textile Wastewater – A Review. p. 645–661, 2012.

SCHOLZ, D. A. Y. M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents : a critical review. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2018.

SENTHILKUMAR, M.; ARUTCHELVAN, V.; KANAKASABAI, V.; VENKATESH, K.R.; NAGARAJAN, S.. Biomineralisation of dye waste in a two-phase hybrid UASB reactor using starch effluent as a co-substrate. v. 3, p. 354–365, 2009.

SENTHILKUMAR, M.; GNANAPRAGASAM, G.; ARUTCHELVAN, V.; NAGARAJAN, S. Influence of hydraulic retention time in a two-phase upflow anaerobic sludge blanket reactor treating textile dyeing effluent using sago effluent as the co-substrate. *Environmental Science and Pollution Research*, 2011.

SHAHID, M.; ISLAM, S. U.; MOHAMMAD, F. Recent advancements in natural dye applications: A review. *Journal of Cleaner Production*, v. 53, p. 310–331, 2013.

SIDDIQUE, K. ; RIZWAN, M.; SHAHID, M.J.; ALI, S.; AHMAD, R.; RIZVI, H.. Textile Wastewater Treatment Options: A Critical Review. In: ANJUM, N.; GILL, S.; TUTEJA, S. (Eds).. *Enhancing Cleanup of Environmental Pollutants*. Springer, 2017. p. 183–207.

SINDTÊXTIL. Setor Têxtil Paulista. Disponível em: <<http://www.sinditextilsp.org.br>>.

ŠKRJANEC, I.; MARINŠEK, R.; ZUPANC, G. D. Bioresource Technology Anaerobic co-digestion of excess brewery yeast in a granular biomass reactor to enhance the production of biomethane ~ ic. v. 124, p. 328–337, 2012.

SPEECE, R. E. Environmental Requirements for Anaerobic Digestion of Biomass. In: *Advances in solar energy technology*. v. 6p. 51–124, 1976.

SPONZA, D. T.; IŞIK, M. Reactor performances and fate of aromatic amines through decolorization of Direct Black 38 dye under anaerobic/aerobic sequential. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 1, p. 35–44, 2005.

TABUCHI, S. C. T. Utilização do extrato de levedo de cerveja como suplemento de meio à base de glicerol residual para produção de bioinseticida por *Bacillus thuringiensis*. Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Microbiologia Aplicada., 2013.

TEXTILE EXCHANGE. Preferred Fiber and Materials Market Report 2018. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.ecotlc.fr/ressources/Documents_site/2018-Preferred-Fiber-Materials-Market-Report.pdf>.

VAN DER ZEE, F. P.; BOUWMAN, R.H.M.; STRIK, D.P.B.T.B.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A.. Application of Redox Mediators to Accelerate the Transformation of Reactive Azo Dyes in Anaerobic Bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*. v.75, 2001.

VAN DER ZEE, F. P.; CERVANTES, F. J. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: a review. *Biotechnology advances*, v. 27, n. 3, p. 256–77, 2009.

VAN DER ZEE, F. P.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge. *Chemosphere*, v. 44, n. 44, p. 1169–1176, 2001.

VAN DER ZEE, F. P.; VILLAVERDE, S. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes - A short review of bioreactor studies. *Water Research*, v. 39, n. 8, p. 1425–1440, 2005.

VEIGA, M. C.; SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M.. A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Research*, v. 24, n. 12, p. 1551–1554, 1990.

VICTRAL, D. M. Aplicação de Levedura Residual como Fonte de Mediadores Redox na Descoloração Redutiva de um Azo Corante Modelo. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, 2015.

VICTRAL, D. M.; AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q.; BAÊTA, B. E.L.. Application of residual yeast as a source of redox mediators for the anaerobic decolorization of a model azo dye. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 33, n. 4, p. 705–711, 2016.

VICTRAL, D. M.; DIAS, H.R.A.; SILVA, S.Q.; BAETA, B.E.L.; AQUINO, S.F.. Enhancement of anaerobic degradation of azo dye with riboflavin and nicotinamide adenine dinucleotide harvested by osmotic lysis of wasted fermentation yeasts. *Environmental Technology (United Kingdom)*, v. 38, n. 4, p. 483–494, 2017.

VYRIDES, I.; BONAKDARPOUR, B.; STUCKEY, D. C. Salinity effects on biodegradation of Reactive Black 5 for one stage and two stages sequential

anaerobic aerobic biological processes employing different anaerobic sludge. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 95, n. PB, p. 294–300, 2014.

VYRIDES, I.; STUCKEY, D. C. Adaptation of anaerobic biomass to saline conditions: Role of compatible solutes and extracellular polysaccharides. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 44, n. 1, p. 46–51, 2009.

WANG, S.; HOU, X.; SU, H. Exploration of the relationship between biogas production and microbial community under high salinity conditions. *Scientific Reports*, n. March, p. 1–10, 2017.

WANG, Z.; XUE, M.; HUANG, K.; LIU, Z.. Dyeing Wastewater Treatment. *Advances in Treating Textile Effluent*, 2011.

WATANABE, K.; MANEFIELD, M.; LEE, M.; KOUZUMA, A.. Electron shuttles in biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, n. 6, p. 633–641, 2009.

WDV. Disponível em: <<http://www.worlddyevariety.com/direct-dyes/direct-blue-71.html>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

XIAO, Y.; ROBERTS, D. J. A review of anaerobic treatment of saline wastewater. *Environmental Technology*, v. 31, n. 8–9, p. 1025–1043, 2010.

YAMADA, E. A.; ALVIM, I.D.; SANTUCCI, M.C.C.; SGARBIERI, V.C. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. *Revista de Nutricao*, v. 16, n. 4, p. 423–432, 2003.

YANG, B.; XU, H.; YANG, S.; BI, S.; LI, F.; SHEN, C.; MA, C.; TIAN, Q.; LIU, J.; SONG, X.; SAND, W.; LIU, Y.. Treatment of industrial dyeing wastewater with a pilot-scale strengthened circulation anaerobic reactor. *Bioresource Technology*, v. 264, n. April, p. 154–162, 2018.

ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. Reator anaerobio horizontal de leito fixo para tratamento de aguas residuarias: concepcao e avaliacao preliminar de desempenho. *Revista Brasileira de Engenharia. Caderno de Engenharia Quimica*, v. v.11, n. 2, p. 33–42, 1994.

ZEE, F. P. VAN DER. Anaerobic azo dye reduction. [s.l.] Wageningen University, 2002.

ZHAO, Y.; ZHUANG, X.; AHMAD, S.; SUNG, S.; NI, S.Q.. Biotreatment of high-salinity wastewater: current methods and future directions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 36, n. 3, p. 1–11, 2020.

ZIARANI, G. M.; MORADI, R.; LASHGARI, N.; KRUGER, H.G.. Introduction and Importance of Synthetic Organic Dyes. *Metal-Free Synthetic Organic Dyes*, p. 1–7, 2018.

ZUPANCIC, G. D.; ROS, M.; KLEMENCIC, M.; OSET, M.; MARINSEK LOGAR, R. Excess brewery yeast co-digestion in a full-scale EGSB reactor. *IWA Congress Anaerobic Digestion*, p. 4, 2000.

ZUPANČIČ, G. D.; PANJIČKO, M.; ZELIĆ, B. Biogas Production from Brewer ' s Yeast Using an Anaerobic Sequencing Batch Reactor. v. 55, n. 2, p. 187–196, 2017.

ZUPANČIČ, G. D.; ŠKRJANEC, I.; MARINŠEK LOGAR, R. Anaerobic co-digestion of excess brewery yeast in a granular biomass reactor to enhance the production of biomethane. *Bioresource Technology*, v. 124, p. 328–337, 2012.

ZWIETERING, M. H.; JONGENBURGER, I.; ROMBOUTS, F. M.; VAN'T RIET, K.. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1875–1881, 1990.

Pessoal boa tarde!! gostaria de agradecer aos companheiros de pesquisa (pesquisadores, orientadores, técnicos e frequentadores) do LPB pelas inúmeras ajudas, ensinamentos e bons momentos durante meu mestrado. Foram muitos bons momentos de aprendizado, troca de experiências e conversas no LPB, RU e fora da Universidade. Demorei sair do grupo pois estava aguardando o momento certo. Hoje envio a versão corrigida 😊 e quase finalizo essa etapa (falta o artigo 🤔😓)!! Se precisarem estou a disposição. Boa sorte aos pesquisadores que ficam! Saúde, sucesso e amor a todos nós! Um abraço apertado e meu MUITO OBRIGADO!