

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS  
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

CARLA ELOÍSA DINIZ DOS SANTOS

**Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de  
carbono no processo de nitrificação desnitrificação  
simultânea em reator de leito estruturado**

Versão Corrigida

São Carlos, SP

2014



CARLA ELOÍSA DINIZ DOS SANTOS

Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de carbono no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Profa. Dra. Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic

São Carlos  
2014

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.

S237i Santos, Carla Eloisa Diniz dos  
Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de carbono no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado / Carla Eloisa Diniz dos Santos; orientadora Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic. São Carlos, 2014.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2014.

1. Nitrificação desnitrificação simultânea (NDS). 2. reator de leito estruturado. 3. relação C/N. 4. anammox. 5. peptona de carne. 6. sacarose. I. Título.

## FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **CARLA ELOISA DINIZ DOS SANTOS**.

Título da dissertação: "Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de carbono no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado".

Data da defesa: 25/03/2014

### Comissão Julgadora:

### Resultado:

Profa. Dra. **Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic**  
(Orientadora)  
(Escola de Engenharia de São Carlos/EEESC)

Aprovada

Profa. Dra. **Deize Dias Lopes**  
(Universidade Estadual de Londrina/UEL)

Aprovado

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

Aprovado

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

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Denis Vinicius Coury**



*À minha mãe, pelo amor,  
carinho e dedicação incondicional.*





## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar a vida, a saúde e a vontade de viver no caminho do bem.

À minha mãe Diva, pela educação, pelo carinho e acima de tudo, pela presença marcante em todos os momentos de minha vida. Você é meu maior exemplo. Amo você!

À minha irmã Dani, que apesar de ter um gênio totalmente oposto ao meu, me completa em todos os meus sentidos. Ainda temos muitos momentos para compartilhar e muitas realizações para conquistarmos juntas.

Aos meus avós Geraldo e Orlanda pelas incansáveis histórias dos anos 1900 e bolinha. Obrigada por terem papel fundamental na minha criação e na formação do meu caráter. Foi muito bom crescer ao lado de vocês!

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Márcia Damianovic por me acolher no seu grupo de alunos. Obrigada por ser uma pessoa tão querida e tão presente em minha pesquisa.

Ao Prof. Eugenio Foresti, pela participação em vários momentos da minha pesquisa, sempre com sugestões de grande relevância. Nossa convivência só fez aumentar todo o respeito e admiração que, mesmo antes de conhece-lo, eu já nutria por você.

Ao Prof. Francisco Javier Cuba Teran pela iniciação na vida científica. Ao Rafael (Bazola) pelos ensinamentos prévios no laboratório, pelas infinitas conversas por email e pela ajuda fundamental no desenrolar do projeto.

As amigas “das antigas” Tati Dumke, Renata, Flavia, Fran, Mari, Carina, Kiemi, Paulinha, Tati Santos, Anelise, Aline e Camila pelos grandes momentos compartilhados em Prudente e pela saudade que nunca passa.

Aos amigos da turma de mestrado Andressa, Ana Paula, Araceli, Camila, Carol, Felipe (Seu Jorge), Fernanda, Fred, Giovana, Jairo, Juliana, Karen, Laís, Matheus, Paulo, Tacyo e Tiago (Cebola). Foi muito importante poder contar com a amizade de vocês nesses 2 anos.

Agradecimento especial para minha amiga de apartamento Karen, carinhosamente tratada por “Soraia”, por todos os momentos de risadas, de artes na cozinha e por toda a cumplicidade que só a convivência diária pode proporcionar a uma amizade. Obrigada também a Jú, minha irmã são-carlense, pela amizade e carinho que temos uma pela outra. E claro, pela ajuda na confecção de todos os desenhos deste trabalho!

Aos mais que companheiros de trabalho no LPB Bia, Bruna, Camila, Carol Gil, Dagoberto, Davi, Djalma, Drica, Eduardo (Dú), Fabrício, Gleyce, Gui Oliveira, Juliana Kawanishi, Inês, Leandro, Laís, Lívia, Lucas, Mara Rúbia, Marcus Vinícius, Mari Carosia, Matheus, Paulo, Priscila, Rachel, Rogério, Rodrigo Longo, Tiago Martins, Tiago (Cebola), Tiago Paladino, Thiago Henrique, Theo e Túlio. As amigas gringas Ania, Aimeé, Raquel e Tania. A amizade que tenho por cada um de vocês é tão importante quanto o amadurecimento profissional adquirido pelo nosso convívio.

Aos técnicos do Laboratório de Processos Biológicos, pelo auxílio com análises e experimentos: Carol Sabatini, Elô Pozzi, Janja e Isabel. Aos funcionários do prédio da Engenharia Ambiental: Dona Rosa, Fernando, Silvana, Seu Edson e Seu Antônio.

À Universidade de São Paulo, à Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Hidráulica e Saneamento. Ao corpo técnico e administrativo do departamento: Sá, Priscila, Rose e Lú.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro.

*“Comece fazendo o que é necessário,  
depois o que é possível,  
e logo estará fazendo o que parecia impossível.”*

*São Francisco de Assis*



## RESUMO

SANTOS, C. E. D. **Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de carbono no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado**. 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

Este trabalho buscou avaliar a influência da relação C/N e da fonte de carbono no processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas em reator de fluxo contínuo e leito fixo estruturado. Foi utilizado um reator vertical de acrílico, com volume total de 11,0 L e volume útil de 5,5 L, com hastes cilíndricas verticais de espuma de poliuretano como suporte para a biomassa. O sistema foi operado com TDH de  $11,2 \pm 0,6$  horas, aeração intermitente (2 horas com aeração e 1 hora sem aeração) e razão de recirculação de efluente igual a 5. A carga carbonácea afluyente foi mantida constante ( $1,07 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ ), ao longo de todo o período experimental, sendo as relações C/N testadas ( $9,7 \pm 1$ ;  $7,6 \pm 1$ ;  $2,9 \pm 1$  e  $2,9 \pm 0,4$ ) obtidas a partir da variação na carga nitrogenada aplicada. Duas fontes orgânicas foram avaliadas: sacarose e peptona de carne. A eficiência média de remoção de DQO manteve-se acima de 90%. A eficiência máxima de remoção de N-total ( $84,6 \pm 10,1\%$ ) foi obtida para relação C/N de  $2,9 \pm 1$ , com concentrações efluentes médias de NTK e  $\text{N-NH}_4$  de 5,9 e 4,3  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente. A análise estatística da eficiência de remoção de N-total confirmou que a fonte de carbono não exerceu influência sobre os processos de remoção. A obtenção de eficiências de desnitrificação superiores às calculadas estequiometricamente, em função da fonte de carbono, indicou a ocorrência de possíveis vias complementares para remoção de nitrogênio, como o processo anammox. As velocidades de nitrificação e desnitrificação obtidas nos ensaios cinéticos foram similares para as duas fontes de carbono e para as relações C/N estudadas e da mesma ordem de grandeza das apresentadas na literatura, reforçando a ideia de que a configuração de reator utilizada, aliada às adequadas condições operacionais, permitiu a remoção concomitante de matéria carbonácea e nitrogenada.

Palavras-chave: Nitrificação desnitrificação simultânea (NDS). Reator de leito estruturado. Relação C/N. Anammox. Peptona de carne. Sacarose.



## ABSTRACT

SANTOS, C. E. D. **Influence of COD/N ratio and carbon source on the simultaneous nitrification and denitrification in a structured-bed reactor.** 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

This study aimed to evaluate the influence of COD/N ratio and organic source on the simultaneous nitrification and denitrification (SND) in an up-flow structured-bed reactor. The reactor was made of acrylic with a total volume of 11 L and a working volume of 5.5 L and filled with cylinders of polyurethane foam as support for biomass growth. The system was continuously operated with an HRT of  $11.2 \pm 0.6$  h, intermittent aeration (2h with aeration and 1h without aeration) and a liquid recycle ratio equal to 5. The organic load rate was constant ( $1.07 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ ) during the entire experiment. The COD/N ratios ( $9.7 \pm 1$ ;  $7.6 \pm 1$ ;  $2.9 \pm 1$  and  $2.9 \pm 0.4$ ) were obtained from the variation of nitrogen load rate. Two organic sources were evaluated: sucrose and meat peptone. The average COD removal efficiency was above 90%. The maximum total nitrogen removal efficiency was  $84.6 \pm 10.1\%$ , with average TKN and  $\text{NH}_4^+$ -N effluent concentrations of 5.9 and  $4.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. Statistical analysis of total nitrogen removal efficiency confirmed that the carbon source did not influence over the removal processes. The denitrification efficiencies higher than the stoichiometrically calculated in function of the carbon source, indicated the occurrence of possible paths for nitrogen removal of nitrogen as anammox process. The nitrification and denitrification rates obtained in kinetic experiments were similar for the two sources of carbon and all C/N ratio studied at the same order of magnitude in relation to those reported in the literature, enhancing that the reactor configuration tested combined with the proper operational conditions allowed the organic matter and nitrogen removal simultaneously.

Keywords: Simultaneous nitrification and denitrification (SND). Structured-bed reactor. COD/N ratio. Anammox. Meat peptone. Sucrose.





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição da amônia (NH <sub>3</sub> ) e íon amônio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) em função do pH, considerando equações de equilíbrio da amônia e temperatura de 25°C. ....	34
Figura 2 - Esquema de um floco de lodo ativado com regiões aeróbias e anóxicas .....	42
Figura 3 - Esquema do sistema em escala de bancada .....	49
Figura 4 - Fotografia da instalação experimental (24º dia de operação). ....	51
Figura 5 – Fluxograma experimental do trabalho. ....	58
Figura 6 – Esquema de corte da espuma para ensaios em batelada. ....	62
Figura 7 – Esquema dos reatores em batelada utilizados nos ensaios cinéticos. ....	63
Figura 8 – Foto do microsensor de OD (A); foto microscópica da ponta de microsensor de OD (B). ....	69
Figura 9 – Conjunto de equipamentos necessários para a operação dos microssoensores (A); Microsensor preparado para realizar medições de OD no biofilme (B).....	70
Figura 10 – Variação das concentrações efluentes de N-amoniacal, N-nitrito e N-nitrato durante fase de adaptação. ....	75
Figura 11 – Variação da concentração de NTK nas amostras afluente, efluente e a eficiência de oxidação de NTK ao longo de todo o período experimental.....	76
Figura 12 – Material biológico em suspensão presente no interior do reator.....	77
Figura 13 - Variação da concentração de N-nitrito nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental. ....	80
Figura 14 - Variação da concentração de N-nitrato nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental. ....	80
Figura 15 – Variação da concentração de N-amoniacal nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental. ....	81
Figura 16 – Variação da concentração de N-total nas amostras afluente, efluente e a eficiência de remoção de N-total ao longo de todo o período experimental. ....	82
Figura 17 – Variação da eficiência de remoção de N-total e das cargas nitrogenadas aplicada e removida ao longo de todo o período experimental. ....	88
Figura 18 – Variação da concentração de DQO nas amostras afluente, efluente e a eficiência de remoção de DQO ao longo de todo o período experimental.....	90
Figura 19 – Variação do pH nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental .....	91
Figura 20 – Variação da alcalinidade total nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental. ....	92
Figura 21 – Variação da concentração de sólidos no afluente e efluente nas quatro condições experimentais avaliadas. ....	96
Figura 22 – Gráfico representando efeito do descarte de material em suspensão sobre a eficiência de remoção de N-total. ....	98
Figura 23 – Gráfico <i>Box-plot</i> da distribuição da eficiência de remoção de N-total das quatro condições operacionais testadas. ....	100

Figura 24 – Gráfico Box-plot da distribuição da eficiência de nitrificação das quatro condições operacionais testadas. ....	100
Figura 25 – Gráfico <i>Box-plot</i> da distribuição da eficiência de desnitrificação das quatro condições operacionais testadas. ....	101
Figura 26– Gráfico <i>Box-plot</i> da distribuição da eficiência de remoção de DQO das quatro condições operacionais testadas. ....	102
Figura 27 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 1 (68º dia de operação): (a) emaranhado de bactérias filamentosas; (b) organismos zoogloeais; (c) protozoários flagelados; (d) cocos. ....	106
Figura 28 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 4: (a) bactérias filamentosas semelhantes a <i>Beggiatoa</i> sp. e <i>Sphaerotilus natans</i> ; (b) cocos; (c) bacilos desnitrificantes (seta); (d) “clusters” semelhantes a Anammox (seta); (e) Sarcina e espiroqueta; (f) bactérias fototróficas anoxigênicas. ....	108
Figura 29 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 4: (a) bactérias filamentosas semelhantes a <i>Beggiatoa</i> sp. e <i>Sphaerotilus natans</i> ; (b) cocos; (c) bacilos desnitrificantes (seta); (d) “clusters” semelhantes a Anammox (seta); (e) Sarcina e espiroqueta; (f) bactérias fototróficas anoxigênicas. ....	108
Figura 30 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 4: (a) bactérias filamentosas semelhantes a <i>Beggiatoa</i> sp. e <i>Sphaerotilus natans</i> ; (b) cocos; (c) bacilos desnitrificantes (seta); (d) “clusters” semelhantes a Anammox (seta); (e) Sarcina e espiroqueta; (f) bactérias fototróficas anoxigênicas. ....	108
Figura 29 – Imagem da microscopia de material em suspensão retirado no 25º dia de operação do reator (Condição 1): emaranhado de bactérias filamentosas semelhantes ao gênero <i>Sphaerotilus natans</i> . ....	110
Figura 30 - Imagem da microscopia de material em suspensão retirado ao final do período experimental (Condição 4): filamentosas semelhante a <i>Beggiatoa</i> sp. (a); célula semelhante a <i>Desulfosarcina</i> sp. (b). ....	111
Figura 31 – Imagem da microscopia de material em suspensão retirado ao final do período de operação. ....	111
Figura 32– Fotografia do reator no final da Condição 4, destaque para o aspecto esbranquiçado do material em suspensão. ....	112
Figura 33 – Imagem geral da colonização microbiana na espuma de poliuretano (A), visualização da colonização microbiana sobre paredes dos poros da espuma de poliuretano (B). ....	113
Figura 34 – Imagens da microscopia eletrônica de varredura de amostras coletadas ao final da Condição 4: <i>Euglypha tuberculata</i> (A); bactéria filamentosa, cocos e bacilos (B). ....	114
Figura 35 - Imagem da comunidade microbiana presente nas zonas mais internas do biofilme (A); ampliação da área circulada na imagem anterior, com ênfase nas bactérias anammox (B). ....	115
Figura 36 – Variação temporal na concentração dos compostos nitrogenados no ensaio 1(a); Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para consumo de N-amoniaco e N-nitrito no ensaio 1 (b). ....	116

Figura 37 – Variação temporal na concentração dos compostos nitrogenados no ensaio 2 (a); Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para consumo de N-amoniacal e N-nitrito no ensaio 2 (b).....	117
Figura 38 – Variação da concentração de N-amoniacal, N-nitrato e N-nitrito no perfil de nitrificação via N-amoniacal. ....	119
Figura 39 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-amoniacal no ensaio de nitrificação via N-amoniacal. ....	120
Figura 40 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 1 com biomassa da Condição 2. ....	121
Figura 41 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 2 com biomassa da Condição 2. ....	121
Figura 42 – Ajustes lineares do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrito nos ensaios 1 e 2 (biomassa retirada da Condição 2). ....	122
Figura 43 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 1 com biomassa da Condição 3. ....	123
Figura 44 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrito no ensaio 1 (biomassa retirada da Condição 3).....	123
Figura 45 – Variação da concentração de N-nitrato e N-nitrito no perfil de desnitrificação heterotrófica realizado no ensaio 1. ....	125
Figura 46 – Variação da concentração de N-nitrato e N-nitrito no perfil de desnitrificação heterotrófica realizado no ensaio 2. ....	125
Figura 47 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrato e N-nitrito no ensaio 1. ....	126
Figura 48 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrato e N-nitrito no ensaio 2. ....	127
Figura 49 – Material suporte colonizado após 243 dias de operação do reator.....	130
Figura 50 - Perfil de OD ao longo da espessura de biofilme desenvolvido na espuma de poliuretano. ....	130



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação do desempenho de diversos sistemas de remoção de nitrogênio e carbono operados pela via NDS. ....	46
Tabela 2 – Demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica de acordo com fonte de carbono.....	47
Tabela 3 - Características físicas do reator biológico.....	50
Tabela 4 - Caracterização dos componentes presentes na água residuária sintética em cada uma das condições experimentais avaliadas. ....	52
Tabela 5 - Composição da água residuária sintética em cada condição experimental ...	53
Tabela 6 - Composição da solução de macronutrientes .....	53
Tabela 7 - Composição da solução de micronutrientes .....	54
Tabela 8 – Composição da solução de vitaminas baseada em Touzel e Albagnac (1983).....	55
Tabela 9 – Características da espuma de poliuretano.....	56
Tabela 10 – Análises físico-químicas realizadas na pesquisa. ....	60
Tabela 11 – Concentrações de N-amoniacal e N-nitrito nos ensaios cinéticos de nitrificação. ....	64
Tabela 12 - Composição do meio sintético específico para ensaio de atividade anammox. ....	66
Tabela 13 - Composição da Solução Traço I.....	66
Tabela 14 - Composição da Solução Traço de metais II. ....	67
Tabela 15 – Vazão e TDH médios em cada uma das condições experimentais.....	73
Tabela 16 - Relação C/N e cargas aplicadas em cada uma das condições experimentais.....	74
Tabela 17 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 1.....	78
Tabela 18 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 2.....	79
Tabela 19 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 3.....	83
Tabela 20 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 4.....	86
Tabela 21 – Valores médios das cargas aplicadas e removidas durante o experimento.....	87
Tabela 22 – Concentrações de DQO afluente e efluente e eficiência de remoção para as condições experimentais 1, 2, 3 e 4.....	89
Tabela 23 - Alcalinidade afluente, alcalinidade consumida e alcalinidade produzida em cada condição experimental.....	93
Tabela 24 – Concentrações de alcalinidade afluente e efluente para as condições experimentais 1, 2, 3 e 4.....	94
Tabela 25 – Concentração média de sólidos no afluente em todas as condições experimentais testadas. ....	95

Tabela 26 – Concentração média de sólidos no efluente em todas as condições experimentais testadas. ....	95
Tabela 27 – Dias de descarte e concentração de ST, STF e STV no material em suspensão presente no reator. ....	97
Tabela 28 - Diferença estatística entre as eficiências de remoção de N-total (letras minúsculas) e DQO (letras maiúsculas) de cada condição experimental. ....	103
Tabela 29 - Cálculos estequiométricos de demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica utilizando diversas fontes orgânicas. ....	105
Tabela 30 – Velocidades de nitrificação via N-amoniaco e via N-nitrito em sistemas de remoção de nitrogênio. ....	124
Tabela 31 – Velocidades de desnitrificação de N- NOx <sup>-</sup> em sistemas NDS. ....	128
Tabela 32 – Dados para a obtenção do valor de concentração de OD que marca o início do biofilme. ....	129
Tabela 33 - Caracterização físico-química da peptona de carne. ....	143

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anammox	Anaerobic Ammonium Oxidation
CANON	Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite
DC	Corrente Contínua
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
EPA	Environmental Protection Agency
FIA	Análise por Injeção de Fluxo
IFSC	Instituto de Física de São Carlos
LPB	Laboratório de Processos Biológicos
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
N-total	Nitrogênio Total
OD	Oxigênio Dissolvido
OLAND	Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Cloreto de Polivinila
SHARON	Single Reactor for High Ammonia Removal Over Nitrite
SHS	Departamento de Hidráulica e Saneamento
SNAD	Simultaneous Partial Nitrification, Anammox and Denitrification
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TRC	Tempo de retenção Celular
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
USP	Universidade de São Paulo





## LISTA DE SÍMBOLOS

$k'_0$	Constante cinética específica do modelo de ordem zero
cm	Centímetro
$R^2$	Coeficiente de determinação
M	Concentração molar
d	Dia
g	Gramma
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
h	Hora
L	Litro
C	Massa de $\text{NO}_x^-$ por massa de SSV
$C_0$	Massa inicial de $\text{NO}_x^-$ por massa de SSV
m	Metro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$\mu\text{M}$	Micromolar
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
min	Minutos
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Nitrogênio na forma de N-amoniacal
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrogênio na forma de nitrato
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrogênio na forma de nitrato
N-NTK	Nitrogênio na forma de NTK
N-total	Nitrogênio total
q.s.p	Quantidade suficiente para
kg	Quilograma
F/M	Relação alimento/microrganismo
C/N	Relação carbono/nitrogênio
rpm	Rotações por minuto
t	Tempo
$\theta_c$	Tempo de retenção celular ou idade do lodo
$t_0$	Tempo inicial
$Q_A$	Vazão de alimentação
$Q_R$	Vazão de recirculação
$k_1$	Velocidade específica de consumo de N-nitrato
$k_2$	Velocidade específica de consumo de N-nitrito
V	Volt



## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	31
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	33
<b>3.1</b>	<b>NITROGÊNIO NO MEIO AMBIENTE</b> .....	33
<b>3.2</b>	<b>FUNDAMENTOS DE NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO</b> .....	35
<b>3.3</b>	<b>INFLUÊNCIA DO CARBONO NA DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA</b> .....	38
<b>3.4</b>	<b>PROCESSO ANAMMOX</b> .....	39
<b>3.5</b>	<b>NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEAS</b> .....	41
<b>3.6</b>	<b>A RELAÇÃO C/N E O PROCESSO NDS</b> .....	43
<b>4</b>	<b>INSTALAÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS</b> .....	49
<b>4.1</b>	<b>APARATO EXPERIMENTAL</b> .....	49
<b>4.1.1</b>	<b>REATOR BIOLÓGICO</b> .....	49
<b>4.1.2</b>	<b>ALIMENTAÇÃO E SUBSTRATO SINTÉTICO</b> .....	51
<b>4.1.3</b>	<b>MATERIAL SUPORTE</b> .....	55
<b>4.1.4</b>	<b>INÓCULO</b> .....	56
<b>4.2</b>	<b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	57
<b>4.3</b>	<b>MÉTODOS ANALÍTICOS</b> .....	60
<b>4.3.1</b>	<b>ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS</b> .....	60
<b>4.3.2</b>	<b>ENSAIOS CINÉTICOS</b> .....	61
<b>4.3.2.1</b>	<b>NITRIFICAÇÃO VIA N-AMONÍACAL E N-NÍTRITO</b> .....	63
<b>4.3.2.2</b>	<b>DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA</b> .....	64
<b>4.3.2.3</b>	<b>ESTUDO DA ATIVIDADE ANAMMOX</b> .....	65
<b>4.3.3</b>	<b>ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS</b> .....	67
<b>4.3.3.1</b>	<b>EXAMES MICROSCÓPICOS</b> .....	68
<b>4.3.3.2</b>	<b>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA</b> .....	68
<b>4.3.4</b>	<b>ENSAIOS COM MICROSENSOR DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO</b> .....	69
<b>4.4</b>	<b>CÁLCULOS</b> .....	70
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	73
<b>5.1</b>	<b>FASE DE ADAPTAÇÃO</b> .....	74
<b>5.2</b>	<b>REMOÇÃO DE NITROGÊNIO: COMPORTAMENTO AFLUENTE, EFLUENTE E EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO NAS CONDIÇÕES ESTUDADAS</b> .....	75
<b>5.3</b>	<b>REMOÇÃO DE NITROGÊNIO: CARGA NITROGENADA OXIDADA E CARGA NITROGENADA REMOVIDA</b> .....	86
<b>5.4</b>	<b>REMOÇÃO DE DQO</b> .....	89

<b>5.5</b>	<b>PH E ALCALINIDADE.....</b>	<b>91</b>
<b>5.6</b>	<b>SÓLIDOS NO AFLUENTE, EFLUENTE, DESCARTE DE MATERIAL EM SUSPENSÃO E FINAL DA OPERAÇÃO.....</b>	<b>94</b>
<b>5.7</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE AS EFICIÊNCIAS DE NITRIFICAÇÃO, DESNITRIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE N-TOTAL E DQO.....</b>	<b>99</b>
<b>5.8</b>	<b>ESTIMATIVA DA DQO CONSUMIDA PELA DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA ....</b>	<b>103</b>
<b>5.9</b>	<b>ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....</b>	<b>106</b>
<b>5.9.1</b>	<b>MICROSCOPIA ÓPTICA .....</b>	<b>106</b>
<b>5.9.2</b>	<b>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....</b>	<b>113</b>
<b>5.10</b>	<b>ENSAIOS DE ATIVIDADE ANAMMOX .....</b>	<b>116</b>
<b>5.11</b>	<b>ENSAIOS CINÉTICOS.....</b>	<b>119</b>
<b>5.11.1</b>	<b>VELOCIDADE ESPECÍFICA DE NITRIFICAÇÃO .....</b>	<b>119</b>
<b>5.11.2</b>	<b>VELOCIDADE ESPECÍFICA DE DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA.....</b>	<b>125</b>
<b>5.12</b>	<b>PERFIL DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO.....</b>	<b>129</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>133</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>135</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A presença de nitrogênio em águas residuárias lançadas nos corpos hídricos pode ser tóxica à vida aquática, causando a depleção do oxigênio e a eutrofização do corpo receptor, além de afetar a eficiência do processo de desinfecção de água de abastecimento com cloro (METCALF; EDDY, 2003). Os compostos nitrogenados podem ser removidos por uma variedade de processos, sejam estes físico-químicos ou biológicos.

O processo convencional de remoção biológica de nitrogênio ocorre em duas etapas sequenciais, denominadas nitrificação e desnitrificação. Em grande parte dos sistemas existentes, a nitrificação ocorre na unidade que promove a remoção de matéria orgânica e a desnitrificação em uma unidade independente, demandando a introdução de doadores externos de elétrons, normalmente adicionados na forma de matéria orgânica prontamente biodegradável. A desnitrificação pode ocorrer também pela via autotrófica, sendo os elétrons provenientes de substâncias inorgânicas. Sob reduzida disponibilidade de elétrons, o processo anammox (anaerobic ammonium oxidation) pode ser uma das vias de remoção de nitrogênio, complementar à desnitrificação heterotrófica (BARANA et al., 2013).

Uma das formas de minimizar os custos envolvidos é desenvolver sistemas de tratamento compactos que integram os processos de remoção de nitrogênio e de matéria orgânica em uma mesma unidade. E assim, minimizar ou até dispensar a adição de fonte externa de carbono. Vários sistemas têm sido propostos com o objetivo de remover matéria orgânica e nitrogênio em um único reator. No entanto, esses reatores nem sempre apresentam elevada eficiência de remoção de nitrogênio total, despertando a necessidade de aquisição de conhecimento sobre os processos combinados que podem ocorrer nessas unidades.

A coexistência de populações distintas em um mesmo reator para remoção de matéria orgânica e nitrogênio pode ser facilitada pela utilização de biomassa imobilizada, formando as biopartículas. Reatores de leito ordenado têm sido utilizados com sucesso no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP) para o tratamento de diversas classes de águas residuárias. Esses sistemas permitem a retenção de biomassa em biofilmes e promovem uma distribuição regular do meio suporte no reator, evitando a colmatação.

A partir deste tipo de configuração de reator e estabelecendo-se um controle de alguns parâmetros operacionais, tais como: concentração de oxigênio dissolvido (OD), disponibilidade de matéria orgânica prontamente biodegradável e concentrações de compostos

nitrogenados; pode-se promover que os mecanismos de nitrificação e desnitrificação ocorram simultaneamente (NDS) e concomitantemente à remoção carbonácea. Um processo NDS eficiente exige a existência de uma quantidade adequada de matéria orgânica biodegradável para a atividade desnitrificante. O conteúdo orgânico deve possibilitar o equilíbrio entre as taxas de nitrificação e desnitrificação, sem que ocorra o acúmulo de intermediários, como nitrito e nitrato (CHIU et al., 2007; VON MÜNCH; LANT; KELLER, 1996; ZENG et al., 2003). Entretanto, a relação C/N existente em diversas classes de águas residuárias é inferior aos valores ótimos do processo NDS apontados na literatura. Nesses casos, observa-se que a remoção de N-total é limitada pela falta de doadores de elétrons biodisponíveis para a desnitrificação heterotrófica.

Nesse sentido, propõem-se um estudo experimental do desempenho da remoção concomitante de matéria orgânica e nitrogênio em reator de leito fixo e estruturado, fluxo contínuo, sob regime de aeração intermitente e alimentado com efluente sintético. Foi avaliado o comportamento desse reator na remoção de matéria nitrogenada e carbonácea, submetendo-o a relações C/N variáveis (inferiores a 10) e duas diferentes fontes de carbono presentes no esgoto sintético (sacarose e peptona de carne).

## 2 OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da relação C/N e da fonte de carbono no processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas em um reator de fluxo contínuo e leito fixo estruturado, operando com água residuária sintética.

Os objetivos específicos da pesquisa foram:

- Avaliação da influência da fonte orgânica no processo combinado para relações C/N similares;
- Avaliação do desempenho do sistema na remoção de N-total, sob reduzida disponibilidade de doadores de elétrons para desnitrificação heterotrófica;
- Caracterização do biofilme formado em suporte de espuma de poliuretano, com respeito à concentração de oxigênio em relação à espessura e ao arranjo dos microrganismos para confirmar a hipótese da ocorrência de NDS devido a aspectos físicos;
- Obtenção de parâmetros cinéticos de nitrificação e desnitrificação do sistema em diferentes condições experimentais.



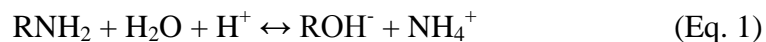


### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 NITROGÊNIO NO MEIO AMBIENTE

O lançamento de efluentes contendo concentrações elevadas de nutrientes pode causar danos ao ambiente aquático e à saúde humana. No aspecto ambiental, o excesso de nitrogênio e fósforo pode levar à eutrofização dos corpos d'água, favorecendo o crescimento de fitoplâncton e de macrófitas, causando depleção do oxigênio dissolvido e a redução da penetração de luz no corpo receptor. Além disso, ocorrem mudanças na qualidade das águas, alterações na diversidade de espécies, mudanças de pH, floração de cianobactérias, produção de toxinas, entre outros problemas (EPA, 1993; CALIJURI et al., 2006). Com relação à saúde humana, a concentração elevada de nitrato nas águas de abastecimento está associada a doenças como metahemoglobinemia (síndrome do bebê azul) e a formação de substâncias de poder mutagênico e carcinogênico no organismo (EPA, 1993; ALMASRI, 2007).

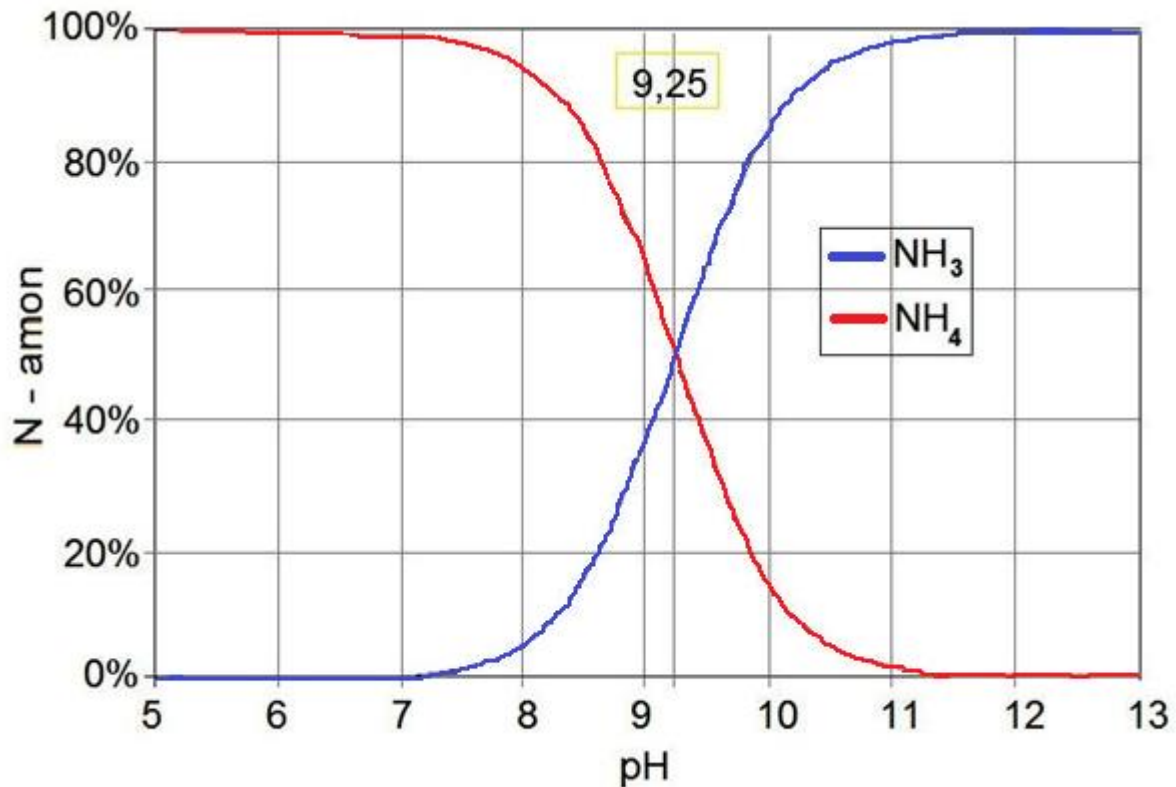
A matéria nitrogenada presente em águas residuárias pode ser dividida em duas categorias: não-biodegradável e biodegradável. Para o tratamento biológico de águas residuárias considera-se as conversões da fração biodegradável do nitrogênio, a qual é subdividida em: amônia ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrogênio orgânico solúvel e nitrogênio orgânico particulado. O nitrogênio orgânico particulado é hidrolisado a nitrogênio orgânico solúvel. Este último por sua vez, é convertido à  $\text{NH}_4^+$  no processo chamado de amonificação (Equação 1).



Parte do  $\text{NH}_4^+$  produzido é utilizado na síntese das biomassas heterotrófica e autotrófica. Estima-se que cerca de 0,12 g de nitrogênio amoniacal é assimilado na forma de  $\text{NH}_4^+$  para cada 1 g de células formadas (METCALF; EDDY, 2003). Além disso, o  $\text{NH}_4^+$  é utilizado como fonte de energia para o crescimento dos organismos autótrofos. O nitrogênio amoniacal pode estar presente em fase aquosa tanto na forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), quanto na forma livre ( $\text{NH}_3(\text{g})$ ), dependendo do pH da solução e da constante de equilíbrio iônico (K), conforme Equação 2.



A distribuição do nitrogênio em função do pH, temperatura de 25°C e força iônica igual a zero é apresentada na Figura 1.



**Figura 1 - Distribuição da amônia (NH<sub>3</sub>) e íon amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) em função do pH, considerando equações de equilíbrio da amônia e temperatura de 25°C.**

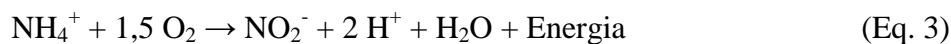
Pode-se observar que à medida que o pH diminui, o equilíbrio se desloca no sentido da formação de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Além do pH, a temperatura também exerce influência sobre a concentração de cada fração nitrogenada. Desta maneira, a partir do conhecimento da constante de equilíbrio da reação, do pH e da temperatura pode-se prever a distribuição das formas de nitrogênio amoniacal no meio. Para esgotos, as faixas de variação típicas do pH e temperatura são 6,5 a 7,5 e 15 a 25°C, respectivamente; indicando que praticamente todo o nitrogênio amoniacal está na forma ionizada (METCALF; EDDY, 2003).

### 3.2 FUNDAMENTOS DE NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO

Entre os processos conhecidos para a remoção de compostos nitrogenados, o biológico é o que melhor se adapta à realidade econômica e ambiental (EPA, 1993<sup>1</sup> apud KHIN; ANNACHHATRE, 2004), por basear-se principalmente nos processos naturais e sequenciais de nitrificação e desnitrificação. Sua adoção dispensa o uso de produtos químicos para correção do pH, o consumo energético excessivo dos equipamentos de difusão de ar, o entupimento de tubulações pelo carbonato de cálcio (quando a cal é utilizada para ajustar pH) e a liberação de amônia livre para atmosfera (em sistemas que não contam com dispositivos de coleta), como ocorre nas operações de “stripping” de amônia.

O processo de nitrificação contribui para a remoção de nitrogênio transformando a amônia ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ ) em compostos nitrogenados oxidados, tais como nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), os quais podem ser convertidos a gás nitrogênio pelo processo de desnitrificação, sequencialmente à nitrificação.

A nitrificação é um processo estritamente aeróbio, realizado por organismos quimioautótrofos que utilizam o oxigênio como receptor final de elétrons e o dióxido de carbono como fonte de carbono. Segundo Metcalf e Eddy (2003), as bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* participam da primeira etapa da nitrificação, que é a nitritação (oxidação de  $\text{N-NH}_4^+$  a  $\text{N-NO}_2^-$ ). E durante a segunda etapa da nitrificação, também chamada de nitratação (oxidação de  $\text{N-NO}_2^-$  a  $\text{N-NO}_3^-$ ), são envolvidos os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitrocystis*. As Equações 3 e 4 representam estes dois processos:

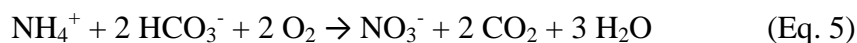


Nota-se, nas equações acima, uma alta demanda por oxigênio para a oxidação do nitrogênio amoniacal. São necessários 4,57 mg de  $\text{O}_2$  para cada mg de  $\text{N-NH}_4^+$  oxidado (METCALF; EDDY, 2003). Além disso, a equação 3 mostra a geração de íons  $\text{H}^+$  que podem diminuir o pH do sistema, caso o efluente não contenha alcalinidade em quantidade suficiente para tamponar a ação destes íons. Neste caso, deve-se assegurar a presença de bicarbonato no

---

<sup>1</sup> EPA. Nitrogen control. EPA, Washington, DC, USA, 1993.

meio, o qual também servirá como fonte de carbono para as bactérias quimioautotróficas envolvidas. A partir da estequiometria da Equação 5, pode-se estimar o requerimento geral de álcali do processo de nitrificação, que é de 7,14 g de  $\text{CaCO}_3$  para cada g de  $\text{N-NH}_4^+$  oxidado.



As reações da nitrificação podem ser afetadas por vários fatores ambientais incluindo a temperatura, o pH, a concentração de oxigênio dissolvido e o tempo de retenção celular (TRC). Estes fatores podem exercer influência direta na atividade enzimática e na velocidade de crescimento dos microrganismos ou influência indireta, interferindo na estrutura do biofilme, na velocidade de difusão e na solubilidade do oxigênio. Dentre as condições ótimas para a nitrificação tem-se: temperatura na faixa de 25°C a 35°C; pH entre 7,5 e 9,0 e concentração de oxigênio dissolvido superior a 2 mg.L<sup>-1</sup>. De acordo com Metcalf e Eddy (2003), a velocidade de nitrificação diminui significativamente em valores de pH inferiores a 6,8; justificando assim, o adequado fornecimento de alcalinidade ao sistema, de maneira que a atividade dos microrganismos seja mantida.

O efeito da carga orgânica na nitrificação é uma questão que também merece atenção, uma vez que a remoção carbonácea e a nitrificação são frequentemente realizadas em um mesmo reator nas plantas convencionais de tratamento. Fu et al. (2009) observaram que a capacidade de nitrificação é incrementada com a redução da relação C/N. O aumento na concentração de substrato disponível para as bactérias nitrificantes estimula o crescimento da biomassa, facilitando a competição por OD com as bactérias heterótrofas. Entretanto, o coeficiente de saturação de oxigênio (obtido via cinética de Monod) das bactérias nitrificantes é maior do que o das bactérias heterótrofas. Logo, a competição por OD pode resultar na estratificação da camada aeróbia do biofilme, com bactérias aeróbias heterotróficas na região mais externa e as nitrificantes nas regiões mais internas (FU et al., 2010).

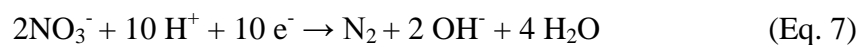
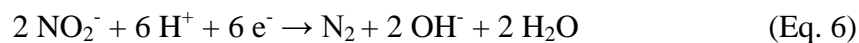
A conversão biológica dos compostos produzidos durante a nitrificação em compostos mais reduzidos, tais como: óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) e principalmente gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) e que ocorre sob condições anóxicas é denominada desnitrificação. A desnitrificação pode ser processada por bactérias facultativas heterotróficas ou autotróficas, as quais utilizam  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$  como aceptores de elétrons em ambiente anóxico, caracterizando um processo de respiração anaeróbia.

A presença de um doador de elétrons é essencial para que o processo de desnitrificação ocorra. O processo pode ser heterotrófico, no qual a matéria orgânica atua

como fonte de carbono e de energia para a atividade dos microrganismos. Ela pode ser suprida por meio de compostos sintéticos adicionados ao meio ou pela matéria orgânica presente no próprio resíduo a ser tratado (SCHIERHOLT NETO, 2007). Ou então, os elétrons podem ser provenientes de substâncias inorgânicas, como por exemplo, o sulfeto; promovendo a chamada desnitrificação autotrófica.

No caso da desnitrificação heterotrófica, pode-se listar alguns gêneros de microrganismos envolvidos: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* *Vibrio* (METCALF; EDDY, 2003).

As Equações 6 e 7 apresentam a estequiometria do processo, caso a desnitrificação seja baseada na redução do  $\text{NO}_2^-$  (desnitrificação via nitrito) ou na redução do  $\text{NO}_3^-$  (desnitrificação via nitrato), respectivamente.



Em geral, concentração de OD superior a  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  é conhecida por inibir a desnitrificação (RITTMANN; LANGELAND, 1985). Embora esse mecanismo de inibição não esteja claro, é aceito que, sob uma elevada concentração de OD, as bactérias desnitrificantes podem mudar seus aceptores de elétrons do nitrato para o oxigênio e assim deixar de desnitrificar. Uma hipótese para ocorrência da desnitrificação na presença de baixas concentrações de OD é a da difusão do oxigênio no biofilme, reduzindo o aporte aos organismos presentes nas camadas mais internas. Isso porque a disponibilidade de oxigênio aos organismos distribuídos mais no interior do biofilme é menor do que no meio líquido. Tal fato se deve a resistência à transferência de massa e utilização do oxigênio do meio pelos organismos nitrificantes e pelos aeróbios oxidadores de matéria orgânica (METCALF; EDDY, 2003).

Segundo Van Haandel e Marais (1999), outras condições ambientais que também exercem influência neste processo são: a temperatura e o pH. Tais autores relatam que a velocidade de desnitrificação é máxima para uma faixa de pH entre 6,5 e 8,0 e que para valores abaixo de 6,0 e acima de 9,0 há uma diminuição considerável na atividade

desnitrificante. Os autores observaram também que a velocidade de desnitrificação aumenta com a temperatura, sendo que o processo ocorre em uma faixa de temperatura de 20°C e 35°C.

### 3.3 INFLUÊNCIA DO CARBONO NA DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA

A forma convencional de manter o ambiente aeróbio e anóxico, necessários para ocorrência de nitrificação e desnitrificação, respectivamente, é a utilização de unidades sequenciais. Outra forma de se obter ambiente aeróbio e anóxico, que não a espacial, é fornecer oxigênio alternadamente no tempo. Sistemas que operam com aeração intermitente empregam períodos cíclicos nos quais o fornecimento de oxigênio é realizado periodicamente. Durante a fase não-aerada, o reator opera em condições anóxicas, promovendo a redução do nitrito e nitrato pela desnitrificação (Moura, 2011).

Barana et al. (2013) analisaram a eficiência de remoção de DQO e nitrogênio do efluente de um reator UASB de abatedouro de aves. Foi adotado um reator de leito ordenado de fluxo ascendente, operando com quatro diferentes condições de aeração intermitente. A partir dos resultados obtidos, os autores observaram que todas as fases experimentais apresentaram eficiência de nitrificação de, pelo menos, 90%. No entanto, apenas na fase com maior tempo sem aeração (ciclos de 3 horas, sendo 1 hora com aeração e 2 horas sem aeração) é que a remoção de nitrogênio total foi incrementada, atingindo eficiência de 62%. A baixa eficiência de desnitrificação, embora a taxa de recirculação utilizada no experimento fosse elevada, possivelmente pode ser atribuída à ausência de matéria orgânica prontamente biodegradável. Dessa forma, o equilíbrio entre os períodos de aeração e não aeração deve garantir, além do fornecimento de OD, a disponibilidade de doadores de elétrons para desnitrificação.

Segundo Zhang & Zhou (2007), quando o carbono do meio em um sistema de nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) é insuficiente, pode ocorrer a inibição dos organismos desnitrificantes heterótrofos, que necessitam de carbono orgânico como doador de elétrons. No estudo realizado por tais autores, a razão alimento/microrganismos (F/M) de um sistema de lodos ativados variou de 0,05-0,10 gDQO. gSSV<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>. A partir desta variação, observou-se que a maior parte do carbono foi utilizado pelos organismos aeróbios heterótrofos na remoção da matéria orgânica, limitando assim, o processo de desnitrificação. Para confirmar a influência do carbono orgânico na desnitrificação, o mesmo sistema foi operando com tempo de retenção celular (TRC) de 45 dias, razão C/N de 10 e razão F/M de

0,10 g DQO.gSSV<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>. O sistema recebeu uma fonte de carbono externa (solução de glicose) e foi submetido à rotação de 12 horas. Os resultados obtidos mostraram que o nitrito e o nitrato foram removidos; indicando que processo de desnitrificação foi realizado e que ele pode ser influenciado pela presença de carbono disponível.

### 3.4 PROCESSO ANAMMOX

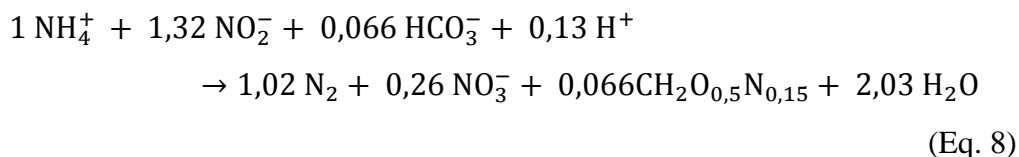
Segundo Martins (2010), as bactérias anammox representam a mais recente inclusão de microrganismos atuantes no ciclo biogeoquímico do nitrogênio. No metabolismo anammox, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> é convertido a N<sub>2</sub> em condições estritamente anóxicas, utilizando N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> como acceptor de elétrons (STROUS et al., 1997, 1998; VAN DE GRAAF et al., 1996). Hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH) e hidrazina (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) são os compostos intermediários da reação.

As bactérias anammox pertencem à ordem *Brocadiales* e são filiadas à *Planctomycetes*. São fisiologicamente distintas dos demais membros do grupo *Planctomycetes*, já que são quimiolitotróficos. Apresentam morfologia de cocos, com diâmetro inferior a 1 µm (VAN NIFTRIK et al., 2004). Seu crescimento é lento, com tempo de duplicação de 11 a 20 dias. Devido à grande resistência, são capazes de sobreviver em ambientes com concentrações muito baixas de substrato, o que pode reduzir ainda mais o tempo de duplicação celular. São anaeróbias obrigatórias, com inibição reversível do metabolismo em concentrações de oxigênio acima de 2 µM (0,064 mg.L<sup>-1</sup>) (STROUS et al., 1997).

Tais bactérias contêm um compartimento intracitoplasmático limitado por membrana (“anamoxossomo”), o qual é responsável pela conversão do amônio e do nitrito a gás nitrogênio sob a ação da hidrazina (KARTAL; KUENEN; VAN LOOSDRECHT, 2010). Eficiência metabólica máxima ocorre com temperatura na faixa de 20° e 43°C e com pH entre 7 e 8.

Desde que foi descoberto, o processo anammox tem sido apontado como uma forma economicamente eficiente e sustentável de tratar águas residuárias ricas em nitrogênio amoniacal (JETTEN et al., 2009; KARTAL; KUENEN; VAN LOOSDRECHT, 2010). Estudo de Kartal, Kuenen e Van Loosdrecht, (2010) mostra que a implantação do processo anammox pode reduzir em até 60% os custos operacionais do sistema, devido à redução no consumo de O<sub>2</sub> e a diminuição na produção de lodo. Strous et al. (1998) estabeleceram a

seguinte equação geral (Equação 8) para o processo, considerando reatores em condições estáveis de operação:



A partir de estudos do genoma do gênero *K. stuttgartiensis* (4,2 megabases) foram deduzidas as rotas metabólicas da oxidação anaeróbia do amônio. Tais estudos apontam a existência de diversos genes específicos, dentre os quais os responsáveis pela síntese das enzimas: nitrato nitrito redutase (narGH), óxido nítrico nitrito oxidoreductase (nirS), hidrazina hidrolase (HH) e hidroxilamina/hidrazina oxidoreductase (HAO/HZO). As enzimas narGH e nirS atuam nas primeiras etapas da desnitrificação. Porém, a ausência de genes para óxido nítrico redutase e óxido nitroso redutase (que também são enzimas da desnitrificação) sugere o estabelecimento de rota alternativa à desnitrificação convencional. Nitrito e nitrato podem ser utilizados como receptores de elétrons na oxidação de amônio. Logo, à medida que o organismo pode produzir tanto nitrito (do nitrato) quanto amônio (do nitrito), pode-se afirmar que esse microrganismo é capaz de produzir seus próprios receptores e doadores de elétrons; levando à produção de N<sub>2</sub> por um caminho diferente da desnitrificação convencional (KARTAL et al., 2007).

A remoção de nitrogênio via anammox se mostra mais simples do que a remoção via nitrificação e desnitrificação convencional. Além disso, a reação anammox é tão energeticamente favorável ( $\Delta G^\circ = -357 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ) quanto, por exemplo, a reação de nitrificação ( $\Delta G^\circ = -275 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ). Uma desvantagem deste tipo de tratamento é que o desenvolvimento das bactérias é muito lento. Portanto, é necessário um sistema eficiente de separação de sólidos e um longo período de partida para se obter a concentração de biomassa suficiente para uma boa operação (JETTEN et al., 1997).

As bactérias anammox possuem metabolismo muito mais versátil do que se imaginava. Além do metabolismo usual (autotrófico), são capazes de crescer em meio contendo ácidos orgânicos como doadores de elétrons para redução de nitrito e nitrato (KARTAL et al., 2007). Justamente por apresentar essa versatilidade metabólica é que as bactérias anammox podem se desenvolver conjuntamente ao metabolismo heterotrófico. O estudo de Wang et al. (2010) mostra que para se alcançar o efetivo acoplamento das atividades anammox e desnitrificante é necessário escolher uma configuração de reator que



permita adequados TDH e TRC e, promover condições controladas de OD, pH, temperatura, alcalinidade e concentrações limitantes de substratos (carbono,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ ).

Sistemas com biomassa imobilizada permitem o desenvolvimento anammox eficiente, mesmo sob concentrações mais elevadas de OD. O excesso de OD no meio líquido é consumido, nas zonas mais externas do biofilme, pelas bactérias oxidadoras de matéria orgânica e bactérias nitrificantes. Simultaneamente, as bactérias anammox e as desnitrificantes heterotróficas podem ser desenvolver nas zonas anóxicas do biofilme.

### 3.5 NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEAS

Uma nova abordagem para remoção de nitrogênio, na qual a nitrificação ocorre concomitantemente com a desnitrificação (no tempo e no espaço, sob condições constantes) vem sendo relatada nos últimos anos (RITTMAN E LANGELAND, 1985; HOLMAN; WAREHAM, 2005; LIU et al., 2010; VON MÜNCH; LANT; KELLER, 1996). Este novo processo é denominado nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) e ocorre sob baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Tal mecanismo tem como fator chave para o alcance de uma elevada remoção de nitrogênio, o controle do equilíbrio entre a nitrificação e a desnitrificação (ZHANG; ZHOU, 2007).

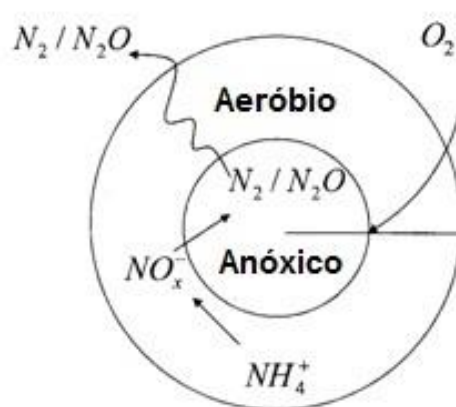
A NDS pode ser explicada por fenômenos físicos e biológicos. A explicação biológica é baseada na existência de certas bactérias heterótrofas desnitrificantes, capazes de reduzir o nitrogênio em condições aeróbias e também, na existência de bactérias heterótrofas nitrificantes (MUNCH et al., 1996). A presença de tais organismos implica diretamente na redução dos fluxos de recirculação nos sistemas de tratamento e na diminuição dos custos com adição de fontes externas de carbono (HOLMAN; WAREHAM, 2005).

Dentre as explicações existentes para ocorrência da NDS, a mais aceita é a física, a qual afirma que o conceito básico do processo é criar gradiente de concentração de oxigênio no biofilme. Desse modo, tanto condições aeróbias quanto anóxicas podem ser estabelecidas dentro de um único reator. Sob estas condições, tanto as bactérias nitrificantes quanto as desnitrificantes atuam no desempenho de suas transformações biológicas de forma associada (LIU et al., 2010).

Tay et al. (2002) analisaram os mecanismos de difusão de substrato e oxigênio em grânulos aeróbios. Os autores observaram que a concentração de oxigênio dissolvido pode cair a zero nas camadas logo abaixo da superfície do grânulo, possibilitando o surgimento de

zonas anóxicas. Este ponto no qual a zona anóxica é estabelecida depende da taxa específica de consumo de oxigênio e também das características intrínsecas do grânulo.

Os perfis de OD obtidos a partir de flocos de lodos ativados por Zeng et al. (2003) corroboram com os resultados discutidos por Tay et al. (2002). Assim, confirma-se a existência de zonas anóxica e aeróbia dentro dessas partículas (Figura 2), garantindo a ocorrência da nitrificação e desnitrificação de forma simultânea.



**Figura 2 - Esquema de um floco de lodo ativado com regiões aeróbias e anóxicas (ZENG et al., 2003).**

Segundo a abordagem física do processo, a NDS é influenciada pela concentração de OD e pela disponibilidade de matéria orgânica e de nitrogênio total no meio. Além de influenciar diretamente nas reações realizadas pelos microrganismos aeróbios, a concentração de OD pode limitar a distribuição de substrato (LI et al., 2008), uma vez que a entrada do substrato nas camadas mais internas do biofilme ou grânulo biológico depende da transferência de massa de oxigênio dissolvido (YUAN; GAO, 2010).

O tamanho dos flocos do biofilme também pode influenciar na eficiência do processo. Acredita-se que cisalhar o floco, ou reduzir seu tamanho, seja prejudicial à presença de zonas anóxicas. Pochana e Keller (1999) realizaram um estudo no qual a redução na dimensão média do floco de lodo ativado de 80 para 40  $\mu\text{m}$ , ocasionada por uma alta velocidade de mistura de biomassa, resultou na redução de remoção de nitrogênio via NDS de 52% para 21%.

Pochana e Keller (1999) investigaram neste mesmo estudo, a eficácia da remoção de nitrogênio de águas residuárias pelo processo NDS em um reator em bateladas sequenciais. Os autores observaram que as concentrações mais elevadas de OD favoreciam a nitrificação. Simultaneamente, as altas concentrações de OD inibiam o processo desnitrificante, causando um acúmulo de nitrito e nitrato no reator. Por outro lado, sob baixas concentrações de OD, a

nitrificação foi desacelerada e a desnitrificação incrementada. Assim, pode-se concluir que a concentração de OD é um fator crítico para o processo NDS. Para se promover um equilíbrio harmonioso entre os processos de nitrificação e desnitrificação, a concentração deve ser mantida em um nível adequado.

Sistemas que operam com NDS são capazes de manter o pH do reator sem que seja necessário adicionar uma fonte externa de ácido ou base. Durante o processo de nitrificação, a alcalinidade é consumida, porém ela é produzida na desnitrificação, mantendo-se um equilíbrio entre o pH que pode promover o desenvolvimento de diferentes populações de microrganismos em um único reator (YOO et al., 1999).

Existem também algumas bactérias heterotróficas, por exemplo *Alcaligenes faecalis* (VAN NIEL et al., 1992) e *Thiosphaera pantotropha* (ROBERTSON; KUENEN, 1988), que são capazes de realizar a NDS usando substratos orgânicos como fontes de carbono e de energia para converter aerobicamente o íon amônio a gás nitrogênio. O processo NDS, neste caso, é chamado de desamonificação aeróbia (VAN LOOSDRECHT; JETTEN, 1998). Zhao et al. (1999) sugeriram que as nitrificantes heterotróficas podem coexistir com as nitrificantes autotróficas em uma vasta gama de condições, desempenhando um papel significativo na oxidação do nitrogênio amoniacal numa proporção DBO/N de 6,9 ou mais.

Moura et al. (2012) operaram reator de leito fixo e estruturado, submetido a aeração intermitente e recirculação de efluente para a remoção conjunta de matéria orgânica e nitrogênio. Alimentado com efluente sintético com características de esgoto sanitário, o sistema apresentou eficiência de 89% na remoção de DQO e de 82% na remoção de N-total.

### **3.6 A RELAÇÃO C/N E O PROCESSO NDS**

A nitrificação autotrófica é geralmente lenta se comparada com o metabolismo heterotrófico, uma vez que os coeficientes  $Y$  (rendimento celular, expresso em termos de  $\text{gSSV.gDQO}^{-1}$ ) e  $\mu$  (taxa de crescimento específico, expressa em  $\text{gcélulas novas/gcélulas}^{-1}$ ) das bactérias nitrificantes são menores do que para os organismos heterótrofos. Dessa forma, bactérias nitrificantes necessitam de tempo de retenção celular (TRC) da ordem de 4 a 7 dias a  $20^{\circ}\text{C}$ , enquanto que as heterótrofas, responsáveis pelo consumo de matéria orgânica, de 2,5 a 3 dias.

No processo NDS, substrato orgânico biodegradável é requerido para o fornecimento dos elétrons necessários para redução do nitrato produzido na etapa de nitrificação (CHIU et

al., 2007; LIU et al., 2010). Pochana e Keller. (1999) operaram reator em batelada para remoção de nitrogênio de efluente proveniente de lagoa de estabilização aplicada ao tratamento de água residuária de abatedouro bovino. Como resultado, os autores observaram que a adição de uma fonte de DQO facilmente biodegradável na fase anóxica resultou em significativo aumento da atividade NDS.

No entanto, no estudo de Liu et al. (2010) observou-se que a eficiência do processo de nitrificação diminuiu com o aumento da carga afluenta de DQO, especialmente quando a carga orgânica aplicada atingiu um valor crítico ( $0,18\text{kg de DQO.kgSSV}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ). Como a adição da fonte orgânica não foi realizada exatamente no período anóxico (ocorrência da desnitrificação), a eficiência de nitrificação caiu. Isso acontece devido a presença massiva de organismos heterótrofos, que têm sua atividade metabólica estimulada pelo aumento da carga de DQO e disponibilidade de  $\text{O}_2$  (LIU et al., 2010). Tais microrganismos apresentam metabolismo mais rápido do que as bactérias nitrificantes, vencendo a competição pela utilização do OD presente no meio líquido.

Segundo Fu et al. (2010), decréscimos na carga afluenta de DQO, mantendo-se a carga de amônia constante, reduzem a disponibilidade de fontes de carbono; acarretando na diminuição da população de bactérias heterótrofas. Dessa maneira, as bactérias nitrificantes tornam-se as componentes mais importantes no biofilme. A relação entre C/N e a população nitrificante sugere maior abundância relativa de organismos nitrificantes em reatores com baixa relação C/N. No entanto, a competição por OD entre as bactérias heterótrofas e as nitrificantes resulta na estratificação da zona aeróbia do biofilme. Identifica-se o rápido crescimento das heterótrofas nas regiões mais externas, enquanto que as nitrificantes, de crescimento mais lento, ficam localizadas nas camadas aeróbias mais profundas. Assim, a limitação de oxigênio resultante do consumo e da resistência à transferência de massa na camada heterotrófica do biofilme afeta negativamente as bactérias nitrificantes na presença de substratos orgânicos, quando a concentração de oxigênio no meio é baixa (SATOH et al., 2000<sup>2</sup> apud FU et al., 2010).

Hooper et al. (1997) e Chiu et al. (2007) observaram que quando o sistema de tratamento é submetido a baixa relação C/N, ocorre o acúmulo de  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N-NO}_3^-$ , indicando que a nitrificação é o processo predominante. Já nos casos em que esta relação é

---

<sup>2</sup> SATOH, H.; OKABE, S.; NORIMATSU, N.; WATANABE, Y. Significance of substrate C/N ratio on structure and activity of nitrifying biofilms determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. **Water Science Technology**, v. 41, n. 4-5, p. 317-321, 2000.

aumentada, observou-se que todos os componentes nitrogenados intermediários foram identificados em concentrações inferiores aos limites de detecção dos métodos de análise. Tais resultados estão de acordo com a ideia de que um processo NDS eficiente ocorre quando as taxas de nitrificação e desnitrificação estão em um equilíbrio harmonioso, acumulando quantidades muito baixas de nitrito e nitrato no sistema (VON MÜNCH; LANT; KELLER, 1996; ZENG et al., 2003). A partir dessas constatações, pode-se dizer que a relação C/N é um fator importante a ser considerado nos processos de NDS.

Chiu et al. (2007) estudaram o controle da relação C/N em um reator NDS operando em bateladas sequenciais e alimentado com efluente sintético. Nesse trabalho, acetato foi utilizado como fonte orgânica e o cloreto de amônio como fonte de nitrogênio. Diferentes relações C/N foram testadas pela alteração das fontes orgânica e de nitrogênio. Os autores obtiveram como resultado que o sistema em bateladas sequenciais pode alcançar remoção quase completa da matéria orgânica e do nitrogênio amoniacal sem nenhum acúmulo do intermediário nitrito quando a relação inicial de C/N foi de 11,1.

O trabalho realizado por Meng et al. (2008) avaliou os efeitos da relação C/N e da concentração de OD sobre a NDS em um reator de membrana, operando com efluente sintético similar ao esgoto doméstico. Sacarose foi utilizada como fonte de carbono. A carga de DQO afluente foi mantida constante e três diferentes relações C/N foram testadas, a partir da variação da carga de nitrogênio afluente. Os resultados experimentais mostraram que as taxas de nitrificação e desnitrificação atingiram um equilíbrio, resultando num processo NDS praticamente completo quando a relação C/N foi de 9,59.

A Tabela 1 mostra uma comparação entre os desempenhos na remoção de nitrogênio total e matéria orgânica (em termos de DQO) pelo processo NDS.

**Tabela 1 - Comparação do desempenho de diversos sistemas de remoção de nitrogênio e carbono operados pela via NDS.**

<b>Tipo de reator</b>	<b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>TDH (horas)</b>	<b>Água Residuária</b>	<b>DQO afluente (mg. L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Eficiência de remoção de DQO (%)</b>	<b>Eficiência de remoção de NT (%)</b>	<b>C/N ótima<sup>3</sup></b>	<b>Autores Reportados</b>
Canal de oxidação	1,0-1,2	6-12	Esgoto doméstico	371	86-94	60-70	9	Liu et al. (2010)
Leito estruturado com aeração intermitente	2,0-3,5	12	Esgoto sanitário sintético	364	89	82	11,6	Moura et al.(2012)
Reator de fluxo contínuo e leito móvel	3,0-4,0	10	Esgoto sanitário sintético	1500	95,7	72,4*	13,4	Fu et al. (2010)
Reator de membrana interna	1,0	12	Esgoto sanitário sintético	406	90	73	9,59	Meng et al. (2008)
Reator de Bateladas Sequenciais (SBR)	0,64-0,68	24	Efluente sintético	1320	-	98,7*	11,1	Chiu et al. (2007)
Reator de membrana modificado (MBR)	-	36	Esgoto sanitário sintético	2000	95	90	9,3	Fu et al. (2009)

\*Este dado está em termos de eficiência de remoção de N-amoniacal.

<sup>3</sup> Relação C/N em termos de DQO e NTK.

A partir da coletânea de trabalhos apresentada na Tabela 1 observa-se que o alcance de significativa eficiência de remoção de N-total (acima de 70%) está relacionado à disponibilidade de matéria orgânica biodegradável para a desnitrificação heterotrófica. Essa demanda depende da fonte orgânica utilizada, como pode ser observado na Tabela 2.

**Tabela 2 – Demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica de acordo com fonte de carbono.**

<b>Fonte orgânica</b>	<b>Demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica (mg DQO/mg N-NO<sub>3</sub>)</b>
Glicose	2,68
Sacarose	2,85
Etanol	2,86
Metanol	3,47
Acetato	4,30

Porém, a relação C/N de diversas classes de águas residuárias é inferior aos valores apontados na literatura para desnitrificação eficiente. Nesses casos, observa-se que a remoção de N-total fica limitada pela falta de fonte de carbono disponível para a etapa de desnitrificação. Nesse sentido, novas tecnologias de tratamento têm sido pesquisadas com intuito de promover a remoção de N-total mesmo sob baixa disponibilidade de doadores de elétrons e sem adição de fontes externas de carbono. Dentre essas novas tecnologias destacam-se os seguintes processos:

- SHARON (Single Reactor for High Ammonia Removal Over Nitrite) (HELLINGA et al., 1998);
- CANON (Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite) (SLIEKERS et al., 2002);
- OLAND (Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification) (PYNAERT et al., 2004).

Recentemente, o processo simultâneo de nitrificação parcial, anammox e desnitrificação (SNAD) passou a ser pesquisado. Tal processo acopla os conceitos de anammox e NDS a partir da limitação na ocorrência da nitrificação total (CHEN et al., 2009; WANG et al., 2010). Sob condições limitantes de oxigênio dissolvido, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> é oxidado a N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> pelas bactérias oxidadoras de amônia. O nitrito disponível é utilizado pelas bactérias

anammox para oxidar a amônia remanescente até  $N_2$ . Em seguida, a matéria orgânica remanescente pode ser utilizada como doadora de elétrons na redução do  $N-NO_3$  até  $N_2$ , pelas bactérias desnitrificantes heterótrofas. O acoplamento do processo anammox e da desnitrificação só é eficaz quando a desnitrificação não compete por  $N-NO_2$  com as bactérias anammox. A interação entre as biomassas nitrificante, anammox e desnitrificante sob limitação na concentração de OD pode promover a remoção quase completa da matéria nitrogenada e carbonácea em um mesmo sistema (CHEN et al., 2009).

A literatura disponível mostra que a mudança na relação C/N pode afetar a remoção de nitrogênio via processo NDS em reatores biológicos. Estudos com esse escopo já foram realizados em: filtros biológicos aerados (OHASHI et al., 1995), reator de membrana (FU et al., 2009; MENG et al., 2008), canal de oxidação (LIU et al., 2010) e reator em bateladas sequenciais (CHIU et al., 2007). Apesar desses trabalhos utilizarem diferentes configurações de reatores, comportamento semelhante foi observado quando os sistemas de tratamento foram submetidos à afluente com baixa relação C/N. Em todos os sistemas, as eficiências de nitrificação foram incrementadas (se comparadas às condições com maior relação C/N), resultando em efluente final com baixa concentração de  $N-NH_4^+$ . Entretanto, como a carga nitrogenada afluente era maior, a DQO disponível não foi suficiente para garantir a desnitrificação heterotrófica de toda fração nitrogenada oxidada. Esta situação resultou no acúmulo de  $N-NO_3^-$  em todos os sistemas, limitando a remoção de N-total pelo processo NDS. Além disso, os efluentes tratados nestes trabalhos apresentam basicamente as mesmas características, não permitindo uma análise mais profunda da influência da fonte orgânica sobre os bioprocessos envolvidos.

O comportamento do processo NDS em reator de leito estruturado, fluxo contínuo e sob regime de aeração intermitente ainda não foi bem explorado. Além disso, não há informações a cerca do comportamento da remoção de nitrogênio sob baixa disponibilidade de doadores de elétrons para a desnitrificação heterotrófica nessa mesma configuração de reator e, nem sobre a influência da fonte orgânica no processo combinado para uma mesma relação C/N. Nesse sentido, este trabalho tem por objetivo avaliar a influência da relação C/N e da fonte orgânica no processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas em um reator de fluxo contínuo e leito fixo estruturado, operando com água residuária sintética.



## 4 INSTALAÇÕES E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS

### 4.1 APARATO EXPERIMENTAL

#### 4.1.1 REATOR BIOLÓGICO

O reator foi construído a partir de um tubo de acrílico, de formato cilíndrico, com diâmetro interno de 14 cm e 90 cm de altura (*headspace* de 20 cm). A parte inferior do reator foi projetada no formato cônico (13 cm de altura), com o objetivo de facilitar o descarte de líquido. Desta maneira, o volume total do reator foi de aproximadamente 11,0 L. A Figura 3 representa esquematicamente o sistema descrito.

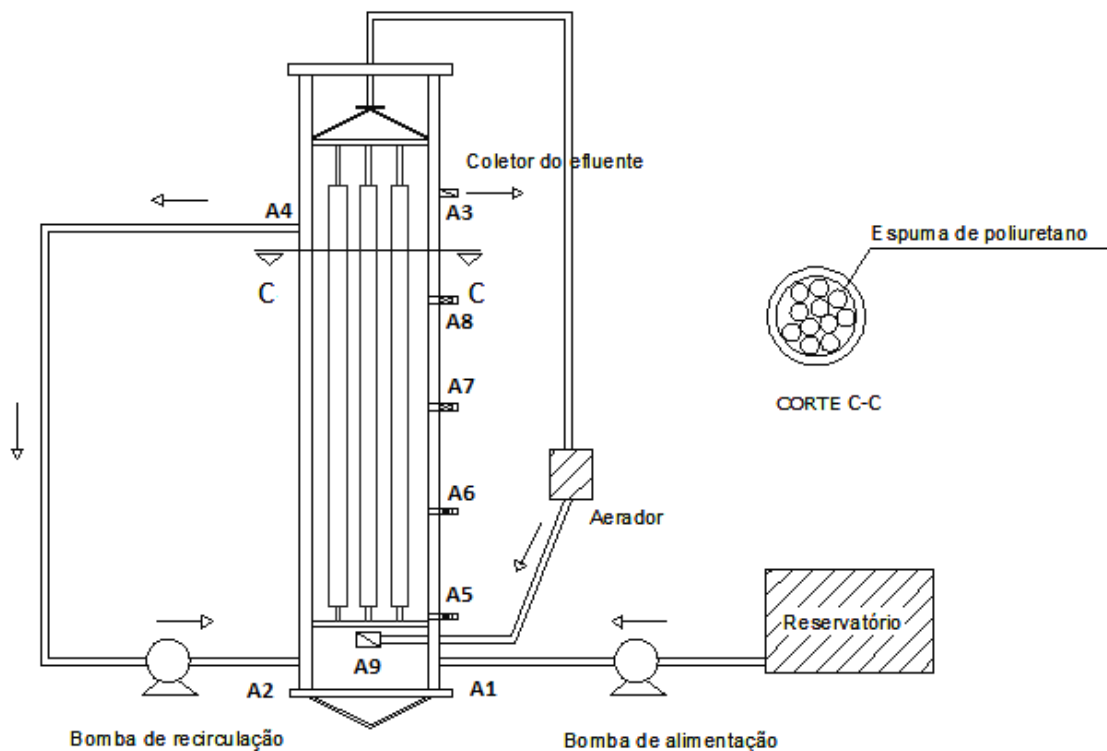


Figura 3 - Esquema do sistema em escala de bancada (Adaptado de MOURA, 2011).

O sistema foi operado em escoamento ascendente e alimentação contínua, com a entrada localizada na base do reator (representada por A1) e a saída do efluente tratado (A3) situada na zona superior do reator, a 80 cm da base. A saída para recirculação do efluente estava localizada a 65 cm da base do reator (A4). Além do ponto de alimentação, a zona

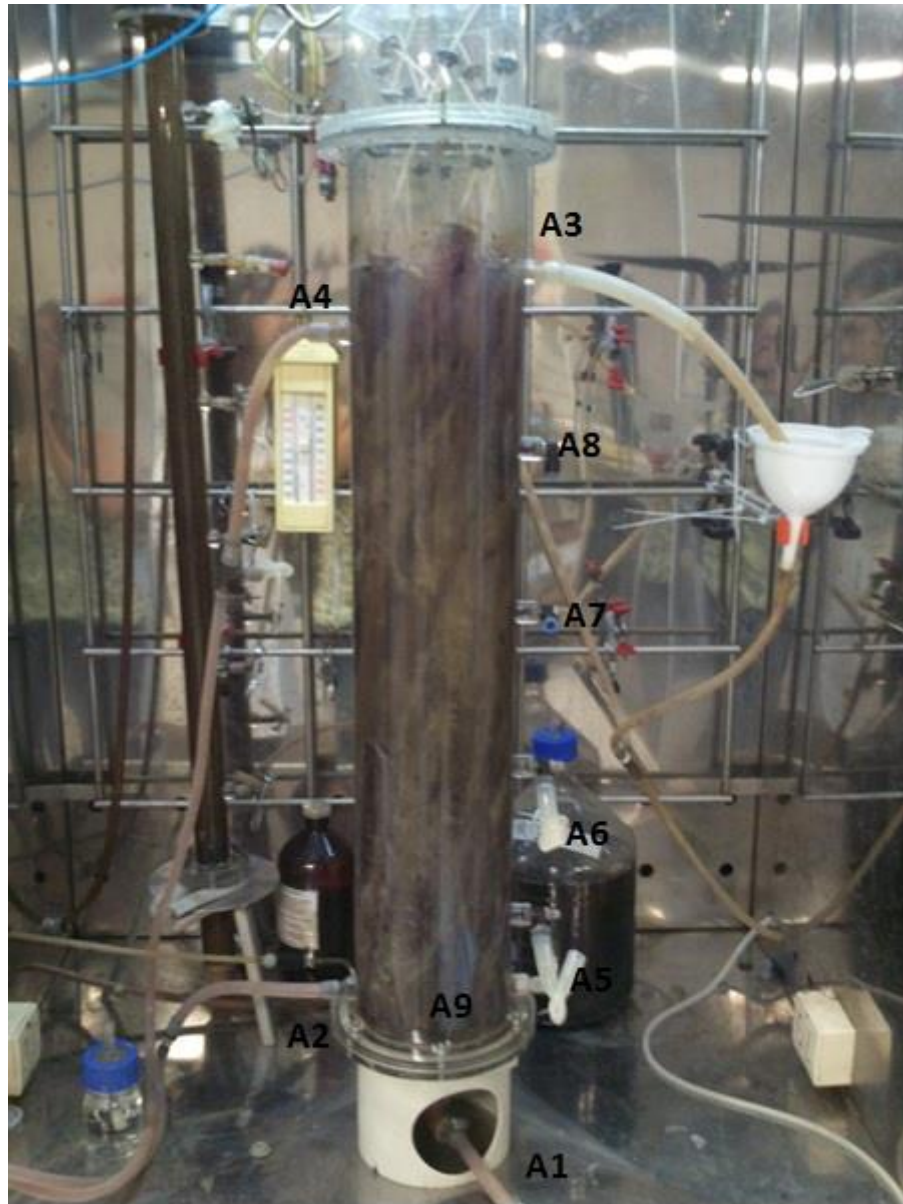
inferior do reator contou com entrada independente para a vazão de recirculação, representada pelo ponto A2. As características físicas do reator estão sintetizadas na Tabela 3.

**Tabela 3 - Características físicas do reator biológico.**

<b>Parâmetro físico</b>	<b>Valor</b>
Altura útil	70 cm
Diâmetro	14 cm
Volume total	11 L
Volume útil	5,5 L
Porosidade do leito	50%

O reator foi mantido em câmara climatizada a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . A alimentação e a recirculação foram feitas por meio de bombas peristálticas dosadoras; sendo a primeira da marca Gilson, modelo MiniplusEvolution e a segunda, da marca ProMinent, modelo Concept B. As vazões de alimentação e recirculação adotadas foram de aproximadamente  $8,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e  $42,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , respectivamente. A razão de recirculação igual a 5 ( $Q_R:Q_A$ ) foi adotada conforme o trabalho de Moura (2011), o qual observou que tal razão era suficiente para garantir regime de escoamento de mistura completa no reator.

A aeração do sistema foi realizada por meio de aerador de aquário provido de difusor de micro bolhas (A9) conectado na extremidade da mangueira de saída do ar. Tal dispositivo foi ligado a um timer, de maneira a permitir que o sistema permanecesse 2 horas com aeração e 1 hora sem aeração. Primeiramente, foi utilizado apenas um aerador de aquário na operação do sistema. Porém, dificuldades na manutenção da concentração de oxigênio dissolvido devido à problemas na transferência de massa decorrentes da formação de biomassa suspensa, levaram à adoção de sistema de aeração compostos por dois aeradores. Desse modo, a concentração de OD mantida durante a fase aeróbia ficou entre 2,0 e  $3,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . A Figura 4 retrata o sistema em operação:



**Figura 4 - Fotografia da instalação experimental (24º dia de operação).**

#### **4.1.2 ALIMENTAÇÃO E SUBSTRATO SINTÉTICO**

Ao longo deste estudo experimental foram adotadas duas composições de água residuária sintética, ambas baseadas no meio proposto por Torres (1992). A primeira possuía características físico-químicas semelhantes à de um esgoto doméstico após tratamento preliminar (remoção de sólidos e gorduras), cuja fonte de carbono foi a sacarose. A outra contemplou o uso da peptona de carne como fonte de carbono, o que proporcionou a obtenção de efluente sintético com alto teor proteico. Vale ressaltar que devido ao fato da peptona de carne ser um composto mais complexo, uma caracterização mais extensa foi realizada e as informações obtidas seguem no Anexo 1. A partir das análises efetuadas foi possível

caracterizar as frações orgânica e nitrogenada da peptona de carne, além de sua constituição mineral.

A relação C/N foi variada de acordo com a condição experimental, mantendo-se sempre a concentração de carbono fixa em 500 mg DQO.L<sup>-1</sup> (carga carbonácea afluyente média de 1,10 kg DQO. m<sup>-3</sup>. dia<sup>-1</sup>) e alterando-se a relação C/N pela concentração de nitrogênio. Vale a pena ressaltar que, as concentrações de carbono e nitrogênio utilizadas foram descritas em termos de DQO e NTK, respectivamente.

A caracterização afluyente dos substratos sintéticos utilizados em cada uma das condições experimentais adotadas está apresentada na Tabela 4. A concentração afluyente de alcalinidade foi definida de maneira a suprir a demanda exigida para a oxidação completa da carga nitrogenada aplicada em cada condição experimental (7,14 mg CaCO<sub>3</sub> por mg de NTK oxidado).

**Tabela 4 - Caracterização dos componentes presentes na água residuária sintética em cada uma das condições experimentais avaliadas.**

Condição	Fonte orgânica	DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	Alcalinidade Total (mg.L <sup>-1</sup> )	NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	N-amoniacal (mg.L <sup>-1</sup> )	Relação C/N
1	Sacarose	481±24,1	238±4,5	51,3±6,8	43,4±5,7	9,7±1
2	Peptona	489±28,2	279±9,8	62,7±5,3	ND	7,6±1
3	Peptona	489±27,0	762±31,2	179,4±10	69,0±22,8	2,9±1
4	Sacarose	529±41,3	525±10,8	193,4±22,3	100,1±19,6	2,9±0,4

ND: dados não disponíveis.

A partida do sistema foi dada com a água residuária rica em sacarose (Condição 1), mantendo-se uma relação C/N próxima a 9, apontada na literatura como ótima para o estabelecimento do processo NDS. A partir desta relação, foram testadas as relações C/N de 8 (Condição 2) e 3 (Condição 3) para água residuária à base de peptona de carne (sendo a concentração de nitrogênio corrigida pela adição de cloreto de amônio). Ao final do experimento, o sistema foi novamente operado com água residuária à base de sacarose, seguindo relação C/N de 3 (Condição 4).

A Tabela 5 mostra os componentes que foram utilizados no preparo das águas residuárias sintéticas a base de sacarose e de peptona de carne em cada uma das condições experimentais. Os compostos macronutrientes (sais minerais) foram preparados como uma

solução à parte, sendo 2,5 mL desta solução adicionada para cada litro de afluente preparado. A composição da solução de macronutrientes está apresentada na Tabela 6.

**Tabela 5 - Composição da água residuária sintética em cada condição experimental (Adaptado de TORRES, 1992).**

Condições Experimentais	1	2	3	4
Constituintes	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )
Sacarose	500	0	0	500
Peptona de Carne	0	500	500	0
Cloreto de amônio (NH <sub>4</sub> Cl)	191	0	241	638
Sulfato de magnésio (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	38,5	78,2	36,7	38,5
Fosfato de potássio monobásico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	22	35,8	12,1	22
Bicarbonato de Sódio (NaHCO <sub>3</sub> )	400	400	800	800

**Tabela 6 - Composição da solução de macronutrientes (TORRES, 1992).**

Componente	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )
Cloreto de sódio (NaCl)	100
Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	2,8
Cloreto de Magnésio (MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	1,8

Nocko (2008), observou que uma fonte de micronutrientes é fundamental para suprir as necessidades nutricionais e promover o desenvolvimento dos microrganismos presentes no sistema. Sendo assim, foi adicionada ao afluente sintético uma solução de micronutrientes, conforme utilizado por Torres (1992) e cuja composição está apresentada na Tabela 7. Para cada litro de afluente preparado, foi adicionado 1 mL desta solução de micronutrientes.

**Tabela 7 - Composição da solução de micronutrientes (TORRES, 1992).**

<b>Componente</b>	<b>Concentração (g.L<sup>-1</sup>)</b>
Ácido Nitrilotriacético(NTA)	12,800
FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	1,350
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,100
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,024
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,100
ZnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,100
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,010
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,024
NaCl	1,000
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,026
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,120

Foi adicionada também uma solução de vitaminas, baseada em Touzel e Albagnac (1983). Para cada 11,5 L de água residuária adicionou-se 25 mL da solução de vitaminas. Tal solução foi preparada em condições adequadas de assepsia e foi armazenada sob refrigeração. A Tabela 8 relaciona os constituintes da solução de vitaminas.

**Tabela 8 – Composição da solução de vitaminas baseada em Touzel e Albagnac (1983).**

<b>Componente</b>	<b>Concentração (g.L<sup>-1</sup>)</b>
Biotina	0,009
Ácido fólico	0,009
Tiamina	0,023
Riboflavina	0,023
Ácido Nicotínico	0,023
Pantotenato de cálcio	0,023
Piridoxina	0,046
Vitamina B12	0,0005
Ácido Lipóico	0,023
Ácido p-aminobenzóico	0,023

Uma vez preparado, o substrato foi armazenado sob refrigeração (4°C) para evitar a fermentação garantindo a preservação de suas características físico-químicas. No entanto, para evitar possíveis erros na caracterização do afluente, análises de monitoramento foram realizadas utilizando substrato por período de armazenamento máximo de 2 dias.

#### **4.1.3 MATERIAL SUPORTE**

Como meio suporte para o reator em questão, foram utilizadas 13 estruturas cilíndricas de espuma de poliuretano, cada uma com 3 cm de diâmetro e altura de 60 cm, cuja disposição no interior do reator pode ser visualizada no corte C-C da Figura 3. Hastes verticais de PVC foram utilizadas para a fixação das estruturas cilíndricas às extremidades do reator. A Tabela 9 sintetiza as características do meio suporte.

**Tabela 9 – Características da espuma de poliuretano (Adaptado de Silva et al., 2006).**

<b>Característica</b>	<b>Valor</b>
Diâmetro	3,0 cm
Densidade aparente	23 g.L <sup>-1</sup>
Porosidade	92%
Principal diâmetro de poro	543 µm
Área de superfície*	43,8 m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup>

\*Medido pelo método BET multiponto

#### **4.1.4 INÓCULO**

O inóculo utilizado no experimento foi obtido a partir da mistura (50% em volume) de lodo proveniente de um sistema de lodos ativados com atividade nitrificante, da estação de tratamento de águas residuárias da Fábrica de Motores da Volkswagen (São Carlos/SP) e de lodo oriundo de reator UASB aplicado ao tratamento de águas residuárias da Avícola Dacar (Tietê/SP).

O lodo Dacar apresentou concentração inicial em termos de sólidos totais (ST) e sólidos totais voláteis (STV) de 50,7 g ST.L<sup>-1</sup> e 41,1 g STV.L<sup>-1</sup>, respectivamente. As concentrações iniciais de ST e STV no lodo Volkswagen foram de 5,7 g ST.L<sup>-1</sup> e 1,4 g STV.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Considerando que o reator recebeu volume aproximado de 1,5 L de cada lodo e que o volume ocupado pelas hastes de espuma foi de 5,5 L, as concentrações, em termos de SV e ST, utilizadas na inoculação foram de 15,4 kg ST.m<sup>-3</sup> e 11,6 kg STV.m<sup>-3</sup>, respectivamente.

Esta mistura foi imobilizada nas estruturas de espuma segundo a metodologia proposta por Zaiat et al. (1994). As estruturas cilíndricas foram dispostas em recipiente plástico, adicionou-se a mistura de lodos de maneira a garantir o contato de todo o meio suporte. Após um período de 2 horas, retirou-se o excesso de lodo das estruturas e elas já foram inseridas no reator.



## 4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Após a inoculação do lodo no meio suporte e a fixação das hastes no reator foi dada a partida no sistema. Nos primeiros 9 dias de operação, o reator foi alimentado com água residuária sintética à base de sacarose (relação C/N de aproximadamente 9) e foi mantido sob aeração contínua, com TDH de 24 horas e razão de recirculação de efluente igual a 5. A vazão de alimentação ( $Q_A$ ) foi de  $0,24 \text{ L.h}^{-1}$ . O objetivo desta fase foi permitir o desenvolvimento da biomassa nitrificante autotrófica, a qual possui uma velocidade de crescimento menor do que a biomassa desnitrificante heterotrófica. Determinou-se o final desta fase no momento em que 50% do N-amoniaco adicionado foi oxidado a nitrato. Ademais, o sistema não exigiu período de adaptação mais longo devido à escolha de misturar lodo aeróbio com característica nitrificante ao lodo anaeróbio, com elevada diversidade microbiana (MOURA, 2011; NOCKO, 2008).

Finalizada a fase de adaptação, o reator passou a ser operado com aeração intermitente e TDH de 12 horas, preservando-se a razão de recirculação de 5. A duração dos períodos aerados e não aerados foi de 2 horas e 1 hora, respectivamente, de acordo com definido por Moura; Damianovic e Foresti (2012) durante operação de reator de leito estruturado tratando esgoto sintético. Desta maneira, procurou-se garantir que a concentração de oxigênio dissolvido no meio permanecesse em torno  $2,0$  a  $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$  nos períodos aerados e próxima a zero nos períodos não aerados, permitindo a ocorrência da NDS. Segundo Moura; Damianovic e Foresti (2012), nessa condição a eficiência de remoção de N-total foi de 82%, com residuais de NTK, N- $\text{NO}_3$  e N- $\text{NO}_2$  de  $3\pm 1$ ,  $1,6\pm 0,7$  e  $0,5\pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. A Figura 5 mostra o fluxograma das condições experimentais avaliadas neste trabalho.

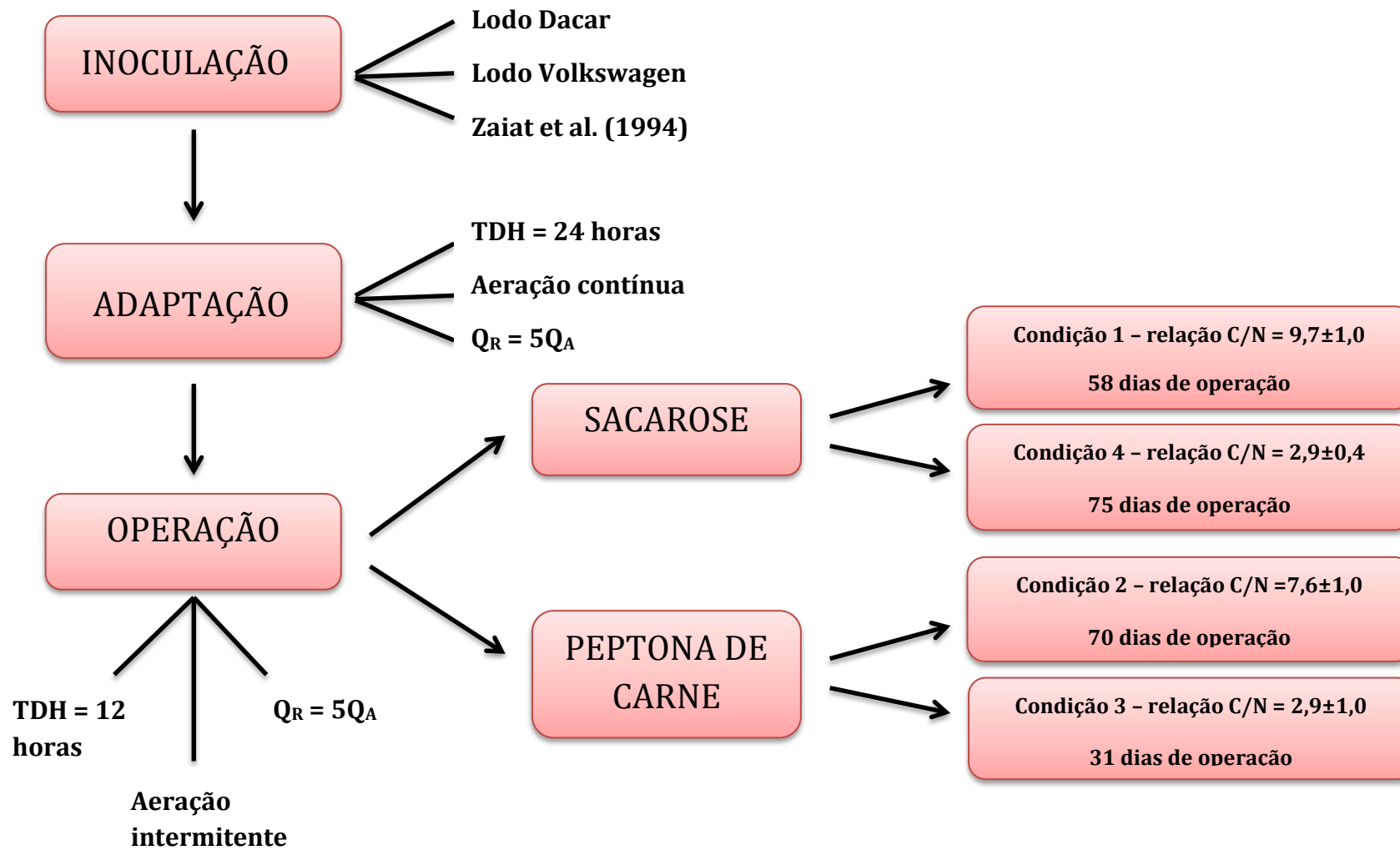


Figura 5 – Fluxograma experimental do trabalho.

Na primeira condição experimental (Condição 1), o reator continuou sendo alimentado com efluente sintético à base de sacarose, seguindo relação C/N de  $9,7 \pm 1,0$ , que é a faixa apontada na literatura como ótima para o estabelecimento de processo NDS eficiente (CHIU et al., 2007; FU et al., 2009; MENG et al., 2008). O reator foi operado nessa condição durante 58 dias.

Após a operação utilizando sacarose como fonte de carbono, foi avaliado o desempenho do reator na remoção de matéria orgânica e nitrogenada de água residuária sintética com alto teor proteico. Nas duas condições experimentais seguintes (Condições 2 e 3), a peptona de carne foi utilizada como fonte de carbono e nitrogênio para os microrganismos. Cloreto de amônio foi adicionado na Condição 3 para avaliar os processos envolvidos sob relação C/N =  $2,9 \pm 1,0$ . Os períodos de duração das Condições 2 e 3 foram de 75 e 70 dias, respectivamente. Como os resultados obtidos sinalizaram alta eficiência na remoção de nitrogênio, na última etapa experimental o sistema voltou a ser operado com água residuária à base de sacarose (Condição 4), só que desta vez com uma baixa relação C/N (C/N =  $2,9 \pm 0,4$ ). A última fase operacional teve duração de 31 dias.

Em cada condição operacional testada foram realizadas coletas de amostras do afluente e do efluente com intuito de determinar as concentrações de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, alcalinidade, DQO e sólidos. A partir desses dados, foi possível avaliar a variação das concentrações desses compostos no meio líquido e calcular a eficiência de remoção de nitrogênio total. Os dados obtidos permitiram verificar a potencialidade desta configuração de reator na remoção concomitante de matéria orgânica e nitrogênio e discutir o estabelecimento de diferentes rotas de metabolismo biológico do nitrogênio, as quais foram identificadas ao longo do período experimental.

O final de cada condição experimental foi determinado a partir do momento que o sistema apresentou certa estabilidade nas concentrações efluentes das variáveis monitoradas. As coletas de amostras para análises de NTK, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, DQO, pH e alcalinidade foram realizadas duas vezes por semana. Já as análises de série de sólidos foram realizadas uma única vez por semana.

Além do monitoramento das variáveis físico-químicas, foram realizados ensaios específicos para determinação de parâmetros cinéticos e avaliação do arranjo microbiano formado no biofilme. Ensaios cinéticos foram realizados com amostras de biomassa das Condições 2 e 3. Na Condição 3 também foi realizado estudo de atividade das bactérias anammox, para investigação dessa rota de remoção de nitrogênio. Amostras de biomassa e do

material em suspensão das Condições 1 e 4 (ambas com sacarose como fonte de carbono) foram retiradas para observação em microscopia óptica. Ao final do período experimental (Condição 4), amostras da biomassa foram submetidas à ensaios com microssensor de OD e microscopia eletrônica de varredura para caracterização do biofilme formado, com respeito à concentração de oxigênio em relação à espessura e ao arranjo dos microrganismos.

### 4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

#### 4.3.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As variáveis que foram analisadas durante o experimento estão representadas na Tabela 10. As amostras efluentes foram previamente filtradas em membrana de fibra de vidro (1,2  $\mu\text{m}$ ).

**Tabela 10 – Análises físico-químicas realizadas na pesquisa.**

Variável/Unidade	Método	Referência
pH	Potenciométrico	APHA (2005)
Alcalinidade (mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	Titulométrico	Dilallo e Albertson (1961) modificado por Ripley et al.(1986)
NTK (mgN.L <sup>-1</sup> )	Kjedahl	APHA (2005)
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mgN.L <sup>-1</sup> )	Cromatografia Iônica	LPB-EESC/USP
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg N.L <sup>-1</sup> )	Cromatografia Iônica	LPB-EESC/USP
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg N.L <sup>-1</sup> )	Cromatografia Iônica	LPB-EESC/USP
ST (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
STF (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
STV (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
SST (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
SSF (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
SSV (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	APHA (2005)
DQO	Colorimétrico	APHA (2005)
Oxigênio Dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	Luminescência	-

O oxigênio dissolvido no meio líquido do reator foi monitorado com sonda de medidor por luminescência Hach, modelo LDO HQ10. As análises de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e N-amoniaco ( $\text{NH}_4^+$ ) foram realizadas em cromatógrafo de íons Dionex (modelo ICS 5000®), equipado com detector de condutividade e duas colunas diferentes (colunas IonPac® AG23 *Anion-Exchange Column* e IonPac® CG12A *Cation-Exchange Column*), operando à

temperatura de 30°C. O fluxo adotado foi de 1,0 mL.min<sup>-1</sup> e a fase móvel para determinação dos ânions foi solução de carbonato de cálcio e bicarbonato de cálcio (4,5 e 0,8 mM, respectivamente). Para determinação do N-amoniaco utilizou-se como fase móvel solução de ácido sulfúrico concentrado (40 mM). Vale ressaltar que durante a Condição 1, a análise de N-amoniaco foi realizada pelo método de Análise por Injeção de Fluxo (FIA) e só depois passou a ser determinada por cromatografia iônica.

#### 4.3.2 ENSAIOS CINÉTICOS

Para a melhor condição operacional do sistema, foram realizados ensaios cinéticos com a biomassa presente no reator. Dessa maneira, foi possível a obtenção das velocidades aparentes de nitrificação e desnitrificação para as Condições 2 e 3. Além disso, a partir da Condição 3, foi acrescentado o ensaio de atividade anammox, com o objetivo de determinar a velocidade aparente desta via metabólica e sua participação na remoção total de nitrogênio.

A modelagem cinética adotada foi baseada na remoção de nitrogênio a partir de N-amoniaco (Nitrificação via N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), N-nitrito (Nitrificação via N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), N-nitrato (Desnitrificação Heterotrófica) e N-amoniaco/N-nitrito (via Anammox – sem adição de fonte externa de carbono). Tal remoção foi avaliada por meio de perfis temporais de concentração de substrato no meio líquido ao longo do tempo, os quais foram medidos experimentalmente.

Nos ensaios cinéticos de nitrificação e desnitrificação e de atividade anammox verificou-se o comportamento de cinética de ordem zero, tanto para nitrificação quanto para desnitrificação, conforme equação 9.

$$C = C_0 - k'_0 \cdot (t - t_0) \quad (\text{Eq. 9})$$

Em que:

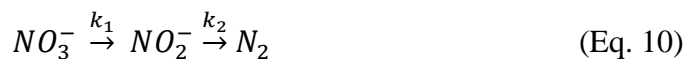
$C$  = massa do composto nitrogenado por unidade de massa de SSV no tempo  $t$  [mgN. L<sup>-1</sup>. gSSV<sup>-1</sup>];

$C_0$  = massa do composto nitrogenado por unidade de massa de SSV no tempo inicial  $t_0$  [mgN. L<sup>-1</sup>. gSSV<sup>-1</sup>];

$k'_0$  = constante cinética específica do modelo de ordem zero [mgN. gSSV<sup>-1</sup>. h<sup>-1</sup>];

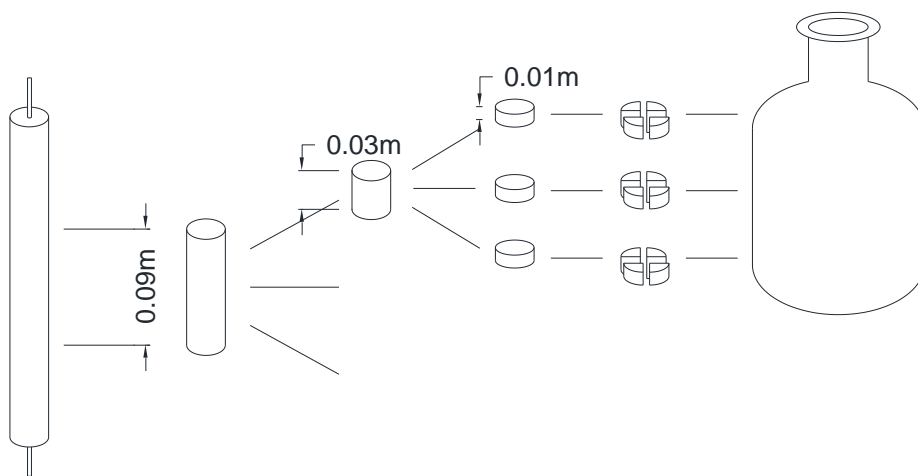
$t$  = tempo [horas].

No ensaio cinético de desnitrificação observou-se comportamento de cinética de série, com a formação de  $N\text{-NO}_2^-$  como produto intermediário, conforme equação 10.



Dessa maneira, as velocidades específicas de consumo de N-nitrato ( $k_1$ ) e N-nitrito ( $k_2$ ) foram obtidas. Ambas apresentaram comportamento de reações de ordem zero.

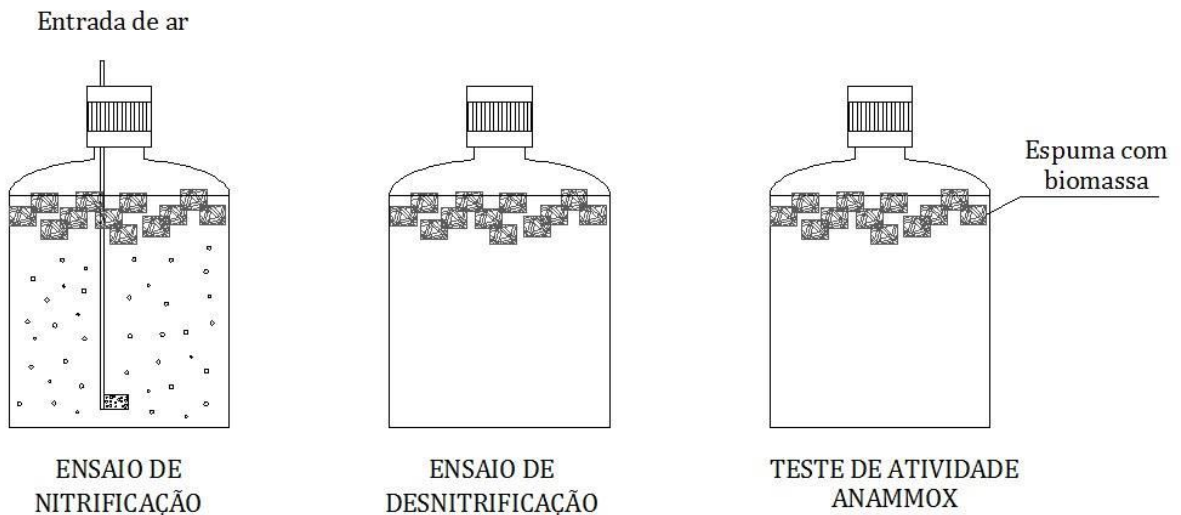
Para a realização dos ensaios foram utilizados reatores em batelada, baseando-se na metodologia utilizada por Moura (2011). O procedimento adotado para coleta de amostras de espuma de poliuretano para todos os ensaios cinéticos realizados nesse trabalho está exemplificado na Figura 6. As porções de espuma foram retiradas do reator de maneira aleatória, com intuito de justificar a ausência de estratificação microbiana no reator. Em cada frasco Duran, adicionou-se 3 cm de espuma, cortadas em 3 cilindros de 1 cm. Cada cilindro foi dividido em 4 partes aproximadamente iguais..



**Figura 6 – Esquema de corte da espuma para ensaios em batelada.**

A Figura 7 mostra uma representação dos reatores utilizados nos ensaios cinéticos realizados. Em todos os ensaios foram utilizados frascos Duran com volume de 250 mL. Deste volume, apenas 200 mL foram completados com meio sintético. Vale ressaltar que foi realizado o preparo prévio das soluções envolvidas em cada ensaio. Desta maneira, os ensaios já puderam ser iniciados logo após a coleta das amostras de espuma, preservando assim, a biomassa presente.

No caso do ensaio de nitrificação, o frasco foi mantido aberto e sob aeração contínua. Já os frascos utilizados nos ensaios de desnitrificação e de atividade anammox foram vedados com septo de borracha e submetidos à fluxo de gás  $N_2$ , com intuito de manter o ambiente anóxico.



**Figura 7 – Esquema dos reatores em batelada utilizados nos ensaios cinéticos.**

Durante a execução dos ensaios de nitrificação e de atividade anammox foram monitoradas as concentrações de N-amoniaco, N-nitrito e N-nitrato. No ensaio de desnitrificação, somente as concentrações de N-nitrito e N-nitrato é que foram monitoradas.

Ao término de cada ensaio, foram determinadas as concentrações de SST, SSV e SSF de cada reator em batelada. Nesse processo, as espumas utilizadas no ensaio foram transferidas para tubo Falcon de 50 mL com água destilada e a biomassa foi retirada da espuma com auxílio de bastão de vidro. O volume de enxágue foi centrifugado a 10000 rpm por 5 minutos, sendo o precipitado colocado em cápsula previamente calcinada para secagem em estufa à 100°C e depois em mufla à 500°C. Por meio de cálculos entre as diferenças da massa da cápsula em cada etapa, as concentrações de SST, SSV e SSF foram determinadas.

#### 4.3.2.1 NITRIFICAÇÃO VIA N-AMONIACAL E N-NITRITO

Para os ensaios de nitrificação via N-amoniaco e nitrificação via N-nitrito prepararam-se meios contendo concentrações específicas de N-NH<sub>4</sub> e N-NO<sub>2</sub>. Cloreto de amônio e nitrito de sódio foram utilizados como fontes de nitrogênio em cada ensaio. A fim de possibilitar o metabolismo dos microrganismos de interesse, o meio contou com a adição de 0,2 mL de solução de micronutrientes; 0,5 mL de solução de macronutrientes e 0,45 mL de solução de

vitaminas. Essas soluções são as mesmas que foram adicionadas à água residuária sintética utilizada como alimentação do reator durante todo período experimental (Tabelas 6, 7 e 8). Também foi adicionado bicarbonato de sódio para que não houvesse limitação de fonte de carbono para os microrganismos nitrificantes, obtendo uma concentração de  $1 \text{ g.L}^{-1}$ .

Após o preparo dos meios, as espumas contendo biomassa foram adicionadas aos reatores em batelada, seguindo procedimento apresentado na Figura 6. Aeradores de aquário conectados às pedras porosas foram utilizados para fornecer oxigênio em excesso aos sistemas em batelada. Os reatores foram dispostos em *shaker* e armazenados em câmara climatizada. A agitação foi de 120 rpm, com temperatura constante de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Os ensaios cinéticos de nitrificação via N-amoniacal e via N-nitrito foram realizados com amostras de espuma retiradas nas Condições 2 e 3. As concentrações iniciais dos compostos nitrogenados em cada um desses ensaios são apresentadas na Tabela 11. Nas quatro horas iniciais do ensaio, as coletas foram realizadas de 30 em 30 minutos. Após esse período as coletas foram feitas a cada uma hora, até a completa oxidação dos compostos nitrogenados.

**Tabela 11 – Concentrações de N-amoniacal e N-nitrito nos ensaios cinéticos de nitrificação.**

Ensaio cinético	Condição 2	Condição 3
Nitrificação via N-amoniacal	-	$20 \text{ mg.L}^{-1}$ de N na forma de N-amoniacal
Nitrificação via N-nitrito	$25 \text{ mg.L}^{-1}$ de N na forma de N-nitrito	$20 \text{ mg.L}^{-1}$ de N na forma de N-nitrito

Durante a Condição 2, ocorreram problemas na quantificação das concentrações mais elevadas de  $\text{N-NH}_4^+$  por cromatografia iônica. Logo, os dados do perfil de nitrificação via N-amoniacal obtidos no ensaio cinético não puderam ser manipulados, restando somente o perfil obtido com biomassa retirada da Condição 3.

#### 4.3.2.2 DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA

O ensaio cinético de desnitrificação via N-nitrato foi realizado com amostras de meio suporte das Condições 2 e 3. Porém, houve problemas na coleta das amostras (contaminação das seringas coletoras) do ensaio de desnitrificação da Condição 3, por isso tais dados não serão apresentados e discutidos no item 5.11.2.



A fonte de nitrogênio utilizada foi o nitrato de sódio, com concentração inicial de  $30 \text{ mg.L}^{-1}$  de nitrogênio na forma de N-nitrato em ambos os ensaios. Assim como nos ensaios de nitrificação, foram adicionadas soluções de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas e bicarbonato de sódio ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ).

Também foi adicionado ao meio acetato de sódio ( $1,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) como doador de elétrons para a desnitrificação heterotrófica. As porções de espuma foram introduzidas em frascos Duran, conforme indicado na Figura 6. Para manter as condições anóxicas, antes de iniciar os testes, os reatores em batelada foram submetidos à fluxo de nitrogênio, por 10 minutos.

Com o meio já fluxionado, o reator em batelada foi tampado e colocado em *shaker* móvel dentro de câmara climatizada. A agitação desse ensaio também foi de 120 rpm, com temperatura constante de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ .

As amostras para determinação de N-nitrito e N-nitrato foram coletadas regularmente durante o período de realização do ensaio. As coletas foram realizadas de 30 em 30 minutos, até que todo o N-nitrato adicionado fosse reduzido a  $\text{N}_2$ . O ensaio foi encerrado quando não havia mais nitrogênio na forma oxidada no meio. Com o término dos ensaios, as concentrações de SST, SSV e SSF também foram determinadas, seguindo a metodologia explicada no item anterior.

#### **4.3.2.3 ESTUDO DA ATIVIDADE ANAMMOX**

Nesse ensaio, adotou-se meio de cultura específico para a biomassa anammox, contendo nitrito e N-amoniaco, adaptado de Van de Graaf et al. (1996). A concentração dessa solução nutriente foi ajustada de maneira a garantir concentração inicial de  $30 \text{ mg.L}^{-1}$  de N-amoniaco,  $30 \text{ mg.L}^{-1}$  de N-nitrito e  $40 \text{ mg.L}^{-1}$  de N-nitrato. Para este meio também foi adicionado 1 mL da solução-traço I e 1 mL da solução-traço II, ambas adaptadas de Van de Graaf et al. (1996). A composição do meio e das soluções-traço está indicada nas Tabelas 12, 13 e 14.

**Tabela 12 - Composição do meio sintético específico para ensaio de atividade anammox.**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidades – q.s.p. 1000 mL de água</b>
NH <sub>4</sub> Cl	191 mg
NaNO <sub>2</sub>	246mg
NaNO <sub>3</sub>	303,5mg
NaHCO <sub>3</sub>	1000 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27,2mg
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	300mg
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	180mg
Solução traço I	1mL
Solução traço II	1 mL

Fonte: Adaptado de VAN DE GRAAF et al. (1996)

**Tabela 13 - Composição da Solução Traço I.**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidades – q.s.p. 1000 mL de água</b>
EDTA	5g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	9,17g

Fonte: Adaptado de VAN DE GRAAF et al. (1996)

**Tabela 14 - Composição da Solução Traço de metais II.**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidades – q.s.p. 1000 mL de água</b>
EDTA	15g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,45g
CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,25g
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	1,0g
CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,25g
NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,22g
NiCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,2g
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,09g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,02g
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0,025g

Fonte: Adaptado de VAN DE GRAAF et al. (1996).

Os ensaios foram realizados em triplicata. Com intuito de avaliar a influência da agitação na velocidade de degradação anammox, três reatores foram submetidos à agitação (120 rpm e temperatura de 30±1°C) e os demais permaneceram em repouso (temperatura de 30±1°C). Para manter as condições anóxicas, antes de iniciar os testes, os reatores em batelada foram submetidos à fluxo de argônio, por 10 minutos. Amostras para as análises de N-nitrito, N-nitrato e N-amoniaco foram retiradas a cada hora, por um período total de 8 horas.

### **4.3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**

Além das análises de parâmetros operacionais e cinéticos do reator, foram realizados ensaios de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de amostras de biofilme retiradas do reator.

#### 4.3.3.1 EXAMES MICROSCÓPICOS

Amostras de biofilme das Condições 1 e 4 foram submetidas à microscopia óptica de contraste de fase. Tal análise teve como objetivo avaliar as diversas morfologias microbianas presentes na espuma obtida em condições opostas de operação (relação C/N alta e baixa). Também foi realizado exame microscópico do material em suspensão formado, a fim de verificar a existência de microrganismos nesse material e sua resposta às mudanças nas condições operacionais.

Em tais análises foi utilizado microscópio Olympus BX60, acoplado à câmera com captura de imagem Evolution QE e software Image-Pro Plus 4.5. Uma gota de amostra foi colocada em fina camada de Ágar 2% solidificado, disposto entre lâmina e lamínula, para diminuir o movimento das células de cada amostra.

#### 4.3.3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras, antes da observação no microscópio eletrônico de varredura, foram submetidas a tratamento prévio. Tal tratamento foi composto pelas seguintes etapas: fixação, desidratação e secagem. Este procedimento foi baseado no trabalho desenvolvido por Araújo (1995).

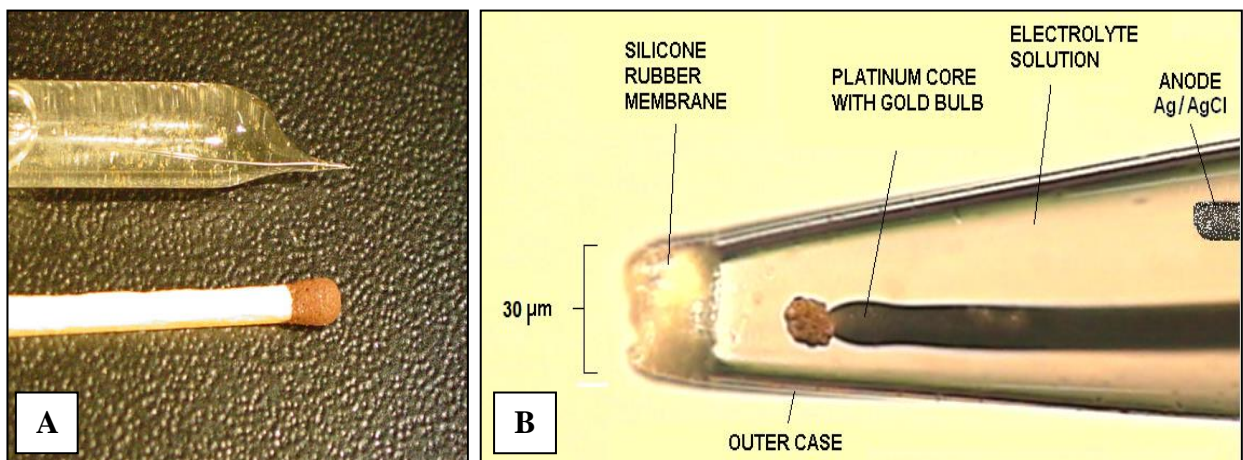
Coletaram-se amostras de biofilme e do material em suspensão no final do período total de operação do reator, com o intuito de observar as características do biofilme formado. Primeiramente, as amostras foram colocadas em frascos Falcon e mergulhadas em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M (pH = 7,3) por um período de 12 horas e sob temperatura de 4°C. Em seguida, as amostras foram submetidas a três lavagens com tampão fosfato (0,1M e pH 7,8), sendo que cada uma destas lavagens teve duração de 10 minutos. No intervalo entre as lavagens as amostras foram agitadas, com o objetivo de garantir a homogeneização. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em soluções de etanol de diversas concentrações (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%); permanecendo em cada uma delas por 10 minutos. A desidratação em etanol 100% foi mantida durante cerca de 1 hora.

Após a desidratação, as amostras foram fixadas com hexametildisilazano (HMDS), durante 30 segundos. Em seguida, as amostras foram colocadas em estufa (temperatura de 60°C) para a secagem completa do material. Cada uma das amostras foi fixada em suportes de alumínio, com o auxílio de esmalte incolor para unhas e, encaminhadas ao processo de cobertura com ouro. Utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM 960.

#### 4.3.4 ENSAIOS COM MICROSENSOR DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO

A fim de avaliar o perfil da concentração de oxigênio dissolvido no biofilme presente no reator ao final do período experimental, realizou-se ensaio com microsensor. Após a retirada do reator, a amostra de espuma foi armazenada em béquer e imersa ao efluente previamente tratado, que circulava no reator. Além disso, a solução líquida foi submetida à aeração contínua, de maneira que a concentração de OD no meio líquido atingisse a saturação. Em seguida, a amostra foi transportada para o Laboratório de Microsensores do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos (SHS/EESC/USP). A análise com o microsensor de OD foi realizada com o auxílio do especialista em microeletrônica Antonio Wagner Lamon.

A Figura 8 mostra o microsensor utilizado (A) e traz algumas especificações de sua composição (B). A ponta da sonda possui um diâmetro de  $30,0\ \mu\text{m}$  e é dotada de membrana que registra sinais de corrente proporcionais à pressão parcial de oxigênio (JANZEN, SCHULZ e LAMON, 2008). Por se tratar de uma célula amperométrica, a polarização do microeletrodo foi feita catodicamente para aproximadamente  $-0,8\ \text{V}$ , por meio de picoamperímetro HP® 4140B com fonte DC acoplada para a realização das medições.

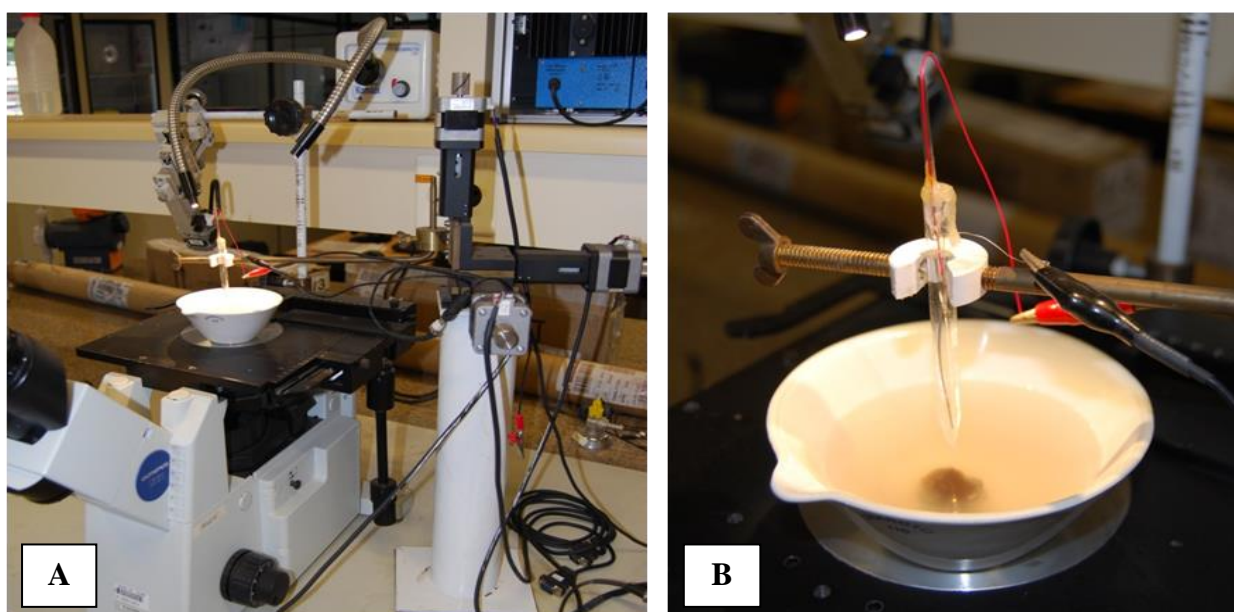


**Figura 8 – Foto do microsensor de OD (A); foto microscópica da ponta de microsensor de OD (B). Adaptado de Janzen, Schulz e Lamon (2008).**

A microsonda foi calibrada a partir de dois pontos: ponto de saturação e ponto de concentração nula. O primeiro ponto foi obtido pela imersão do microsensor em frasco contendo 200 mL de água saturada por oxigênio. A partir da introdução de sulfito de sódio no frasco (retirada de oxigênio da água), pode-se determinar o ponto de concentração nula. Para obtenção do perfil de estratificação do oxigênio dissolvido no biofilme, o microsensor de OD foi posicionado em suporte fixo a servo-motor. Com o auxílio de micromanipulador e

microscópio invertido, o microsensor foi disposto exatamente sobre o biofilme. Durante a análise, a temperatura foi mantida em 25°C. A sonda realizou as medidas seguindo deslocamentos verticais de 10 µm. Computador foi utilizado para o armazenamento de dados.

Para obter o perfil de oxigênio dissolvido no biofilme, as medições foram realizadas no sentido radial da haste cilíndrica (aproximadamente 1,5 cm de raio). Assim, as medições da se iniciaram na zona mais externa e terminaram no miolo da haste. A análise dos pontos experimentais de concentração de OD foi realizada pelo software *Matlab*® 7.14. A Figura 9 retrata o sistema servomotor (A) e o sensor de OD preparado para realizar as medições no biofilme (B).



**Figura 9 – Conjunto de equipamentos necessários para a operação dos microssores (A); microsensor preparado para realizar medições de OD no biofilme (B).**

#### 4.4 CÁLCULOS

De acordo com os resultados obtidos nas análises físico-químicas previamente descritas, os seguintes cálculos foram efetuados para a adequada interpretação dos resultados.

Para o cálculo das eficiências de oxidação de N-amoniacal e de remoção de N-total foram utilizadas as equações 11 e 12. A eficiência de oxidação de N-amoniacal foi calculada comparando-se as concentrações de NTK afluentes e efluentes. A concentração de N-total foi obtida pela soma das concentrações de nitrogênio nas formas de NTK,  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N-NO}_3^-$ .

$$E_{f.Ox.N - amoniacal} = \frac{[NTK]_{AF} - [NTK]_{EF}}{[NTK]_{AF}} \times 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

Em que:

Ef. Ox. N-amoniacaal = Eficiência de oxidação de N-amoniacaal [%];

$[NTK]_{AF}$  = Concentração afluenta de NTK  $[\text{mg.L}^{-1}]$ ;

$[NTK]_{EF}$  = Concentração efluente de NTK  $[\text{mg.L}^{-1}]$ .

*Ef. Rem. N*

$$= \frac{([NTK] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{AF} - ([NTK] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{EF}}{([NTK] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{AF}} \times 100 \quad (\text{Eq. 12})$$

Em que:

Ef. Rem. N = Eficiência de remoção de nitrogênio total;

$([NTK] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{AF}$  = Soma das concentrações de NTK, N- $NO_2^-$  e N- $NO_3^-$  afluenta  $[\text{mg.L}^{-1}]$ ;

$([NTK] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{EF}$  = Soma das concentrações de NTK, N- $NO_2^-$  e N- $NO_3^-$  efluente  $[\text{mg.L}^{-1}]$ .

A eficiência de desnitrificação também foi determinada, conforme mostrado na equação 13.

$$E_{DES\text{NITRIFICAÇÃO}} = \left( 1 - \frac{([N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{EF}}{([NTK]_{AF} \times E_{OX.N-AMONIACAL})} \right) \quad (\text{Eq. 13})$$

Em que:

$([N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{EF}$  = Soma das concentrações efluentes de N- $NO_2^-$  e N- $NO_3^-$   $[\text{mg.L}^{-1}]$ ;

Como foram testadas diferentes relações C/N, a simples comparação entre eficiências de remoção em cada condição pode não representar adequadamente em qual situação os bioprocessos foram mais eficazes. Desta maneira, tal comparação foi realizada a partir de cálculos de cargas aplicadas (equação 14) e cargas removidas (equações 15 e 16), segundo as equações abaixo:

$$CN_{APLICADA} = \frac{[NTK]_{AF} \times Q_A}{V_{\acute{U}TIL}} \quad (\text{Eq. 14})$$

$$CN_{NTK \text{ oxidado}} = \frac{([NTK]_{AF} - [NTK]_{EF}) \times Q_A}{V_{\acute{U}TIL}} \quad (\text{Eq. 15})$$

$$CN_{removido} = CN_{NTK \text{ oxidado}} \times E_{\text{DESнитRIFICAÇÃO}} \quad (\text{Eq. 16})$$

Em que:

$CN_{APLICADA}$  = Carga nitrogenada aplicada [ $\text{kgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ ];

$CN_{NTK \text{ oxidado}}$  = Carga de NTK que foi oxidado [ $\text{kgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ ];

$CN_{removido}$  = Carga de N-total que foi convertida a  $\text{N}_2$  [ $\text{kgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ ];

$Q_A$  = Vazão de alimentação [ $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ];

$[NTK]_{AF}$  = Concentração afluente de NTK [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ];

$[NTK]_{EF}$  = Concentração efluente de NTK [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ];

$V_{\acute{U}TIL}$  = Volume útil do reator [L].



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos ao longo de todo o período experimental do sistema em questão. O experimento foi dividido nas seguintes condições operacionais (dispostas em ordem cronológica): fase de adaptação, Condição 1, Condição 2, Condição 3 e Condição 4. As características de cada uma das condições estudadas e os resultados analíticos serão apresentados nos itens subsequentes.

O monitoramento do TDH ao longo do período operacional foi realizado durante a coleta das amostras afluentes e o controle da vazão foi feito por ajustes na rotação da bomba de alimentação. Assim, a vazão e TDH médios para cada uma das condições experimentais estão listados na Tabela 15.

**Tabela 15 – Vazão e TDH médios em cada uma das condições experimentais.**

<b>Condição Experimental</b>	<b>Relação C/N</b>	<b>Duração (dias)</b>	<b>Vazão (L.h<sup>-1</sup>)</b>	<b>TDH (h)</b>
1	9,7±1,0	58	0,49 ± 0,03	11,3 ± 0,7
2	7,6±1,0	75	0,49 ± 0,03	11,2 ± 0,7
3	2,9±1,0	70	0,50 ± 0,02	11,0 ± 0,7
4	2,9±0,4	31	0,50 ± 0,02	11,0 ± 0,5

Pode ser observado que o TDH obtido em cada condição operacional de maneira geral, manteve-se semelhante ao TDH idealizado. Entretanto, na fase de adaptação o TDH manteve-se abaixo do esperado, devido a problemas de ajustes da bomba de alimentação. Outro ponto que pode ser observado é a baixa variação (desvios-padrão) da vazão de alimentação durante a operação, indicando que não houve momentos de sobrecarga não intencional de matéria orgânica ou nitrogenada no sistema.

A concentração de matéria orgânica (em termos de DQO) foi mantida constante ao longo de todo o experimento, sendo que a relação C/N de cada condição foi obtida por meio da variação da concentração de nitrogênio (em termos de NTK). Como já mencionado no item 4.1.2, sacarose e peptona de carne foram utilizadas como fonte de carbono no substrato sintético. A Tabela 16 traz uma caracterização geral do meio afluente adotado em cada condição experimental.

**Tabela 16 - Relação C/N e cargas aplicadas em cada uma das condições experimentais.**

	Condição 1	Condição 2	Condição 3	Condição 4
Carga carbonácea aplicada (kg DQO.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	1,03	1,04	1,07	1,15
Carga nitrogenada aplicada (kg N.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0,109	0,134	0,380	0,412
Relação C/N média	9,7±1	7,6±1	2,9±1	2,9±0,4

Amostras de biomassa das condições 2 e 3 foram utilizadas para determinar as velocidades de nitrificação e desnitrificação do reator, conforme discutido no item 4.2.2. Tais condições foram escolhidas devido a estabilidade operacional alcançada e também, no caso da Condição 3, para estudo de atividade anammox, visando explicar a completa conversão de NTK a N<sub>2</sub> além do potencial da desnitrificação heterotrófica. As amostras de biomassa das Condições 2, 3 e 4 foram submetidas à ensaios microscópicos específicos para identificação de espécies microbianas participantes dos processos de nitrificação, desnitrificação, oxidação de matéria orgânica e anammox (via microscopia óptica e MEV).

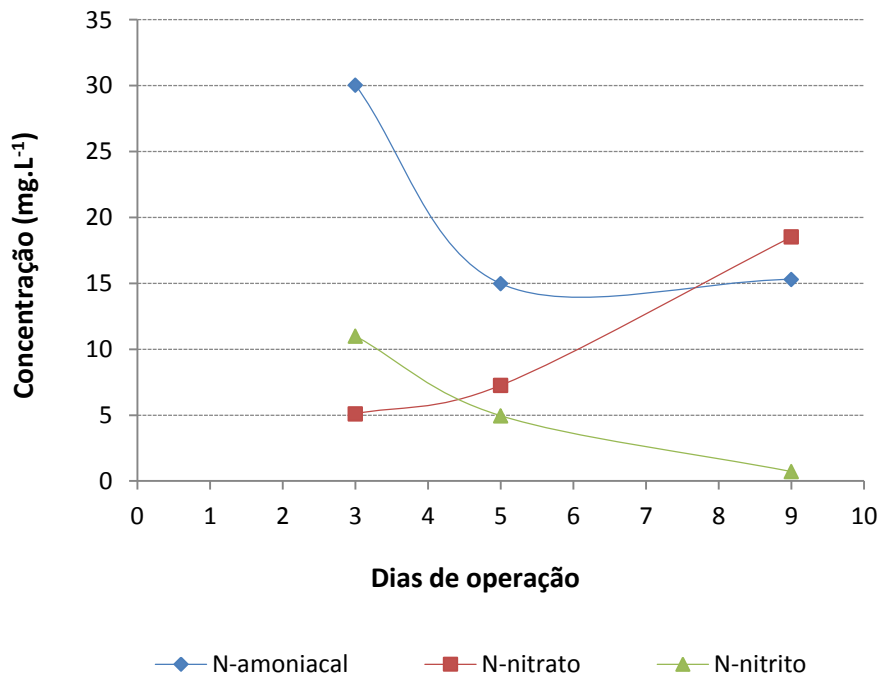
## 5.1 FASE DE ADAPTAÇÃO

A fase de adaptação da biomassa no reator teve duração de 9 dias. Nesse período o TDH médio foi de 22,5 ± 0,9 horas e o sistema foi submetido à aeração contínua. Tais condições foram adotadas para promover o desenvolvimento dos microrganismos nitrificantes.

No trabalho de Moura (2011), foram necessários 35 dias de operação com aeração contínua e TDH de 24 horas para estabelecer condições favoráveis ao desenvolvimento da biomassa nitrificante. Nesse trabalho, a etapa de adaptação teve importância fundamental, uma vez que o lodo utilizado na inoculação do reator possuía características essencialmente anaeróbias.

Com o intuito de acelerar o *start up* do sistema de tratamento discutido no presente trabalho, optou-se pela adição de lodo aeróbio com caráter nitrificante ao lodo anaeróbio utilizado como inóculo por Moura (2011). Com essa garantia da presença de microrganismos nitrificantes, o final da fase de adaptação foi antecipado para o momento no qual 50% do N-

amoniaco adicionado fosse oxidado a nitrato. A Figura 10 ilustra as variações das concentrações efluentes de N-amoniaco, N-nitrito e N-nitrato nesse período.



**Figura 10 – Variação das concentrações efluentes de N-amoniaco, N-nitrito e N-nitrato durante fase de adaptação.**

No terceiro dia de operação já foi possível coletar amostra efluente do reator, uma vez que não foi observado excesso de biomassa no líquido de saída. Como pode ser observado pela Figura 10, no terceiro ponto de análise houve aumento da concentração de N-nitrato acompanhado pelo decaimento na concentração de N-nitrito. Esse aumento foi acompanhado pelo decréscimo (superior a 50%) na concentração de N-amoniaco e pela queda da concentração de N-nitrito até zero. Tal fato justificou a mudança para operação com aeração intermitente e redução do TDH.

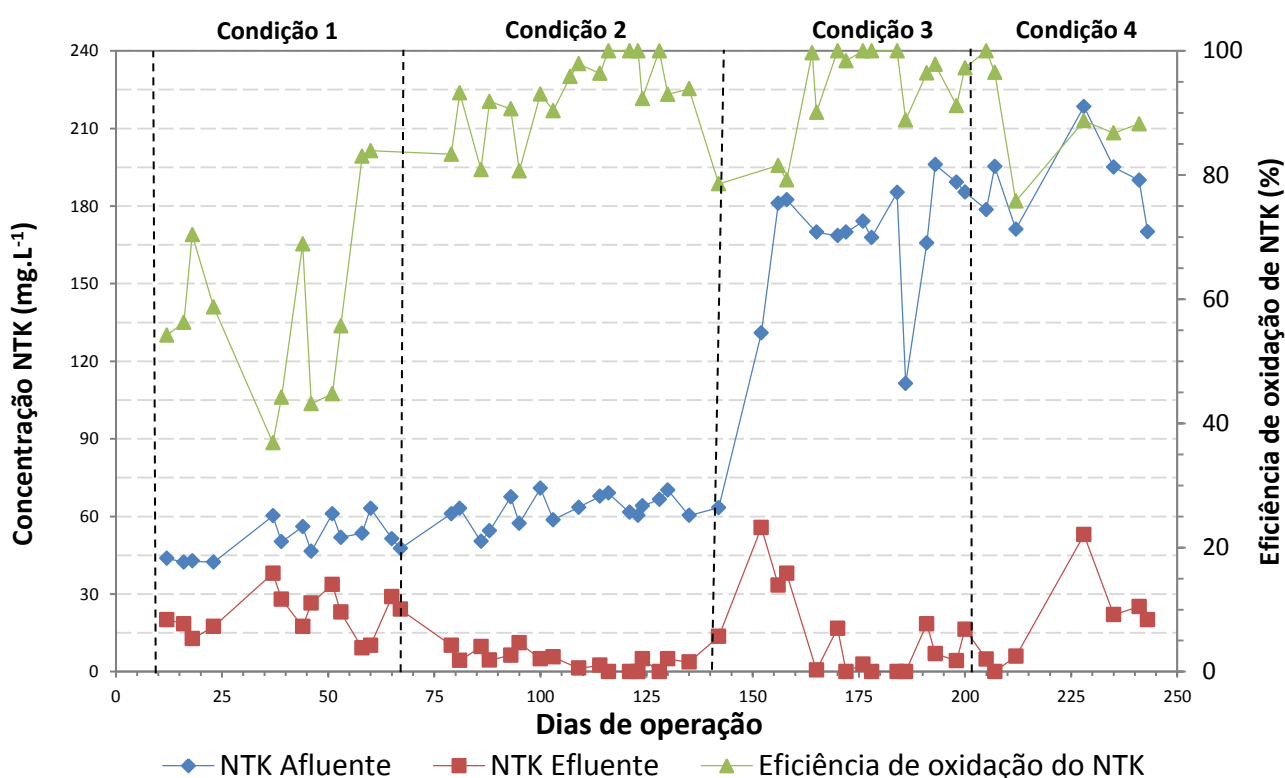
## **5.2 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO: COMPORTAMENTO AFLUENTE, EFLUENTE E EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO NAS CONDIÇÕES ESTUDADAS**

Após a fase de adaptação, o reator passou a ser operado com TDH de  $11,3 \pm 0,7$  horas e aeração intermitente. A partir desse ponto, o regime de aeração foi fixado em 2 horas, seguido

por período sem aeração de 1 hora. Além disso, manteve-se vazão de recirculação de efluente 5 vezes maior do que a vazão de alimentação.

A relação C/N adotada na Condição 1 foi de  $9,7 \pm 1$ . Tal valor é apontado na literatura como a faixa ideal para o estabelecimento de processo NDS eficiente (CHIU et al., 2007; FU et al., 2010, 2009; MENG et al., 2008). As cargas carbonácea e nitrogenada afluentes médias foram de  $1,03 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$  e  $0,109 \text{ kgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ , respectivamente.

A Figura 11 retrata a variação da concentração de NTK nas amostras afluente, efluente e a eficiência de oxidação de NTK ao longo de todo o período experimental.



**Figura 11 – Variação da concentração de NTK nas amostras afluente, efluente e a eficiência de oxidação de NTK ao longo de todo o período experimental.**

No início da Condição 1 (a partir do 25º dia de operação) foi constatada queda na oxidação de NTK, passando de uma eficiência de cerca de 70% para 37%. No ponto de eficiência mínima, as concentrações efluentes de NTK e  $\text{N-NH}_4^+$  chegaram a 39 e 33  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente. Foi verificado que a concentração de OD no interior do reator não se mantinha na faixa desejada para o período aerado ( $2,0$  a  $3,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Com isso, formulou-se a hipótese de dificuldades na difusão de ar no interior do reator. Uma explicação para tal fato seriam problemas na transferência de oxigênio, possivelmente pela presença de quantidade significativa de material biológico em suspensão, como pode ser visualizado na Figura 12.



**Figura 12 – Material biológico em suspensão presente no interior do reator.**

A partir dessa constatação, foi adotado procedimento de limpezas e substituições constantes da pedra porosa utilizada para a difusão de oxigênio e também o descarte do material em suspensão. O reator contava com uma haste metálica para difusão de OD a partir da pedra porosa. Assim, a limpeza desse dispositivo era feita a partir da retirada desta haste, disposta na zona central do reator. A Figura 12 mostra uma das etapas do procedimento de limpeza quando o meio líquido foi drenado. O procedimento de descarte adotado consistiu da seguinte sequência de etapas: (i) interrupção da aeração por 1 hora; (ii) descarte de metade do volume útil do reator; (iii) repouso de 1 hora para separação do material suspenso

sedimentável e (iv) devolução do sobrenadante ao reator. A cada descarte de material em suspensão, as concentrações de ST, STF e STV foram determinadas.

O primeiro descarte ocorreu no 29º dia de operação. Os demais descartes foram definidos a partir do monitoramento da concentração de OD e da quantidade excessiva de biomassa em suspensão. A concentração de sólidos e os períodos entre os descartes estão apresentados na Tabela 27. A partir desses dados foi possível estimar o valor médio do tempo de retenção celular no sistema ( $\theta_C$ ), que foi de 4 dias. Além disso, amostras desse material em suspensão foram observadas em microscopia óptica e os resultados obtidos serão apresentados nas Figuras 29, 30 e 31 do item 5.9.1.

Após o primeiro descarte do material em suspensão e o melhor controle da concentração de OD, o sistema recuperou rapidamente sua eficiência, atingindo eficiência máxima de nitrificação da Condição 1 no 60º dia de operação (83%); resultando em concentrações efluentes de NTK e  $\text{N-NH}_4^+$  de 9,1 e 4,1  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente. Tal fato está diretamente refletido na melhora da remoção de N-total ao final da Condição 1, como pode ser observado na Figura 16.

A Tabela 17 mostra os valores médios das concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato e N-total para essa condição. A eficiência média de remoção de N-total também é apresentada.

**Tabela 17 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 1.**

Variáveis	Afluente		Efluente	
	Média ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Desvio-padrão
NTK	51,3	6,8	21,2	9,0
$\text{N-NH}_4^+$	43,4	5,7	17,7	8,6
$\text{N-NO}_2^-$	0,4	0,3	0,8	0,7
$\text{N-NO}_3^-$	0,2	0,3	1,0	1,6
N-total	51,5	7,0	24,0	8,6
<b>Eficiência média de remoção de N-total</b>			53,3±12,9%	

Como pode ser observado na Tabela 17, as concentrações efluentes de N-nitrito e N-nitrato não foram significativas. Isto está de acordo com estudos que mostram o estabelecimento de processo NDS eficiente ocorre quando não é observado o acúmulo de compostos nitrogenados intermediários (CHIU et al., 2007; VON MÜNCH; LANT;

KELLER, 1996; ZENG et al., 2003). Porém, como a concentração de oxigênio dissolvido não foi mantida em níveis adequados durante toda a fase, a eficiência de oxidação de NTK foi comprometida, acarretando na reduzida eficiência média de remoção de N-total ( $53,3\pm 12,9\%$ ). É por isso que boa parte da parcela de N-total efluente ( $24\pm 8,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ) manteve-se na forma de NTK.

Na Condição 2, a peptona de carne passou a ser utilizada como fonte de carbono e nitrogênio ao metabolismo microbiano. A relação C/N adotada foi de  $7,6\pm 1$ , com cargas carbonácea e nitrogenada afluentes de  $1,04 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$  e  $0,134 \text{ kgN.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ , respectivamente.

A partir do melhor controle da concentração de OD e do descarte do excesso de biomassa em suspensão, as eficiências de nitrificação e de remoção de N-total aumentaram significativamente, como pode ser observado nas Figuras 11 e 16. A Tabela 18 mostra a eficiência média de remoção de N-total e os valores médios das concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato e N-total para essa condição.

**Tabela 18 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 2.**

Variáveis	Afluente		Efluente	
	Média ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Desvio-padrão
NTK	62,7	5,3	4,7	4,0
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ND	ND	1,7	2,0
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	1,1	1,1
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	13,4	11,9
N-total	62,7	5,5	17,7	7,4
<b>Eficiência média de remoção de N-total</b>			<b>71,8±12,5%</b>	

ND = dados não disponíveis.

A eficiência média de remoção de N-total na Condição 2 foi de  $71,8\pm 12,5\%$ . As Figuras 13, 14 e 15 retratam o comportamento das concentrações afluentes e efluentes de N-nitrito, N-nitrato e N-amoniaco nas condições operacionais estudadas neste trabalho. Durante a Condição 2, ocorreram problemas na quantificação das concentrações mais elevadas de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por cromatografia iônica. Logo, os dados da concentração afluente desse composto nessa condição não foram adicionados ao gráfico apresentado na Figura 15.

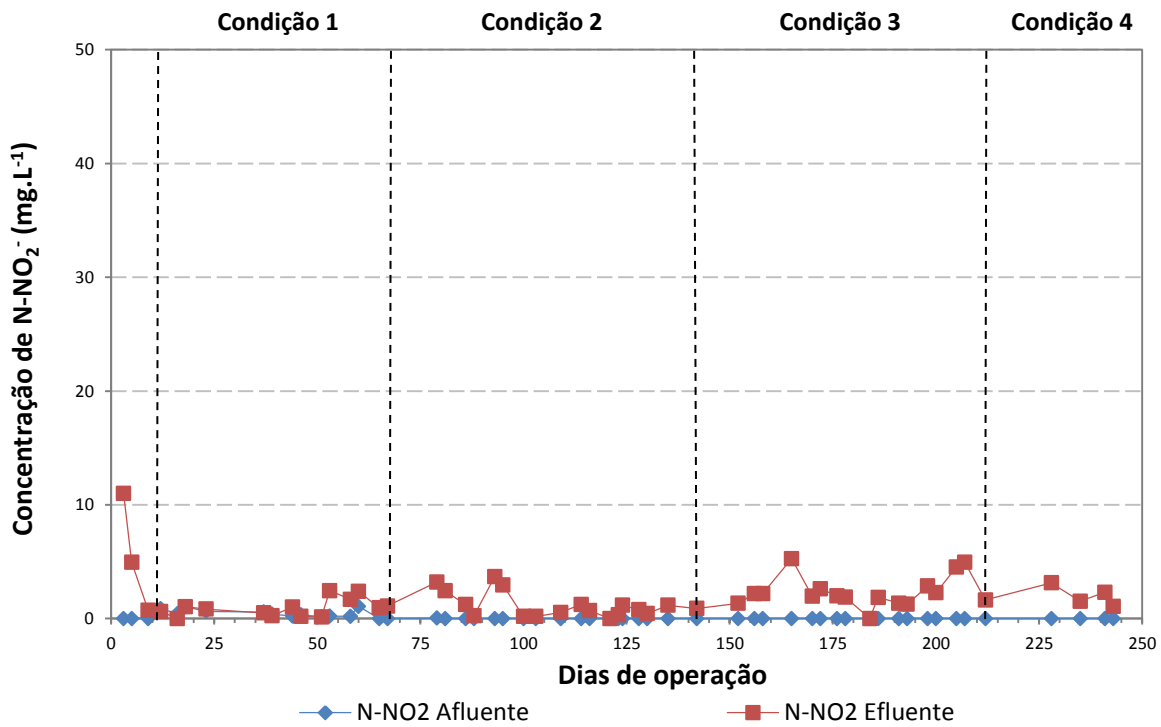


Figura 13 - Variação da concentração de N-nitrito nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental.

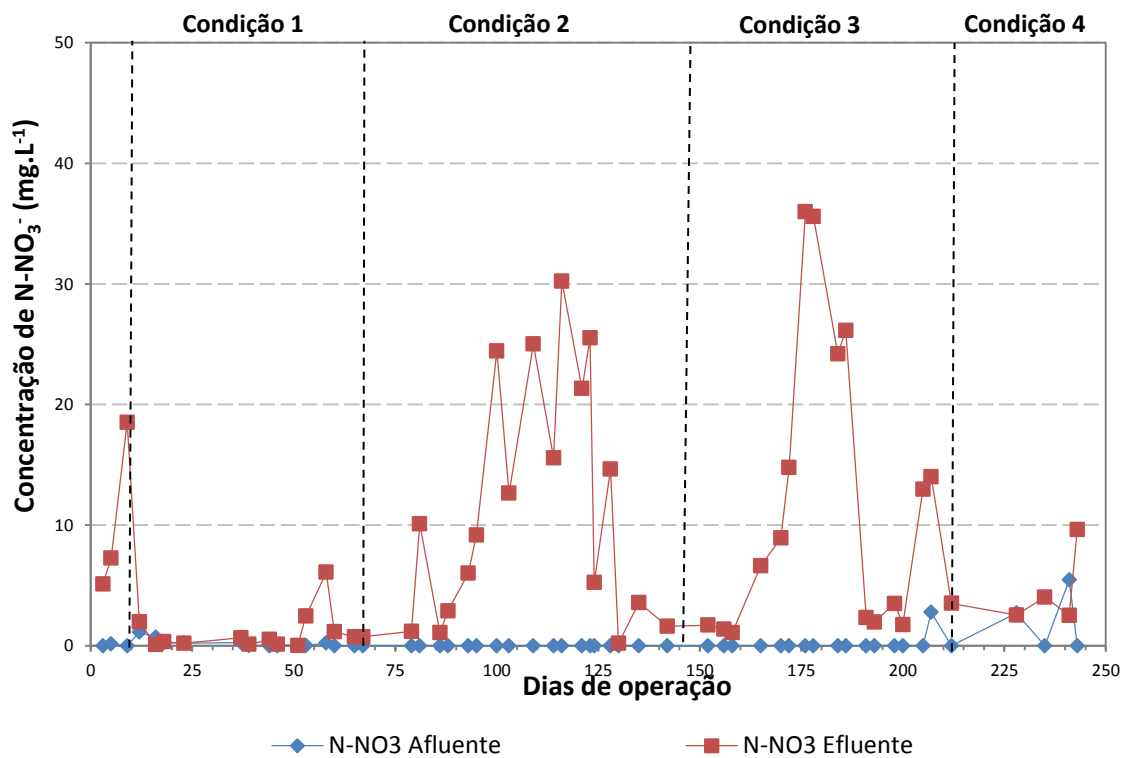
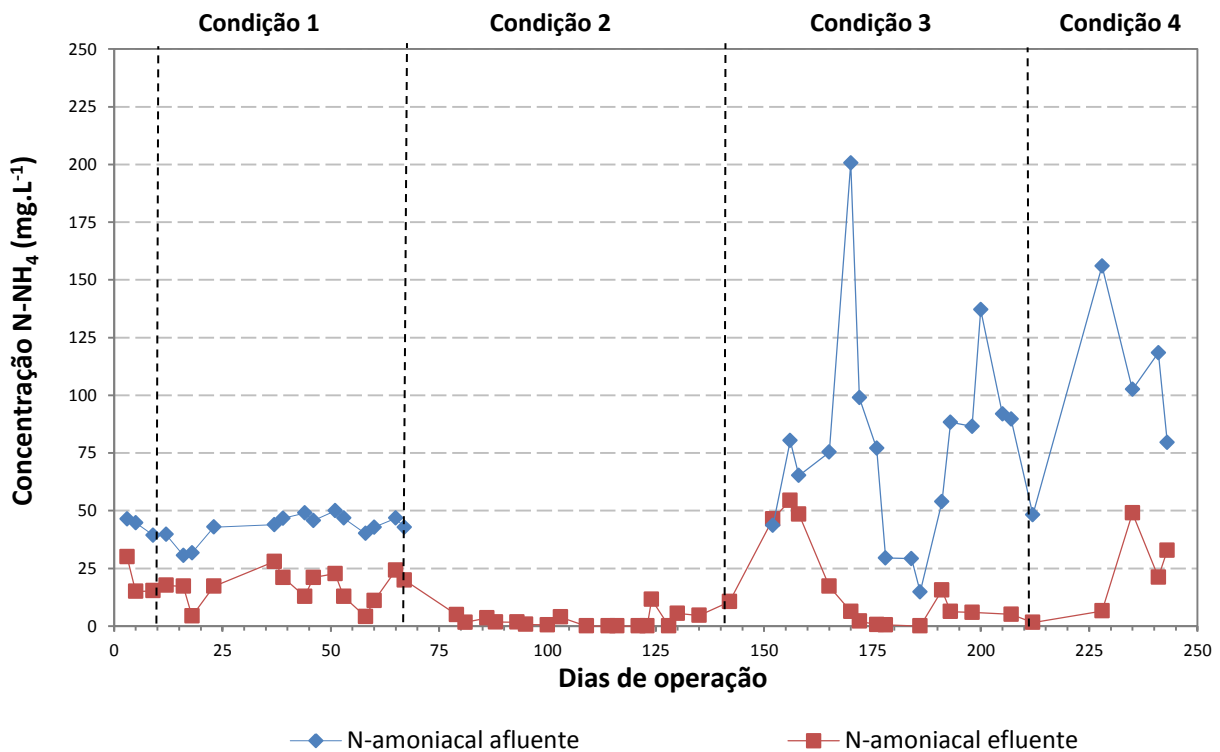


Figura 14 - Variação da concentração de N-nitrato nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental.

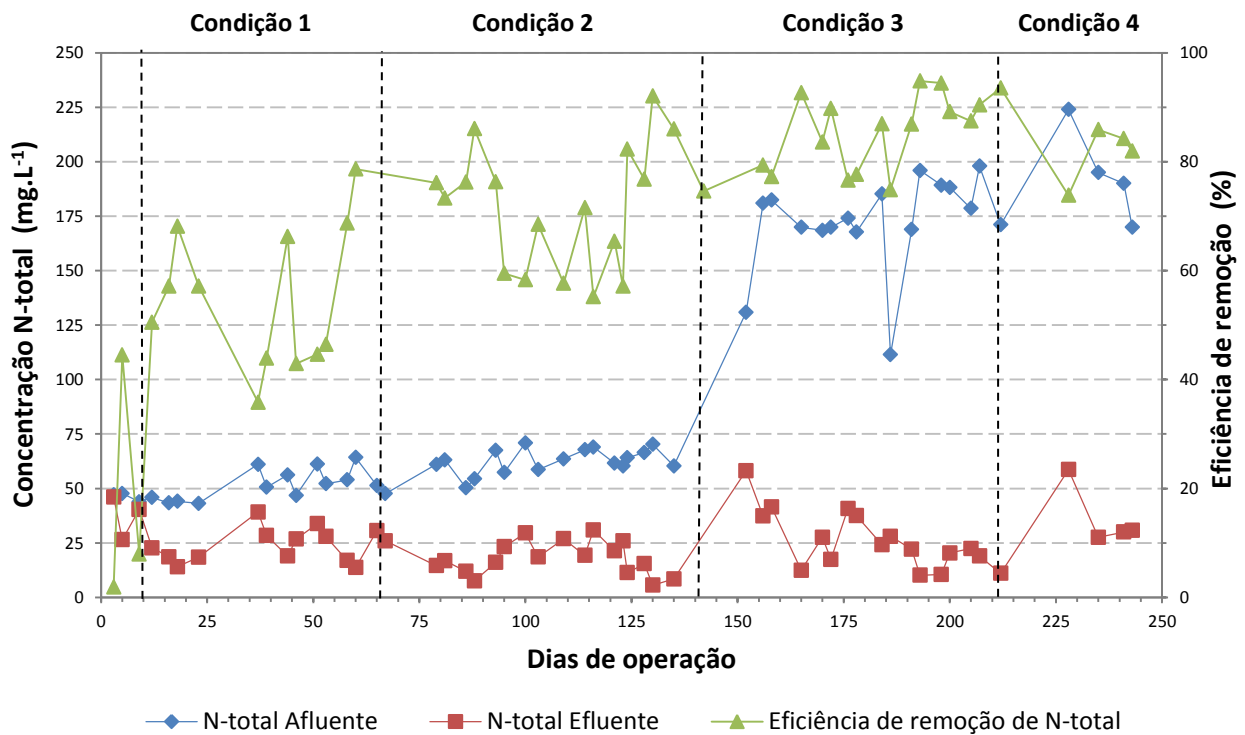




**Figura 15 – Variação da concentração de N-amoniaco nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental.**

Como pode ser observado na Figura 11, a eficiência média de oxidação de NTK (nitrificação) na Condição 2 foi incrementada, atingindo valor médio de  $92 \pm 7,0\%$ . O incremento da eficiência de oxidação de NTK resultou em concentração efluente média de NTK de  $4,7 \pm 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ . A parcela de nitrogênio na forma de N-nitrito não apresentou grande variação, sendo a concentração média efluente de  $1,1 \pm 1,1 \text{ mg.L}^{-1}$ . A concentração efluente de N-nitrato foi mais significativa nessa etapa (média de  $13,4 \pm 11,9 \text{ mg.L}^{-1}$ ), sendo seu comportamento instável durante os 75 dias de operação. Isso aconteceu devido o descontrole da concentração de OD, como será discutido em seguida.

A Figura 16 mostra a variação da concentração de N-total afluente e efluente e a eficiência de remoção de N-total em todas as condições testadas.



**Figura 16 – Variação da concentração de N-total nas amostras afluente, efluente e a eficiência de remoção de N-total ao longo de todo o período experimental.**

Dois comportamentos divergentes podem ser identificados na Figura 16, ambos decorrentes do controle da concentração de OD. Entre 100° e 120° dias de operação foi verificada queda na eficiência de remoção de N-total, essa queda foi acompanhada pelo aumento das concentrações efluentes de  $\text{N-NO}_3^-$ . Entretanto, boa parte do NTK afluente continuou sendo oxidado, uma vez que a concentração efluente de NTK nesse período manteve-se em torno de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ . Como isso aconteceu após a recuperação do sistema decorrente do descarte de material em suspensão efetuado no 82° dia de operação, a explicação para tal fato foi o excesso da concentração de OD no meio líquido, o qual impossibilitou a atividade das bactérias desnitrificantes. Nesse período foram obtidas as menores eficiências de desnitrificação da Condição 2.

Já entre o 120° e 135° dia de operação, o sistema atingiu a máxima eficiência de remoção de N-total. A observação das Figuras 14 e 15 indica que as concentrações efluentes de  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N-NO}_3^-$  foram mais baixas. Além disso, alta oxidação do NTK afluente foi obtida. Tais fatos mostram o equilíbrio entre as taxas de nitrificação e desnitrificação, garantindo processo NDS eficiente (VON MÜNCH; LANT; KELLER, 1996; ZENG et al.,

2003). Esse comportamento é resultado direto do controle da concentração de OD na faixa de 2,0 e 3,5 mg.L<sup>-1</sup> (MOURA, 2011; NOCKO, 2008).

Observou-se que o processo NDS foi estável na remoção de nitrogênio quando a disponibilidade de substratos orgânico e nitrogenado foi garantida. Porém, este processo pode ser ineficaz no tratamento de águas residuais com baixa relação C/N, devido à escassez de fontes de carbono para a desnitrificação heterotrófica. A partir da obtenção de índices significativos de remoção de N-total nas condições anteriores, decidiu-se reduzir a relação C/N com o objetivo de avaliar o comportamento da remoção de nitrogênio em condições limitadas de doadores de elétrons para a desnitrificação.

Na Condição 3, as condições de aeração, recirculação de efluente, vazão de alimentação, TDH e carga carbonácea afluenta foram mantidas constantes. Peptona de carne continuou sendo utilizada como fonte de carbono e nitrogênio para o metabolismo microbiano. No entanto, cloreto de amônio foi adicionado para reduzir a relação C/N. A relação C/N adotada foi de 2,9±1, com cargas carbonácea e nitrogenada afluentes de 1,07 kgDQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> e 0,380 kgN.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>, respectivamente.

Os resultados da concentração de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato, juntamente com a eficiência de remoção de N-total nessa etapa, estão apresentados na Tabela 19.

**Tabela 19 – Concentrações afluenta e efluente de NTK, N-amoniaco, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 3.**

Variáveis	Afluente		Efluente	
	Média (mg.L <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão	Média (mg.L <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
NTK	179,4	10,0	5,9	2,8
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	69,0	22,8	4,3	3,0
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	2,5	1,4
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	11,0	11,9
N-total	179,2	10,3	21,0	10,2
<b>Eficiência média de remoção de N-total</b>			84,6±10,1%	

Como pode ser observada na Tabela 19, a eficiência média de remoção de N-total foi de 84,6±10,1%, superior às condições com razão C/N mais elevada. Além disso, essa etapa apresentou maior estabilidade de remoção, o que pode ser observado pelo menor valor do desvio-padrão, se comparado às Condições 1 e 2.

No início da operação observou-se uma queda na eficiência de oxidação de NTK (Figura 11), refletindo na remoção de N-total. Essa queda na oxidação de NTK ocorreu devido problemas na manutenção da concentração adequada de OD no meio líquido. A normalidade na concentração de OD só foi atingida por meio da troca da pedra porosa utilizada para a difusão do ar em microbolhas. Assim, boa parte do NTK afluente ( $131 \text{ mg.L}^{-1}$ ) não foi oxidado nesse período; resultando em alta concentração efluente de N-total ( $58,1 \text{ mg.L}^{-1}$ ), o qual estava quase que completamente na forma de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $46,4 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

A partir do 165º dia de operação, o sistema adquiriu estabilidade na remoção de N-total. Eficiências de oxidação de NTK superiores a 90% foram alcançadas, resultando em concentrações efluentes de NTK e  $\text{N-NH}_4^+$  de  $5,9 \pm 2,8$  e  $4,3 \pm 3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. Observou-se instabilidade no comportamento efluente de N-nitrato, atingindo valores mais baixos somente no final do período de operação da Condição 3. A concentração efluente de N-nitrito também se apresentou um pouco mais elevada, se comparado com as fases anteriores, atingindo máxima de  $4,9 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Como a eficiência de desnitrificação manteve-se muito elevada mesmo com reduzida disponibilidade de elétrons, comparou-se o montante de DQO removido no sistema com a DQO teórica requerida para as três primeiras condições experimentais. Para que o processo de desnitrificação heterotrófica ocorra, é necessária uma relação  $\text{DQO/N-NO}_3^-$  maior que 4 (PHILIPS; LAANBROEK; VERSTRAETE, 2002), estimada para sistemas de tratamento em escala real. Essa relação não depende do tipo de fonte orgânica utilizada como doadora de elétrons para desnitrificação. Assim, considerando relação  $\text{DQO/N-NO}_3^-$  de 4,5, as concentrações afluentes médias de NTK em cada condição experimental e, calculando-se a diferença entre essa variável e as frações de nitrogênio restantes no efluente final (NTK,  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NO}_2^-$ ) constatou-se que seriam necessários cerca de 127, 196 e  $720 \text{ mg DQO.L}^{-1}$  para que a desnitrificação acontecesse por vias heterotróficas nas Condições 1, 2 e 3, respectivamente. Os dados práticos mostraram que nas Condições 1, 2 e 3 houve remoção de DQO de 436, 460 e  $476 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ .

A partir da comparação entre a DQO requerida pela desnitrificação heterotrófica e a DQO removida na prática em cada condição experimental, observou-se que a parcela de nitrogênio removida na Condição 3 foi superior ao montante que teoricamente poderia ser desnitrificado no sistema. Na Condição 3, a carga carbonácea afluente foi de  $1,07 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$  e considerou-se que elétrons foram dirigidos somente para via da desnitrificação. Entretanto, durante a fase de aeração, parte da matéria orgânica (doadores de

elétrons) são utilizados pelos organismos em rota na qual o oxigênio é o aceptor final de elétrons, o que assegura maior rendimento energético aos mesmos. Isto corrobora com a insuficiência na disponibilidade de doadores de elétrons para desnitrificação heterotrófica de todo o montante de nitrogênio oxidado na Condição 3. Nesse sentido, a redução na disponibilidade de doadores de elétrons para a desnitrificação heterotrófica possibilitou levantar hipóteses sobre a ocorrência de processos complementares de remoção de nitrogênio. Sob reduzida disponibilidade de elétrons, o processo anammox pode ser umas das vias de remoção de nitrogênio, complementar à desnitrificação heterotrófica (BARANA et al., 2013). Nesse processo, o nitrito atua como aceptor de elétrons e o  $\text{N-NH}_4^+$  como doador para produzir  $\text{N}_2$  e  $\text{N-NO}_3^-$ .

Barana et al.(2013) avaliaram a remoção de nitrogênio e DQO remanescente de efluente de reator UASB a partir da operação de reator de leito fixo ordenado, submetido à diferentes regimes de aeração intermitente. Após 131 dias de operação do reator, verificou-se a participação da atividade anammox na remoção de nitrogênio, concomitante ao processo NDS.

Com o objetivo de confirmar a ocorrência de atividade anammox no reator em questão, foram realizados testes específicos, cujos resultados serão discutidos no item 5.10. Além disso, uma discussão adequada dos cálculos de cargas aplicadas e removidas, juntamente com a comparação dos resultados em termos de eficiência será abordada na Tabela 21 do item 5.3.

Como a Condição 3 apresentou alta eficiência de remoção de N-total mesmo sob baixa relação C/N, permitindo o estabelecimento de via completar de remoção de nitrogênio (processo anammox), decidiu-se testar o comportamento do sistema sob baixa relação C/N e utilizando a sacarose como fonte de carbono. Cloreto de amônio foi utilizado como única fonte de nitrogênio ao sistema. Vale ressaltar que a Condição 4 foi caracterizada por uma quantidade menor de dados, devido problemas constantes na manutenção da concentração adequada de OD, o que inviabilizava a coleta de amostras para análises físico-químicas.

Na Condição 4, a relação C/N adotada foi de  $2,9 \pm 0,4$ , com cargas carbonácea e nitrogenada afluentes de  $1,15 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$  e  $0,412 \text{ kg N.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ , respectivamente. A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos.

**Tabela 20 – Concentrações afluente e efluente de NTK, N-amoniacal, N-nitrito, N-nitrato, N-total e eficiência média de remoção de N-total da Condição 4.**

Variáveis	Afluente		Efluente	
	Média (mg.L <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão	Média (mg.L <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
NTK	193,4	19,9	30	15,4
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	100,1	19,6	24,4	7,3
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	2,0	0,9
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,0	0,0	4,7	3,4
N-total	194,7	22,3	36,7	14,7
<b>Eficiência média de remoção de N-total</b>			81,5±5,3%	

Os dados da tabela indicam queda na eficiência média do processo de oxidação de NTK, uma vez que a concentração efluente média nessa fase foi de 30±15,4 mg.L<sup>-1</sup>. Este valor foi superior ao obtido na condição anterior, na qual uma relação C/N próxima a 3 também foi testada. A Figura 11 nos mostra que essa queda na oxidação de NTK ficou concentrada no início da operação da Condição 4, justificando o descarte de material em suspensão feito no 225° dia de operação.

A eficiência média de remoção de N-total para todo o período operacional foi de 81,5±5,3%. No geral, os compostos nitrogenados intermediários (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) apresentaram baixas concentrações efluentes. Boa parte da concentração de N-total efluente estava na forma de N-amoniacal.

### **5.3 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO: CARGA NITROGENADA OXIDADA E CARGA NITROGENADA REMOVIDA**

Como nas Condições 1 e 2 as eficiências de nitrificação e de desnitrificação mantiveram-se muito elevadas mesmo com a redução na disponibilidade de elétrons, equações para o cálculo das cargas de nitrogênio oxidada e removida foram propostas. A partir desse momento, constatou-se que a comparação das percentagens de eficiência de remoção de N-total das condições com diferentes relações C/N não seria suficiente para demonstrar a real eficácia de conversão de nitrogênio a N<sub>2</sub>. Além disso, a avaliação da contribuição de vias complementares de remoção de nitrogênio seria dificultada. Portanto, propõe-se neste item, a análise da remoção de N-total a partir da comparação entre as cargas

nitrogenadas removidas, ou seja, as cargas de NTK oxidado e as cargas de N-total removido, conforme equações dispostas no item 4.4.

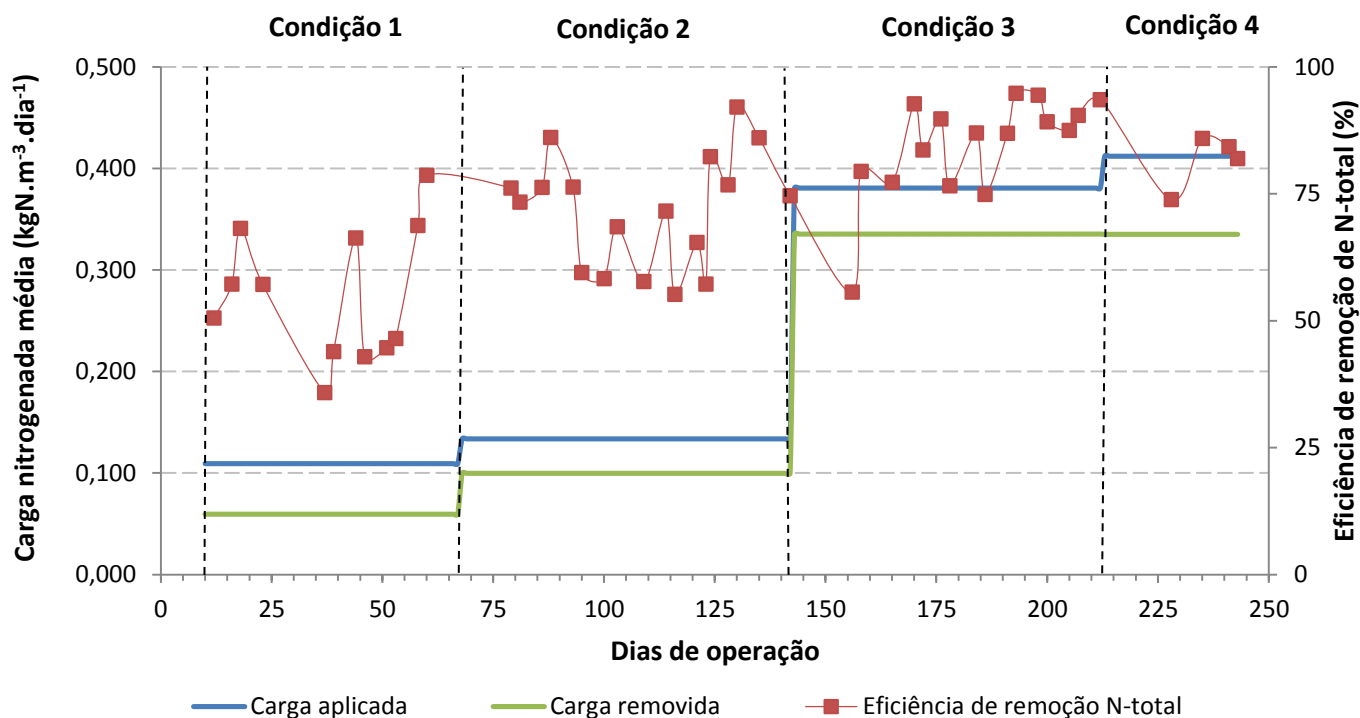
A Tabela 21 mostra as cargas de nitrogênio aplicadas em cada condição experimental e as respectivas frações de nitrogênio removidas.

**Tabela 21 – Valores médios das cargas aplicadas e removidas durante o experimento.**

<b>Variáveis</b>	<b>Condição 1</b>	<b>Condição 2</b>	<b>Condição 3</b>	<b>Condição 4</b>
Carga nitrogenada aplicada (kg N.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0,109	0,134	0,380	0,412
Carga de NTK oxidado (kg N.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0,063	0,123	0,368	0,349
Carga de N-total convertido a N <sub>2</sub> (kg N.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0,060	0,100	0,336	0,334

Observa-se pelos dados da Tabela 21 que a capacidade de oxidação de NTK foi influenciada positivamente pela diminuição da relação C/N. Com a redução da relação C/N, a concentração de substrato para as bactérias nitrificantes aumentou, estimulando o crescimento da biomassa nitrificante e permitindo maior poder na disputa por oxigênio dissolvido. Entretanto, a competição por OD pode resultar na estratificação da camada óxica do biofilme, com bactérias heterotróficas na região mais externa e as nitrificantes nas regiões mais internas (FU et al., 2010). Tal fato também foi observado no estudo realizado por Fu et al.(2009), no qual bioreator de membrana foi operado com TDH de 36 horas, água residuária sintética à base de sacarose e baixa concentração de OD.

A Figura 17 mostra a variação na eficiência de remoção de N-total e as cargas nitrogenadas médias aplicadas e removidas em cada condição experimental.



**Figura 17 – Variação da eficiência de remoção de N-total e das cargas nitrogenadas aplicada e removida ao longo de todo o período experimental.**

Observando a Figura 17 é possível notar estabilidade na eficiência de remoção a partir do final da Condição 2 (130º dia de operação). Essa regularidade na percentagem de eficiência de remoção de N-total pode “mascarar” o real incremento da eficácia de remoção de N-total a partir da redução da relação C/N. A análise das cargas removidas mostra claramente esse incremento na eficácia de remoção; uma vez que, à medida que maior carga de nitrogênio foi aplicada ao sistema, maior conversão dessa carga a N<sub>2</sub> foi observada.

O incremento da eficiência média de remoção de nitrogênio e da carga de nitrogênio removida quando a relação C/N foi reduzida de  $7,6 \pm 1$  (Condição 2) para  $2,9 \pm 1$  (Condição 3) contraria os resultados encontrados por Chiu et al. (2007), Meng et al. (2008) e Fu et al. (2009). Tais autores classificam a remoção de N-total a partir do equilíbrio das taxas de nitrificação e desnitrificação heterotrófica, o que ocorre quando a disponibilidade de doadores de elétrons para a desnitrificação heterotrófica é garantida. Ou seja, tal equilíbrio só pode ser alcançado quando a água residuária a ser tratada contém alta relação C/N.

Na Condição 2, a desnitrificação heterotrófica foi limitada pela redução da disponibilidade de doadores de elétrons (DQO), possibilitando levantar hipóteses sobre a ocorrência de outros processos de remoção de nitrogênio. Uma delas é processo anammox em que o nitrito atua como aceptor de elétrons e o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> como doador para produzir N<sub>2</sub> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Os testes de atividade anammox foram positivos, indicando a presença de



microrganismos capazes de consumir  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N-NH}_4^+$  e produzir  $\text{N-NO}_3^-$ . Tais resultados confirmaram a hipótese de ocorrência do processo anammox, além da desnitrificação heterotrófica.

O reator de leito estruturado apresentou melhor desempenho na conversão de nitrogênio a  $\text{N}_2$  na Condição 3, a qual foi operada utilizando peptona de carne como fonte de carbono e sob relação C/N de  $2,9 \pm 1,0$ . Eficiência média de remoção foi de  $84,6 \pm 10,1\%$ , resultando em carga de N-total removida de  $0,336 \text{ kg N.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ . No trabalho realizado por Fu et al.(2009), a máxima eficiência de remoção de N-total ( $90,6\%$ ) foi obtida na condição em que o reator de membrana foi operado com relação C/N de 9,3. A carga de nitrogênio convertida a  $\text{N}_2$  nesse caso foi de  $0,132 \text{ kg N.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ . Meng et al. (2008) operaram reator de membrana com circulação interna de ar e obtiveram eficiência máxima de remoção de N-total de  $72,8\%$ . A relação C/N correspondente foi de 10,04 e a carga nitrogenada removida foi de  $0,118 \text{ kg N.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ .

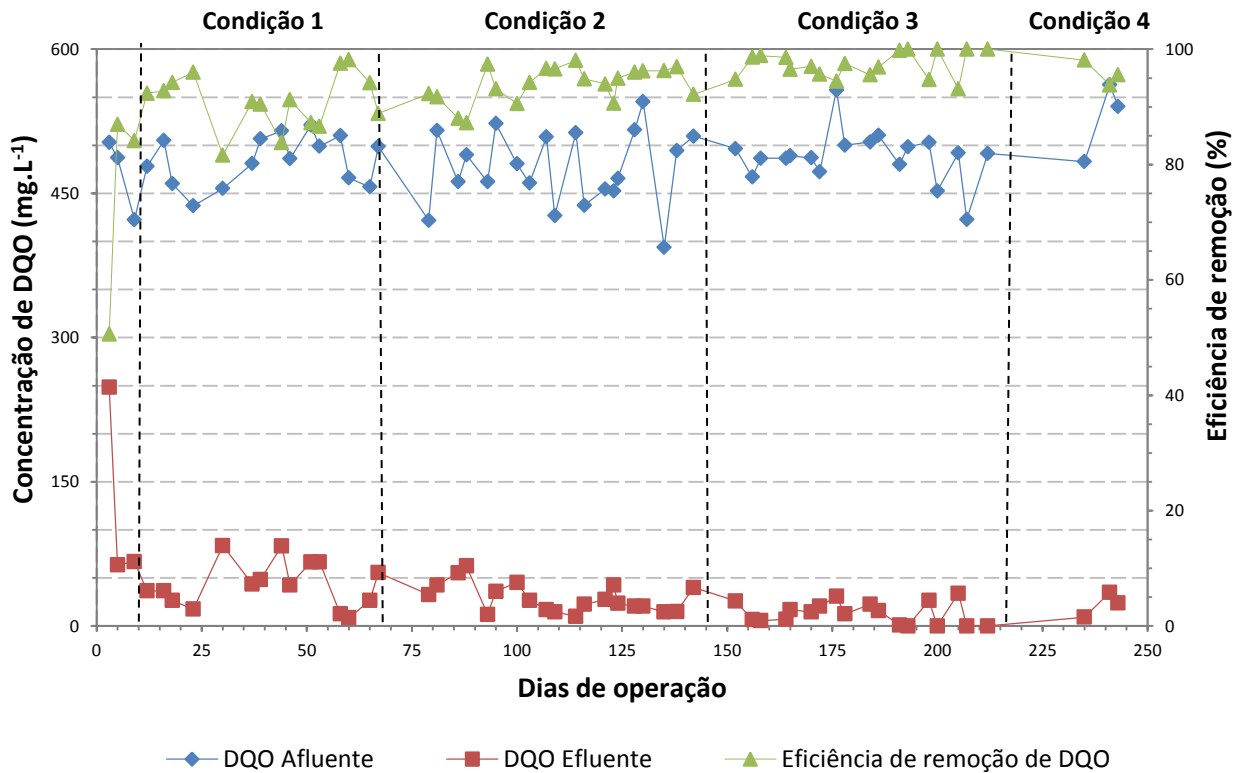
#### 5.4 REMOÇÃO DE DQO

A remoção de DQO ao longo do período experimental foi satisfatória, atingindo valores médios de remoção superiores a 90%. A Tabela 22 apresenta os valores médios de DQO afluente e efluente do sistema de tratamento, assim como a eficiência de remoção em cada condição experimental.

**Tabela 22 – Concentrações de DQO afluente e efluente e eficiência de remoção para as condições experimentais 1, 2, 3 e 4.**

Condição Experimental	DQO Afluente ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	DQO Efluente ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Eficiência de remoção (%)
1	$481 \pm 24$	$45 \pm 19$	$91 \pm 5$
2	$489 \pm 28$	$29 \pm 12$	$94 \pm 3$
3	$489 \pm 27$	$13 \pm 10$	$97 \pm 2$
4	$529 \pm 41$	$23 \pm 9$	$96 \pm 2$

A Figura 18 mostra a variação da concentração de DQO afluente e efluente e a eficiência de remoção de DQO em todas as condições testadas.



**Figura 18 – Variação da concentração de DQO nas amostras afluente, efluente e a eficiência de remoção de DQO ao longo de todo o período experimental.**

As parcelas de DQO removida nas condições 1, 2 3 e 4 foram de 436, 460, 476 e 506 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Tal comportamento indica estabilidade com relação à remoção de matéria orgânica nessa configuração de reator.

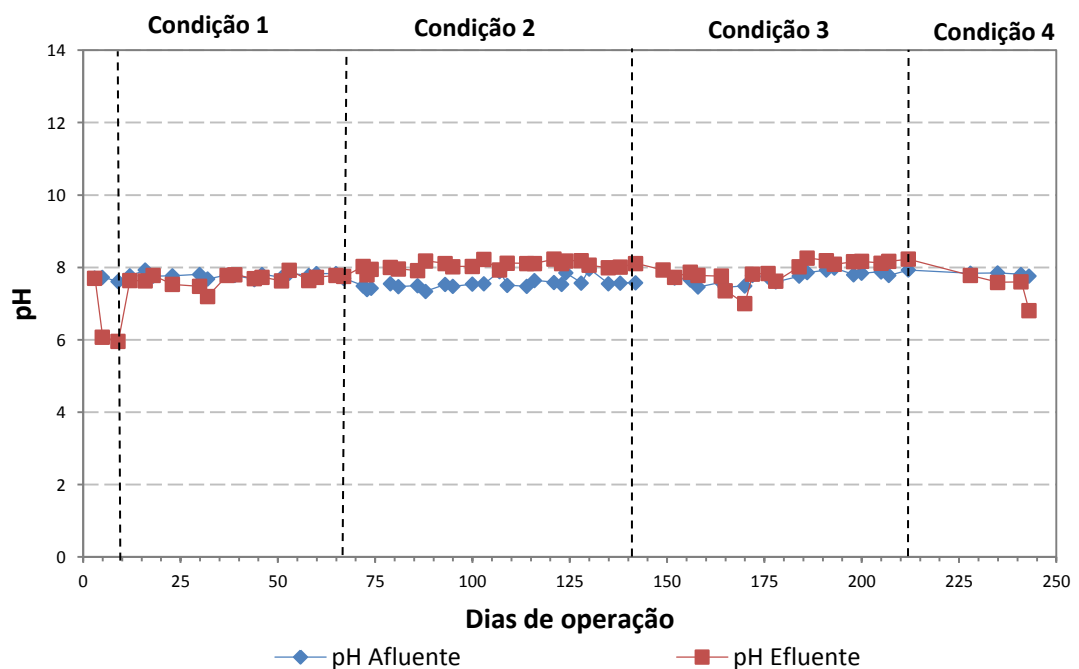
Moura (2011) avaliou o comportamento da remoção de DQO e nitrogênio em reator de leito fixo e estruturado, operando com aeração intermitente e vazão de recirculação igual a 5, submetendo o sistema à diferentes tempos de detenção hidráulica. A melhor condição operacional obtida foi com TDH de 12 horas, apresentando eficiência de remoção de N-total de 82% e DQO de 89%. Nos períodos em que o sistema foi operado com TDH de 8 e 10 horas, houve queda nas eficiências de remoção de N-total. Porém, com relação à remoção de DQO, as eficiências foram mantidas acima de 85%.

Barana et al.(2013) também trabalharam com esta configuração de reator, porém o objetivo foi o pós-tratamento de efluente de abatedouro de aves. Nesse estudo, o reator foi submetido à diferentes condições de aeração intermitente. Observou-se que eficiência de remoção de nitrogênio foi incrementada com a diminuição dos períodos aerados e o consequente aumento dos períodos não-aerados. Por outro lado, a eficiência de remoção de DQO manteve-se acima de 88% ao longo de todo o experimento.

Os resultados encontrados neste estudo corroboram os encontrados por Moura (2011) e Barana et al. (2013), que apontam a robustez do sistema para remoção conjunta de matéria orgânica e nitrogenada. As condições impostas durante a operação permitiram obter significativa remoção de N-total, mesmo em condições de baixa disponibilidade de doadores de elétrons para desnitrificação. O reator de leito fixo e estruturado permite a ocorrência da desnitrificação heterotrófica como um processo concorrente à oxidação da matéria orgânica com  $O_2$  como aceptor final de elétrons. Assim, com o controle adequado da OD pode-se promover a remoção de parte da carga carbonácea pela desnitrificação, reduzindo a necessidade de aporte de oxigênio, o que deve contemplar o metabolismo das bactérias nitrificantes.

### 5.5 PH E ALCALINIDADE

A variação temporal do pH e da alcalinidade total durante a operação do reator pode ser visualizada nas Figuras 19 e 20, respectivamente.



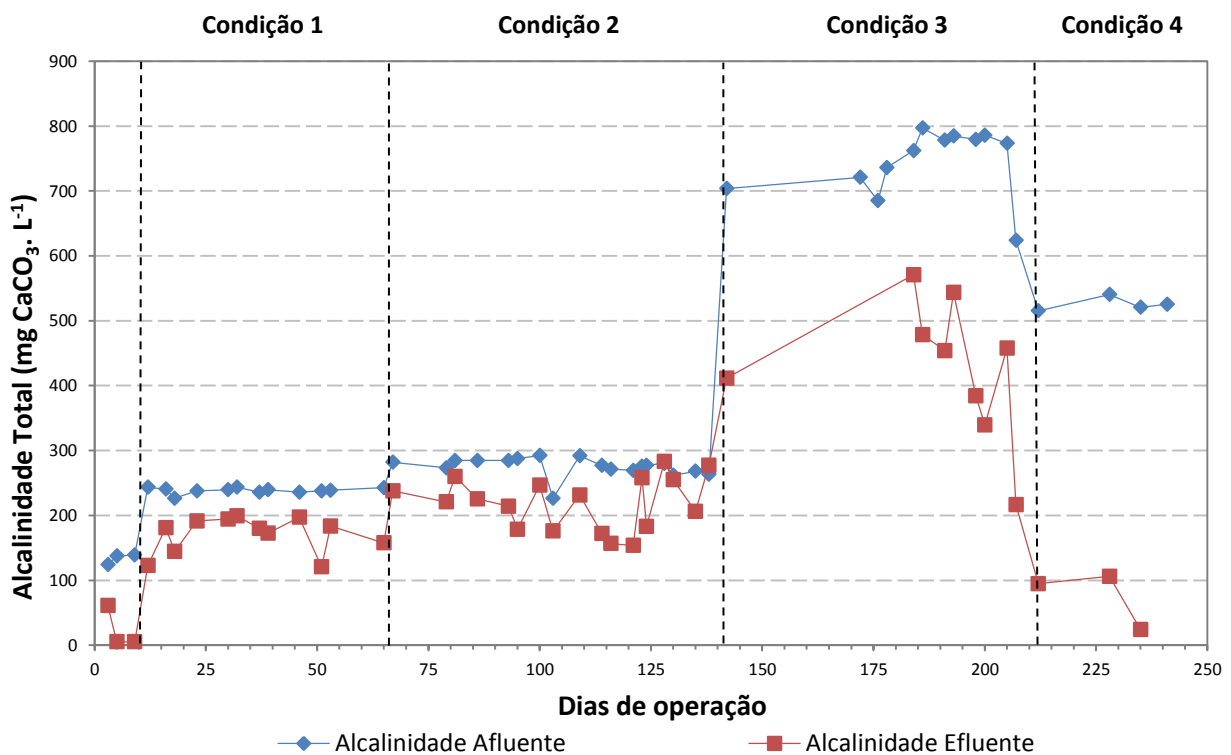
**Figura 19 – Variação do pH nas amostras afluentes e efluentes ao longo de todo o período experimental**

No geral, o pH afluente apresentou pequena variação durante o experimento. Maior variação foi observada apenas nos períodos de mudança de água residuária à base de sacarose

para peptona de carne. Para as condições 1 e 4, o pH afluente médio foi de  $7,79 \pm 0,06$  e para as Condições 2 e 3 foi de  $7,66 \pm 0,17$ .

O pH efluente também apresentou pequena variação durante o período experimental. Seu comportamento manteve-se semelhante ao mencionado para as amostras afluentes, com valor médio na operação com peptona de carne superior ao da operação com sacarose. Nas condições 1 e 4, o pH efluente médio foi de  $7,61 \pm 0,26$  e nas Condições 2 e 3 foi de  $8,07 \pm 0,14$ . Esses valores de pH efluente estão dentro da faixa ideal para o estabelecimento de microrganismos responsáveis pela remoção concomitante de matéria orgânica e nitrogênio (METCALF; EDDY, 2003; SURAMPALLI et al., 1997; VILLAVERDE; GARCÍA-ENCINA; FDZ-POLANCO, 1997).

A Figura 20 apresenta o comportamento da alcalinidade total nas amostras afluente e efluente durante a operação do reator.



**Figura 20 – Variação da alcalinidade total nas amostras afluente e efluente ao longo de todo o período experimental.**

Durante o período de adaptação observou-se o consumo total da alcalinidade disponível e conseqüente decréscimo do pH efluente (Figura 19), devido presença de íons  $H^+$  em excesso. Como o sistema estava sendo operado com aeração contínua, para estimular o desenvolvimento das bactérias nitrificantes, o processo de desnitrificação foi inibido. Logo,

não houve a reposição de 50% da alcalinidade necessária para garantir a oxidação de todo o N-amoniaco afluente. Desse modo, o processo de nitrificação foi limitado, como foi observado na Figura 20. Para evitar esse problema, a partir do 10º dia de operação (início da Condição 1), dobrou-se a concentração de bicarbonato de sódio no preparo do meio sintético (passando de 200 para 400 mg.L<sup>-1</sup>), de maneira a suprir a demanda de alcalinidade e carbono inorgânico exigida para a oxidação completa da carga nitrogenada aplicada na Condição 1.

De acordo com Metcalf e Eddy (2003), o processo de nitrificação consome teoricamente 7,14 mg de alcalinidade em função de CaCO<sub>3</sub> por mg de amônia oxidada; ocasionando queda na alcalinidade efluente. A redução dos compostos nitrogenados oxidados à N<sub>2</sub> devolve alcalinidade ao sistema. A produção teórica de alcalinidade é de 3,57 mg CaCO<sub>3</sub> por mg de N-NO<sub>3</sub> reduzido. Assim, a Tabela 23 apresenta a demanda prevista (alcalinidade consumida pela nitrificação) e o fornecimento previsto (alcalinidade reposta pela desnitrificação) em cada uma das condições experimentais. Os cálculos realizados levaram em consideração que o montante de nitrogênio foi removido exclusivamente pelos processos de nitrificação e desnitrificação.

**Tabela 23 - Alcalinidade afluente e estimativas da alcalinidade consumida e da alcalinidade produzida em cada condição experimental.**

<b>Relação C/N</b>	<b>Alcalinidade Afluente (mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Alcalinidade consumida na nitrificação (mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Alcalinidade produzida pela desnitrificação (mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>)</b>
9,7±1,0	238±4,5	183,5	98
7,6±1,0	279±9,8	364	161
2,9±1,0	762±31,2	462	565
2,9±0,4	525±10,8	540	564

À medida que o sistema foi submetido à maiores cargas nitrogenadas afluentes (redução da relação C/N), foram realizados ajustes na alcalinidade afluente do substrato, com o objetivo de suprir a demanda necessária para a nitrificação de todo o NTK afluente, garantindo o estabelecimento e manutenção do processo. Com a demanda de álcali garantida, a alcalinidade média efluente foi inferior à afluente ao longo de todo o período experimental. Isto mostra que a alcalinidade não foi um fator limitante para a etapa de nitrificação.

As concentrações afluentes e efluentes médias de alcalinidade em cada condição operacional são mostradas na Tabela 24.

**Tabela 24 – Concentrações de alcalinidade afluyente e efluente para as condições experimentais 1, 2, 3 e 4.**

Variável	Condição 1	Condição 2	Condição 3	Condição 4
Alcalinidade Afluente (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	238±4,5	279±9,8	762±31,2	525±10,8
Alcalinidade Efluente (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	170±27,8	219±41,0	455±77,5	139±67,3

A queda da alcalinidade do efluente foi consequência da alta eficiência de nitrificação e das reduzidas concentrações efluentes de N-amoniacal observadas em todas as condições experimentais. O processo de desnitrificação é capaz de repor 3,57 mg de alcalinidade (na forma de CaCO<sub>3</sub>) por mg de nitrato reduzido. Assim, a alcalinidade efluente resulta da concentração afluyente, descontada a parcela relativa ao consumo durante a nitrificação e acrescida da produção na desnitrificação. O decréscimo na alcalinidade total efluente (Tabela 24), quando comparado ao montante de alcalinidade produzido pela desnitrificação (Tabela 23), deve-se ao consumo desta pelo metabolismo anammox.

Considerando o montante de NTK que foi oxidado até N-nitrito e N-nitrato em cada uma das condições e a estequiometria de consumo de alcalinidade deste processo, pode-se afirmar que a desnitrificação foi eficiente em todas as condições testadas; uma vez que mais de 50% da alcalinidade requerida pela nitrificação foi repostada ao sistema. Com isso, a configuração de reator proposta nesse estudo apresenta-se como alternativa vantajosa perante os sistemas convencionais de tratamento (nitrificação e desnitrificação em unidades separadas), reduzindo o requerimento de álcali para garantir nitrificação completa.

## **5.6 SÓLIDOS NO AFLUENTE, EFLUENTE, DESCARTE DE MATERIAL EM SUSPENSÃO E FINAL DA OPERAÇÃO**

As concentrações médias de sólidos do afluyente e do efluente do reator durante todas as condições experimentais avaliadas nesse trabalho estão apresentadas nas Tabelas 25 e 26.

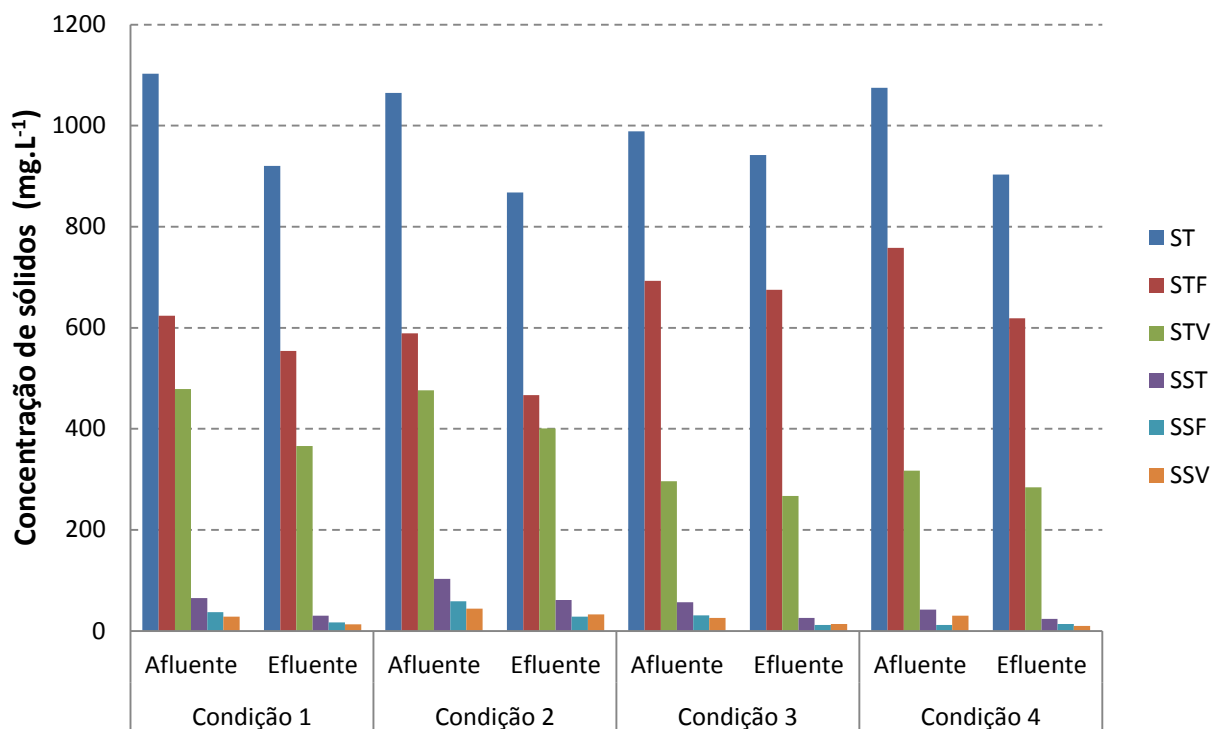
**Tabela 25 – Concentração média de sólidos no afluente em todas as condições experimentais testadas.**

	<b>Concentrações Afluentes (mg.L<sup>-1</sup>)</b>			
	<b>Condição 1</b>	<b>Condição 2</b>	<b>Condição 3</b>	<b>Condição 4</b>
ST	1103±195	1065±158	989±107	1075±107
STF	624±91	589±69	693±109	758±66
STV	479±140	476±102	296±69	317±50
SST	65±15	103±47	57±17	42±17
SSF	37±13	59±15	31±11	12±9
SSV	28±9	44±13	26±8	30±17

**Tabela 26 – Concentração média de sólidos no efluente em todas as condições experimentais testadas.**

	<b>Concentrações Efluentes (mg.L<sup>-1</sup>)</b>			
	<b>Condição 1</b>	<b>Condição 2</b>	<b>Condição 3</b>	<b>Condição 4</b>
ST	920±165	868±124	942±148	903±107
STF	554±112	467±115	675±101	619±91
STV	366±92	401±137	267±88	284±62
SST	30±11	61±4	26±14	24±13
SSF	17±10	28±16	12±6	14±7
SSV	13±8	33±16	14±5	10±4

A Figura 21 apresenta uma representação gráfica das concentrações de sólidos ao longo da operação do sistema.



**Figura 21 – Variação da concentração de sólidos no afluente e efluente nas quatro condições experimentais avaliadas.**

A representação em barras das concentrações afluentes e efluentes da série de sólidos permite a observação de informações importantes. Pode-se observar que, em todas as condições operacionais, as concentrações afluentes de ST foram maiores do que as concentrações efluentes. As concentrações de STF no afluente e efluente mantiveram certa regularidade, sendo a maior diferença obtida na Condição 2. Entretanto, observou-se ligeira remoção da parcela volátil dos sólidos totais (STV) em todas as condições.

Outro fato interessante é que as concentrações efluentes de STF foram superiores às concentrações efluentes de STV durante todo o período experimental. Uma possível explicação para essas concentrações de STF mais elevadas é presença de macronutrientes (sais minerais) adicionados à água residuária sintética, os quais não foram totalmente metabolizados no reator.

Com relação à parcela de sólidos suspensos, a análise da Figura 21 nos indica que as concentrações efluentes de SSV foram relativamente baixas ao longo de todo o período experimental. Tal fato confirma que o sistema permite a retenção da biomassa imobilizada. Ademais, o sistema também mostrou efetiva capacidade na manutenção da biomassa suspensa, a qual só foi retirada periodicamente porque seu acúmulo trazia problemas na difusão de OD.



Como já comentado anteriormente, durante a operação do reator observou-se a formação de material biológico em suspensão. Como foi verificado que esse material em excesso causava problemas na transferência de massa de oxigênio dissolvido no meio líquido do reator, foram realizados descartes periódicos desse material. Os descartes foram definidos a partir do monitoramento da concentração de OD (entre 2,0 e 3,5 mg.L<sup>-1</sup>) por meio de sonda de luminescência e também pela observação do acúmulo excessivo dessa biomassa ao redor das hastes de espuma.

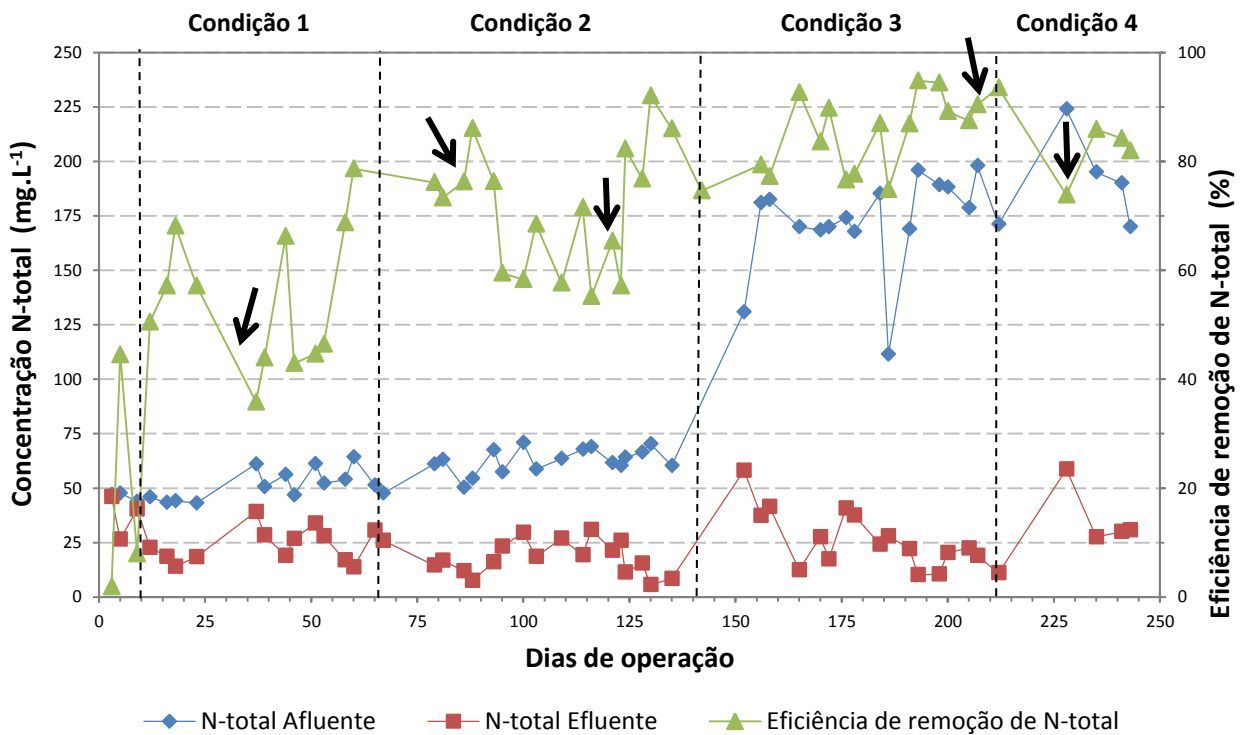
Os dias e as concentrações de ST, STF e STV de cada descarte são mostrados na Tabela 27. Na Condição 2 foram realizados dois descartes, o primeiro no 82º dia de operação e o outro, no 122º dia. Já nas demais condições, apenas um descarte precisou ser realizado: Condição 1 (29º dia de operação), Condição 3 (201º dia de operação) e Condição 4 (225º dia de operação).

**Tabela 27 – Dias de descarte e concentração de ST, STF e STV no material em suspensão presente no reator.**

<b>Dias de operação</b>	<b>Sólidos Totais (kg ST.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Sólidos Totais Fixos (kg STF.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Sólidos Totais Voláteis (kg STV.m<sup>-3</sup>)</b>
29	0,736	0,554	0,182
82	2,217	1,953	0,263
122	0,264	0,209	0,055
201	1,250	1,070	0,181
225	1,931	1,708	0,222

Pode-se observar pelos resultados da Tabela 27 que com o decorrer da operação do reator, a concentração de sólidos (ST, STF e STV) foi aumentando, o que pode indicar a adaptação dos microrganismos em suspensão à condições operacionais estabelecidas no sistema. E isso refletiu na maior diversidade biológica presente nesse material, como será abordado no item 5.8.1 (Figuras 29, 30 e 31).

Com o intuito de ilustrar a influência do excesso de material em suspensão sobre a difusão do oxigênio no meio líquido, que se refletiu diretamente sobre a remoção de N-total, montou-se a Figura 22. Nessa figura, os pontos de descartes estão assinalados. Pode-se observar que os pontos de descartes são seguidos por períodos com altas eficiências de remoção de N-total.



**Figura 22 – Gráfico representando efeito do descarte de material em suspensão sobre a eficiência de remoção de N-total.**

Após a finalização da operação do reator foi realizada a estimativa da concentração de sólidos aderidos ao material suporte e também de sólidos presentes no líquido drenado do reator. Considerou-se que a massa de espuma em cada uma das 13 hastes era de 7,8564 g; que o volume aproximado de cada haste era 0,423 L (porosidade do leito) e que a concentração de ST e STV em cada haste foi de 5,062 e 0,424 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Logo, após 243 dias de operação alcançaram-se concentrações de 3,54 kg ST.kg espuma<sup>-1</sup> e 0,30 kg STV.kg espuma<sup>-1</sup>.

Os mesmos cálculos foram obtidos para determinar a concentração de sólidos no líquido drenado do reator. Vale ressaltar que o volume de líquido retirado (7,28 L) para esse teste foi superior ao volume útil do reator, já que o líquido que ficava armazenado na parte inferior cônica também foi coletado. Após a sedimentação, o volume de material foi de 0,82 L. Considerou-se que a concentração de ST e STV foi de 16,460 e 1,558 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Assim, ao final do período de operação (243º dia) a concentração de ST e STV na biomassa em suspensão foi de 1,85 kg ST.m<sup>-3</sup> e 0,175 kg STV.m<sup>-3</sup>.

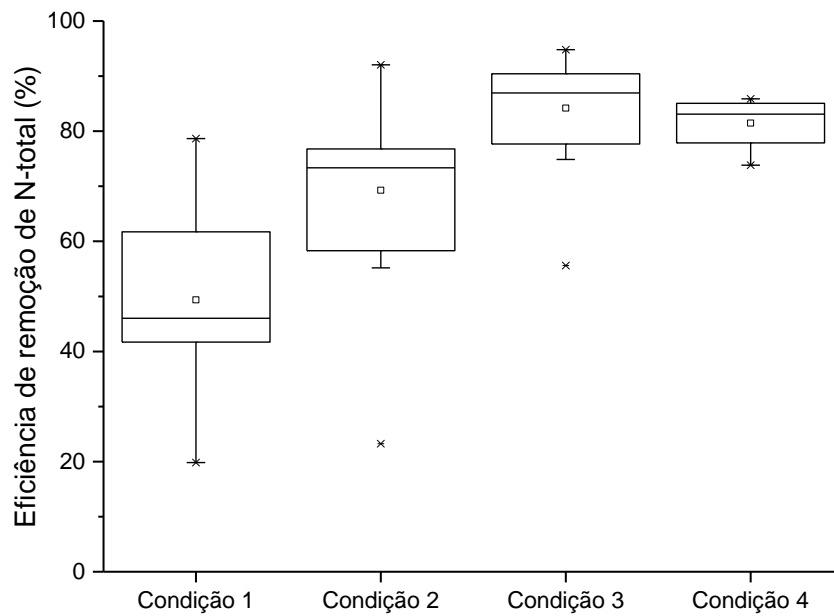
Comparando a concentração de sólidos aderidos ao material suporte e a concentração de sólidos presente no líquido drenado do reator, conclui-se que a maior parte dos sólidos voláteis (STV) presente no reator estava na forma de biofilme.

### **5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE AS EFICIÊNCIAS DE NITRIFICAÇÃO, DESNITRIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE N-TOTAL E DQO**

Nos itens 5.2 e 5.3 foi feita uma discussão mais individualizada dos resultados obtidos com relação à remoção de nitrogênio em cada uma das condições experimentais propostas. Nessa etapa é apresentada uma análise comparativa destes resultados, a fim de proporcionar maior compreensão dos processos de remoção de matéria carbonácea e nitrogenada estabelecidos no sistema.

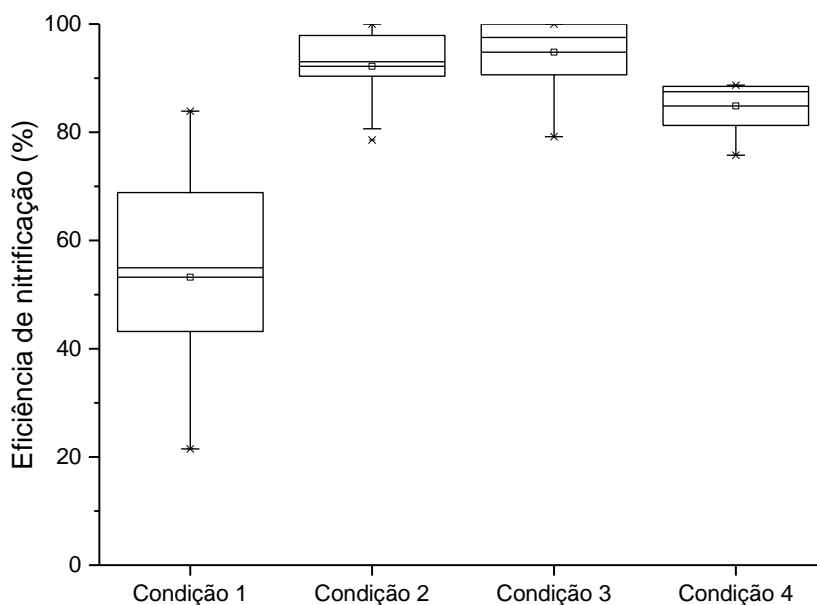
A seguir são apresentados gráficos *Box-plot*, retratando a distribuição das eficiências de remoção de compostos nitrogenados para cada condição operacional testada (Figuras 23, 24 e 25). Para obtenção de tais gráficos utilizou-se o software *Origin® 8.6*.

A ferramenta estatística *Box-Plot* permite a visualização da distribuição dos pontos amostrados, apresentando no box a mediana (50%), o primeiro quartil (25%) e o terceiro quartil (75%). Na zona externa ao box, são discriminados os valores máximos e mínimos da distribuição. Portanto, nesse tipo de representação, quanto maior a altura do box interior, maior é a heterogeneidade da amostra; acarretando diretamente em maior desvio-padrão.



**Figura 23 – Gráfico *Box-plot* da distribuição da eficiência de remoção de N-total das quatro condições operacionais testadas.**

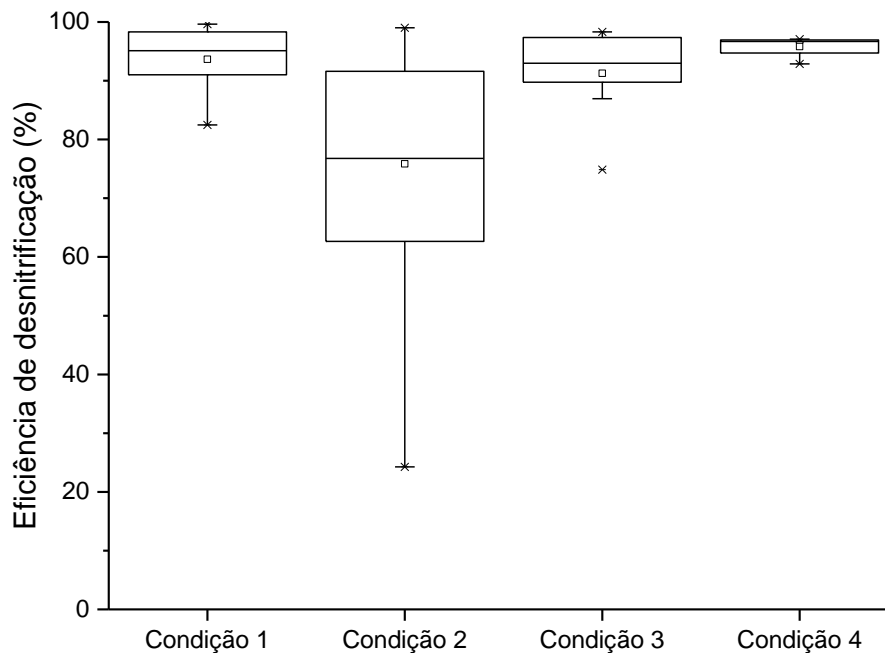
Pode-se observar pela Figura 23 que a eficiência de remoção de N-total foi mais expressiva nas condições de relação C/N mais reduzidas (Condições 3 e 4). Ademais, a altura do box nas Condições 3 e 4 foi inferior à altura do box nas Condições 1 e 2, indicando a maior homogeneidade dos dados e maior estabilidade do reator. Tal fato demonstra a influência da adaptação da biomassa no estabelecimento do processo combinado.



**Figura 24 – Gráfico *Box-plot* da distribuição da eficiência de nitrificação das quatro condições operacionais testadas.**

Como já discutido nos itens anteriores, a remoção de N-total foi incrementada à medida que houve redução na relação C/N. Desse modo, não houve evidências a cerca da influência da origem da fonte de carbono sobre o processo de remoção, o que é comprovado pela similaridade na eficiência de remoção tanto na operação com sacarose quanto na operação com peptona de carne.

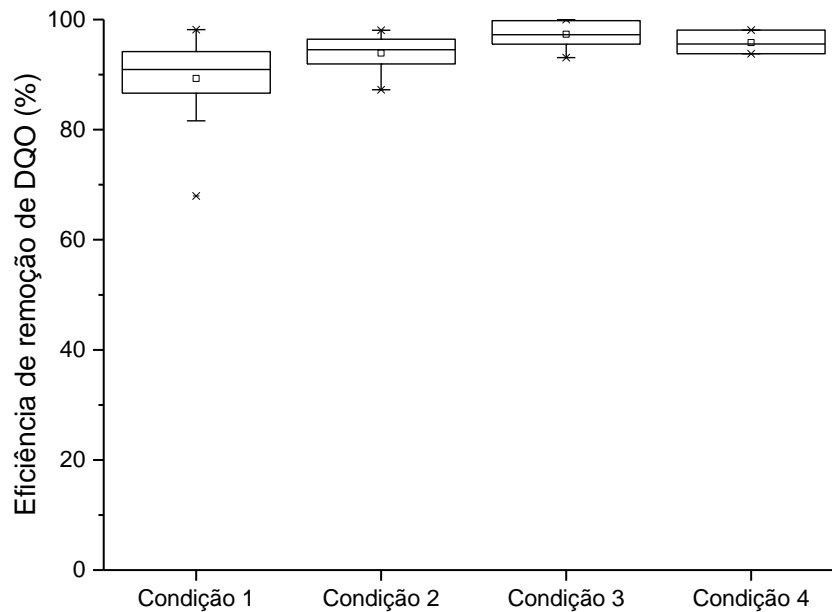
Na Figura 24 pode-se observar que o efetivo controle da aeração do sistema aliado aos descartes contínuos do material em suspensão formado no reator, proporcionaram grande estabilidade na nitrificação a partir da Condição 2. Essa estabilidade garantiu altas eficiências de oxidação de NTK nas Condições 2, 3 e 4, indicando que a nitrificação não foi o fator limitante na remoção de nitrogênio. Além de que, como discutido no item 5.3, a oxidação de NTK aumentou à medida que a relação C/N foi reduzida.



**Figura 25 – Gráfico *Box-plot* da distribuição da eficiência de desnitrificação das quatro condições operacionais testadas.**

A representação *Box-plot* da Figura 25 permite afirmar que a desnitrificação foi otimizada nas Condições 3 e 4, possivelmente pelo estabelecimento do processo anammox, como já discutido anteriormente. Apesar da Condição 1 ter apresentado alta eficiência de desnitrificação e significativa estabilidade, a nitrificação foi a etapa limitante para a remoção de N-total.

O *Box-plot* representado na Figura 26 mostra a eficiência de remoção de DQO para todas as condições operacionais testadas no experimento.



**Figura 26– Gráfico *Box-plot* da distribuição da eficiência de remoção de DQO das quatro condições operacionais testadas.**

O sistema se manteve eficiente na remoção de DQO ao longo de todo o período experimental, com eficiências de remoção superiores a 90%. Tais resultados indicam a estabilidade e robustez do sistema para remoção de matéria orgânica, como já relatado por Moura (2011). Além disso, a altura do box em todas as condições é relativamente pequena, sinalizando a homogeneidade dos dados.

Além da representação em *Box-plot*, foi utilizado o software *BioEstat*® para a avaliação da existência de diferença estatística entre as eficiências de remoção de N-total e de DQO nas condições experimentais 2, 3 e 4. Os dados da Condição 1 não foram considerados já que não houve o adequado controle das condições operacionais (concentração de OD). Primeiramente foi verificado se os dados obtidos são paramétricos (distribuição normal) ou não-paramétricos por meio do *Teste de Lilliefors* ( $\alpha=0,05$ ). Esse teste foi escolhido por possibilitar a análise da normalidade de amostras com números distintos de dados. A distribuição normal foi verificada em ambas as análises (eficiência de remoção de DQO e eficiência de remoção de N-total). Em seguida, foi aplicada a ferramenta *ANOVA: um critério*

e *Teste Tukey* ( $p=0,05$ ), a fim de verificar a existência de diferença estatística entre as eficiências de remoção das três condições testadas. A Tabela 28 ilustra a diferença estatística entre as eficiências de remoção de N-total e DQO para cada condição. As condições sinalizadas com o mesmo símbolo não apresentaram diferença estatística entre si.

**Tabela 28 - Diferença estatística entre as eficiências de remoção de N-total (letras minúsculas) e DQO (letras maiúsculas) de cada condição experimental.**

	<b>Condição 2</b>	<b>Condição 3</b>	<b>Condição 4</b>
Remoção de N-total	A	b	b
Remoção de DQO	A	A	A

Com relação à eficiência de remoção de N-total, observou-se que a fonte de carbono não influenciou no processo de remoção de nitrogênio no estudo em questão, uma vez que as Condições 3 e 4 não apresentaram diferença estatística entre si. Logo, o principal fator que influenciou a remoção de N-total foi a relação C/N. Como pode ser observado na Tabela 28, a condição com maior disponibilidade de matéria orgânica para a desnitrificação (Condição 2) teve comportamento estatístico diverso ao comportamento das demais condições (menor disponibilidade de doador de elétrons).

A análise estatística comparativa das eficiências de remoção de DQO mostrou que não houve diferença estatística entre as eficiências de remoção das condições 2, 3 e 4.

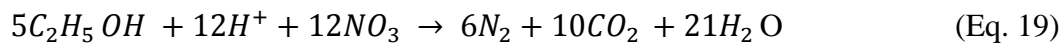
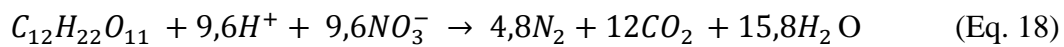
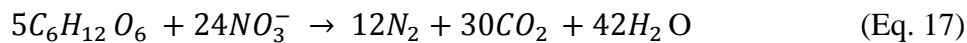
## **5.8 ESTIMATIVA DA DQO CONSUMIDA PELA DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA**

No item 5.2.3 comparou-se o montante de DQO removido no sistema com a DQO teórica requerida para as três primeiras condições experimentais. Isso foi feito com intuito de justificar a ocorrência de processos complementares de remoção de nitrogênio, comprovando que a carga de matéria carbonácea afluyente não era suficiente para garantir a desnitrificação de todo o NTK oxidado em condição de baixa relação C/N. Nesta comparação, considerou-se que o processo de desnitrificação heterotrófica ocorre, quando a relação  $DQO/N-NO_3^-$  é maior que 4 (PHILIPS; LAANBROEK; VERSTRAETE, 2002).

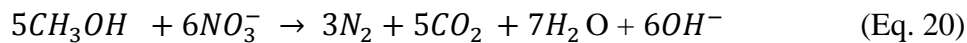
Com objetivo de fundamentar a ocorrência de processos complementares de remoção de N-total em reator de leito estruturado, foram realizados cálculos estequiométricos de demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica utilizando diversas fontes orgânicas. Vale ressaltar que para uma correta indicação do fluxo de elétrons, todos cálculos de demanda

requeridas foram feitos em termos de DQO. Primeiramente, as demandas foram determinadas para compostos orgânicos simples (glicose, sacarose e etanol) e em seguida, para compostos mais complexos (metanol e acetato).

Segundo Philips; Laanbroek e Verstraete (2002) a desnitrificação via nitrato com glicose como fonte de carbono é dada pela equação 17. As reações de desnitrificação utilizando sacarose e etanol estão representadas nas equações 18 e 19, respectivamente.



De acordo com Metcalf e Eddy (2003) as reações de desnitrificação com nitrato como aceptor de elétrons e metanol e acetato como fontes de carbono são dadas pelas equações 20 e 21, respectivamente.



A Tabela 29 relaciona a DQO requerida teoricamente para desnitrificação heterotrófica em cada uma das condições experimentais, utilizando cada um dos cinco compostos orgânicos listados como doadores de elétrons.



**Tabela 29 - Cálculos estequiométricos de demanda por elétrons para desnitrificação heterotrófica utilizando diversas fontes orgânicas.**

Condição	DQO removida (mg.L <sup>-1</sup> )	Concentração de DQO requerida para desnitrificação heterotrófica (mg.L <sup>-1</sup> )				
		Glicose	Sacarose	Etanol	Metanol	Acetato
1	436	76	81	81	98	122
2	460	116,6	124	124	151	187
3	476	429	456	458	555	688
4	506	420	447	448	543	674

Observando os resultados dos cálculos estequiométricos nota-se que para compostos orgânicos mais simples (glicose, sacarose e etanol), a concentração de DQO afluente seria “teoricamente” suficiente para garantir a demanda por elétrons para desnitrificação de todo o NTK oxidado no sistema. Isso foi observado porque os valores de DQO requerida mantiveram-se abaixo da DQO removida.

Todavia, quando os cálculos das demandas consideram compostos mais complexos, como metanol e acetato, observa-se o déficit de doadores de elétrons para desnitrificação heterotrófica sob baixa relação C/N (Condições 3 e 4). Os fatores de equivalência oxigênio/nitrato (também expresso como relação DQO/N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) para o metanol e o acetato foram de 3,47 e 4,3 mg DQO.mg<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Esta observação vem de acordo com os resultados obtidos na comparação realizada no item 5.2.3, os quais levaram em consideração que em sistemas de tratamento em escala real, o processo de desnitrificação heterotrófica ocorre quando a relação DQO/N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> é maior que 4.

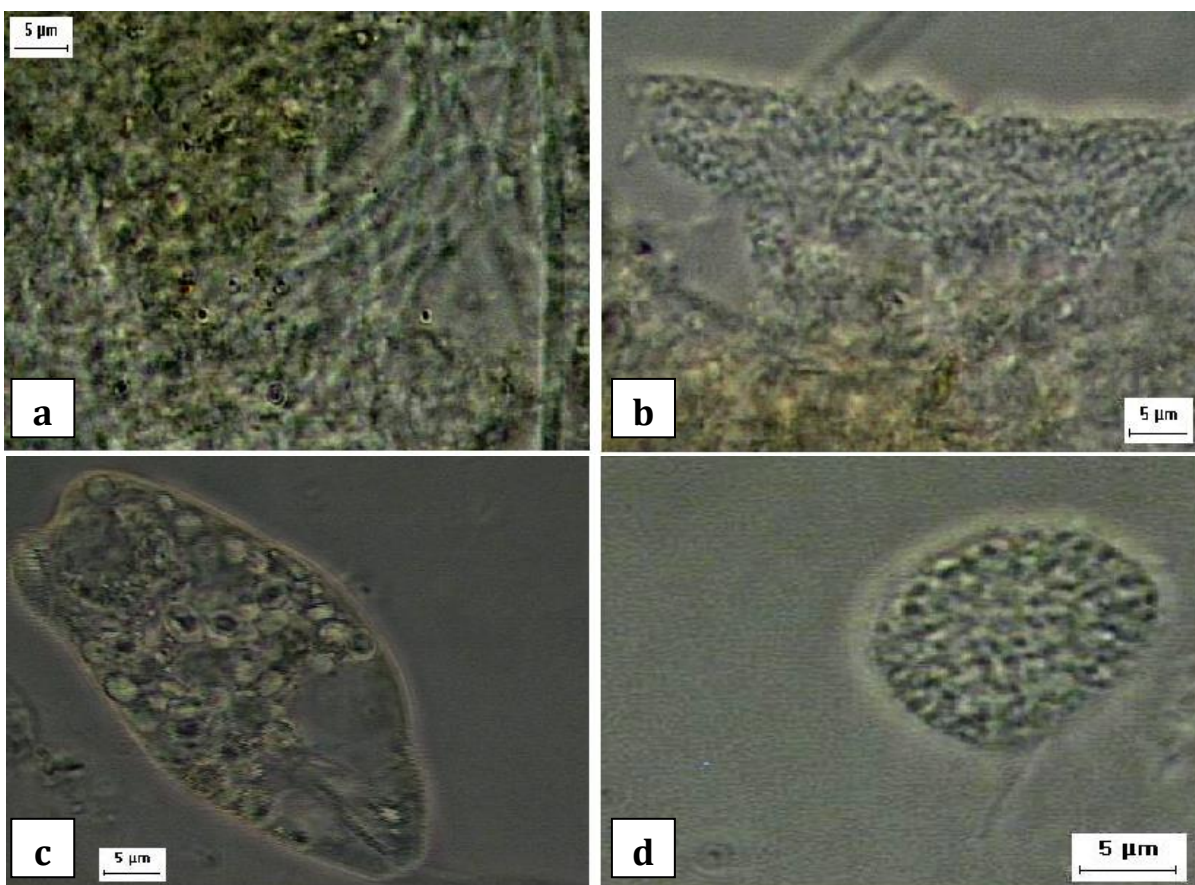
Outra questão que merece ser pontuada é que, as demandas teóricas para desnitrificação heterotrófica de todo o NTK oxidado nas condições de baixa relação C/N só seriam garantidas, se a remoção de matéria orgânica pelas bactérias aeróbias heterótrofas não estivesse presente no sistema estudado. E isto não ocorreu, uma vez que o aporte de oxigênio no sistema não foi totalmente interrompido (aeração intermitente). Sabe-se que o oxigênio é o aceptor preferencial dos microrganismos, devido ao maior ganho de energia do metabolismo aeróbio perante os demais.

## 5.9 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### 5.9.1 MICROSCOPIA ÓPTICA

Os exames de microscopia óptica apresentados neste trabalho foram realizados a partir de amostras de biofilme coletadas em condições opostas de operação (relação C/N de  $9,7\pm 1,0$  e  $2,9\pm 0,4$ ; ambas com sacarose como fonte de carbono). As coletas de amostras foram realizadas no 68° e 243° dias de operação. Desta maneira, foi possível correlacionar o estabelecimento da comunidade microbiana em cada uma dessas fases com as condições operacionais as quais o reator foi submetido.

A partir da análise da biomassa presente na espuma de poliuretano ao final da Condição 1 e da Condição 4, pode ser verificada a presença de microrganismos de interesse para o processo de tratamento obtido no sistema, como apresentado nas Figuras 27 e 28.



**Figura 27 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 1 (68° dia de operação): (a) emaranhado de bactérias filamentosas; (b) organismos zoogloeais; (c) protozoários flagelados; (d) cocos.**

Na Figura 27 observou-se a presença de diversos microrganismos em meio a bactérias filamentosas (a) e também a presença de cistos e de protozoários, como o que está

evidenciado em (c), que é um protozoário flagelado. Tal diversidade já era esperada, uma vez que o inóculo utilizado neste reator foi obtido a partir da mistura de lodos biológicos de sistemas estáveis para remoção de matéria orgânica de origem proteica e de nitrogênio. Em (b) foi possível observar a presença de organismos semelhantes a *Zoogloea* sp., característicos de sistemas com elevadas relações F/M, especialmente se o resíduo contém compostos orgânicos solúveis facilmente biodegradáveis (JENKINS et al., 2003). Tais microrganismos são típicos de condições desnitrificantes e têm papel fundamental na formação do biofilme. Organismos semelhantes a *Zoogloea* sp. também foram identificados em amostras de biofilme do sistema de tratamento de Nocko (2008) e Fu et al.(2010).

Além disso, foi possível observar em (d) a presença de aglomerados de cocos, com morfologia semelhante a *Nitrosococcus* (Bergey, 1989). Estes microrganismos são importantes pela capacidade de oxidar N-amoniaco (RITTMANN e MCCARTY, 2001; METCALF e EDDY, 2003), realizando a nitrificação do meio sintético afluente.

A Figura 28 apresenta as morfologias microbianas encontradas em amostra retirada no 243º dia de operação do reator.

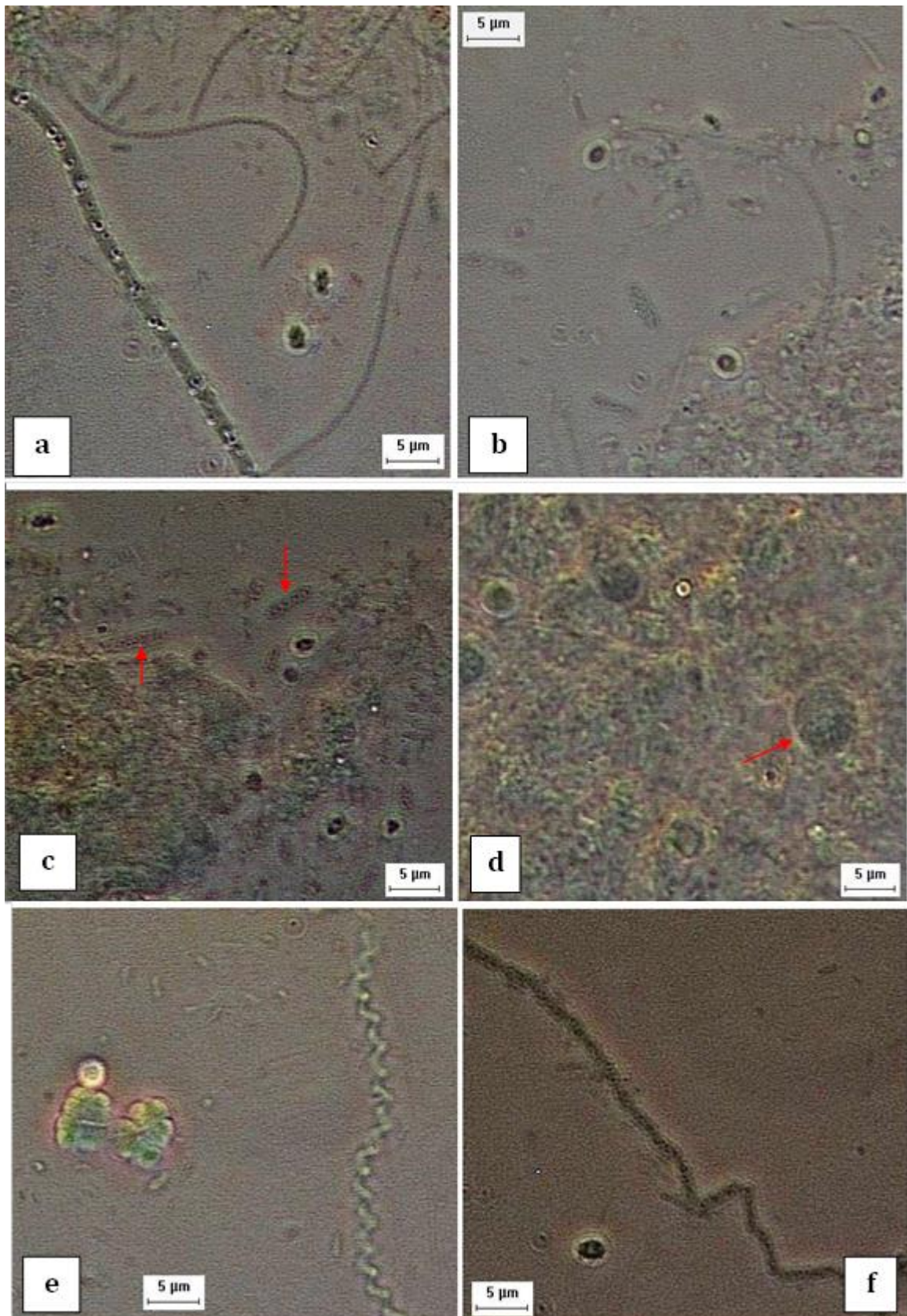


Figura 28 - Imagens da microscopia óptica realizada ao final da Condição 4: (a) bactérias filamentosas semelhantes a *Beggiatoa* sp. e *Sphaerotilus natans*; (b) cocos; (c) bacilos desnitrificantes (seta); (d) “clusters” semelhantes a *Anammox* (seta); (e) *Sarcina* e espiroqueta; (f) bactérias fototróficas anoxigênicas.

A

A Figura 28 mostra os principais microrganismos visualizados na microscopia óptica da amostra de biofilme da Condição 4. Pode-se observar maior diversidade de microrganismos envolvidos com os processos de interesse na amostra da Condição 4 do que na Condição 1. Na microscopia óptica foi observada a presença de amebas, cistos de protozoários, bactérias fototróficas anoxigênicas (f), espiroquetas e bactérias semelhantes à sarcinas (e). Tal fato é resultado do maior tempo de operação do sistema e da adaptação da biomassa à menor disponibilidade de matéria orgânica prontamente biodegradável.

Assim como na Condição 1, em (b) foram observadas bactérias nitrificantes, representadas pelos aglomerados de cocos, com morfologia semelhante a *Nitrosococcus*. Além disso, observou-se a presença de microrganismos armazenadores de grânulos intracelulares, seguindo dois padrões de inclusões: inclusões de grânulos maiores (a) e inclusões de pequenos grânulos (c). Em (c) podem ser observados bacilos acumuladores de material de reserva .

Já em (a), foi constatada a presença de bactérias filamentosas semelhantes à *Beggiatoa* sp., assim como no trabalho de Ono (2007). Tal grupo é capaz de acumular enxofre elementar e é encontrado em ambientes de microaerofilia. O acúmulo intracelular de enxofre elementar foi identificado devido o brilho das estruturas microbianas, facilmente observadas na microscopia.

Devido à baixa disponibilidade de matéria orgânica nas Condições 3 e 4, aglomerados de cocos semelhantes à morfologia do grupo anammox foram observados (d). Pode-se notar que tais bactérias estão agregadas em *clusters*. O crescimento em *clusters* é uma alternativa adotada por bactérias de crescimento mais lento, que tem por objetivo reduzir as perdas de catabólicos e anabólicos para o ambiente exterior (OP DEN CAMP; JETTEN; STROUS, 2007).

Logo no início do período experimental, foi observada a formação de quantidade significativa de material em suspensão. Com o intuito de avaliar a presença ou não de material biológico, foram realizados exames microscópicos de amostras desse material. As Figuras 29, 30 e 31 apresentam as estruturas encontradas em amostras de biomassa suspensa das Condições 1 e 4, respectivamente.



**Figura 31 – Imagem da microscopia de material em suspensão retirado no 25º dia de operação do reator (Condição 1): emaranhado de bactérias filamentosas semelhantes ao gênero *Sphaerotilus natans*.**

O material em suspensão presente na Condição 1 era formado essencialmente por bactérias filamentosas semelhantes ao gênero *Sphaerotilus natans* (Figura 29). Segundo Jenkins et al. (2003), o comprimento dos filamentos dessas bactérias pode variar de 100 a 500  $\mu\text{m}$ , sendo que as células são septadas e firmemente embaladas na bainha. Além disso, sua presença pode ser indicativa de deficiência de fósforo.

As Figuras 30 e 31 mostram as morfologias celulares presentes em amostra da biomassa em suspensão retirada na Condição 4.



Figura 32 - Imagem da microscopia de material em suspensão retirado ao final do período experimental (Condição 4): filamentosa semelhante a *Beggiatoa* sp. (a); célula semelhante a *Desulfosarcina* sp. (b).

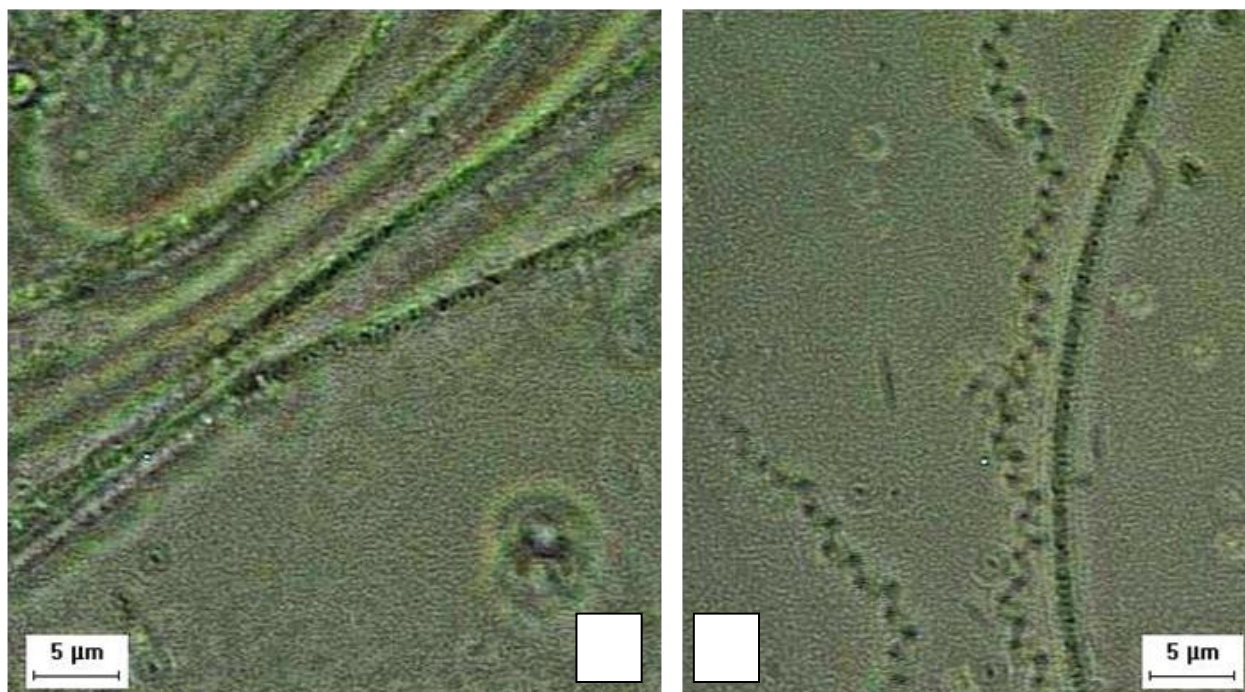


Figura 33 – Imagem da microscopia de material em suspensão retirado ao final do período experimental (Condição 4): emaranhado de bactérias semelhantes a *Sphaerotilus natans* (a); bactérias com morfologia espiroqueta (b).

Ao final do período de operação observou-se uma maior diversidade microbiana na biomassa suspensa do reator (Figuras 30 e 31). Na Figura 30 (a) foi constatada a presença de bactérias filamentosas semelhantes à *Beggiatoa* sp., capazes de acumular grânulos intracelulares de enxofre elementar. Os filamentos dessa bactéria são lineares ou suavemente curvados e podem se desenvolver na superfície do biofilme (Figura 28 (a)) ou dispersos na suspensão. O comprimento típico dos filamentos é de 100 a 500  $\mu\text{m}$ , com 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro (JENKINS et al., 2003). O aspecto levemente esbranquiçado do reator, como mostra a Figura 32, é decorrente do acúmulo de grânulos intracelulares de enxofre. Isso é resultado da ampla proliferação dessa bactéria no meio líquido.



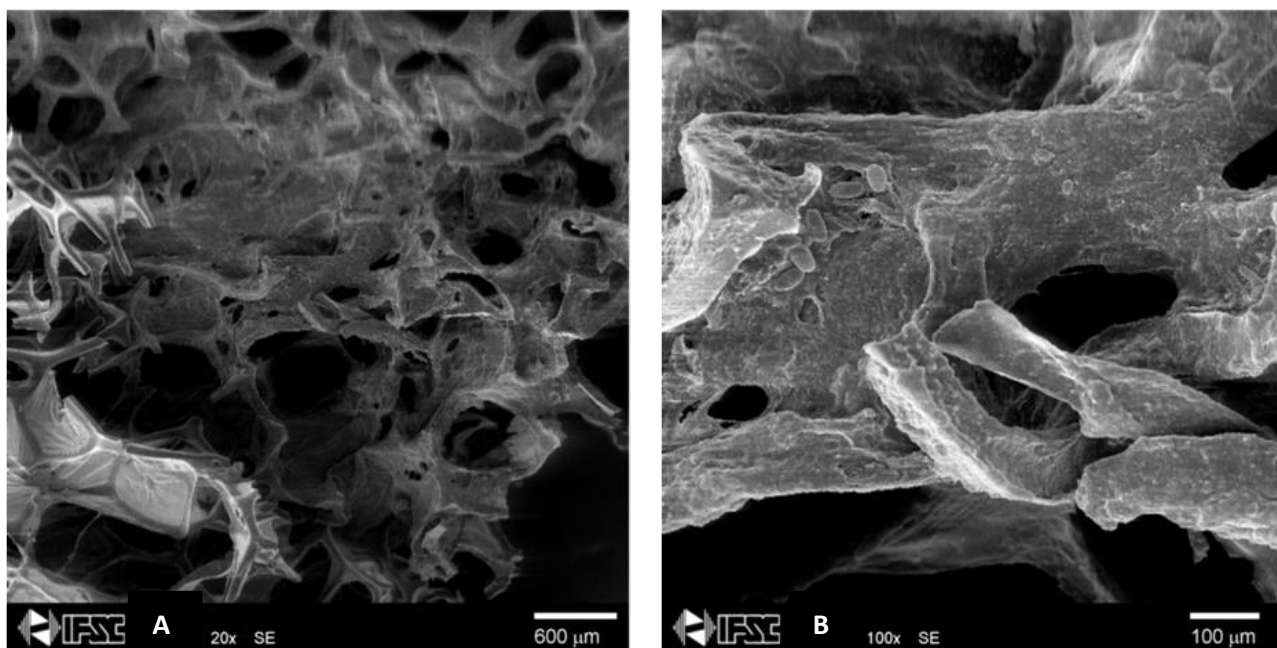
**Figura 34– Fotografia do reator no final da Condição 4, destaque para o aspecto esbranquiçado do material em suspensão.**



Pelas características morfológicas associadas à não fluorescência, foi possível visualizar na Figura 30 (b) célula semelhante ao gênero *Desulfosarcina* sp.. Esses microrganismos têm metabolismo quimiorganotrófico ou quimioautotrófico, utilizando formiato, acetato, propionato, butirato, benzoato ou compostos aromáticos similares como doadores de elétrons para respiração anaeróbia e também como fontes de carbono, os quais são oxidados completamente a dióxido de carbono (WIDDEL & PFENNIG, 1984). Devido à deficiência de oxigênio dissolvido no meio, pode ser verificada a presença de organismos responsáveis pelo metabolismo de compostos sulfurados, tais como: *Beggiatoa* sp e *Desulfosarcina* sp.. Além disso, bactérias filamentosas do gênero *Sphaerotilus natans* (Figura 31 (a)) e bactérias heterotróficas de morfologia espiroqueta (Figura 31 (b)) também foram identificadas.

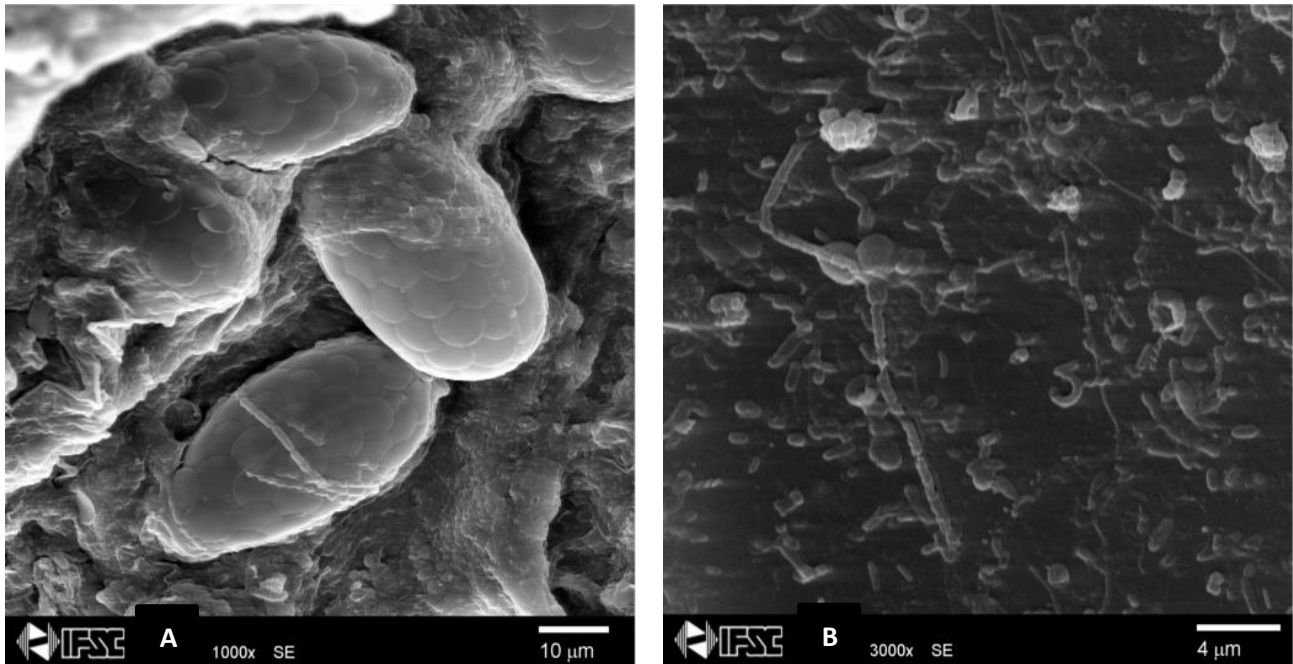
### 5.9.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Os exames de microscopia eletrônica de varredura apresentados neste trabalho foram realizados a partir de amostras de biofilme coletadas ao final do período de operação do reator. Assim, foi possível avaliar o desenvolvimento da biomassa aderida no meio suporte, correlacionando a distribuição dos microrganismos e suas características metabólicas de acordo com sua distribuição espacial na espuma. A Figura 33 mostra a colonização microbiana da parte superior do meio suporte.



**Figura 35 – Imagem geral da colonização microbiana na espuma de poliuretano (A), visualização da colonização microbiana sobre paredes dos poros da espuma de poliuretano (B).**

A seguir são apresentados os principais grupos de microrganismos visualizados pela técnica MEV.



**Figura 36 –** Imagens da microscopia eletrônica de varredura de amostras coletadas ao final da Condição 4: *Euglypha tuberculata* (A); bactéria filamentosa, cocos e bacilos (B).

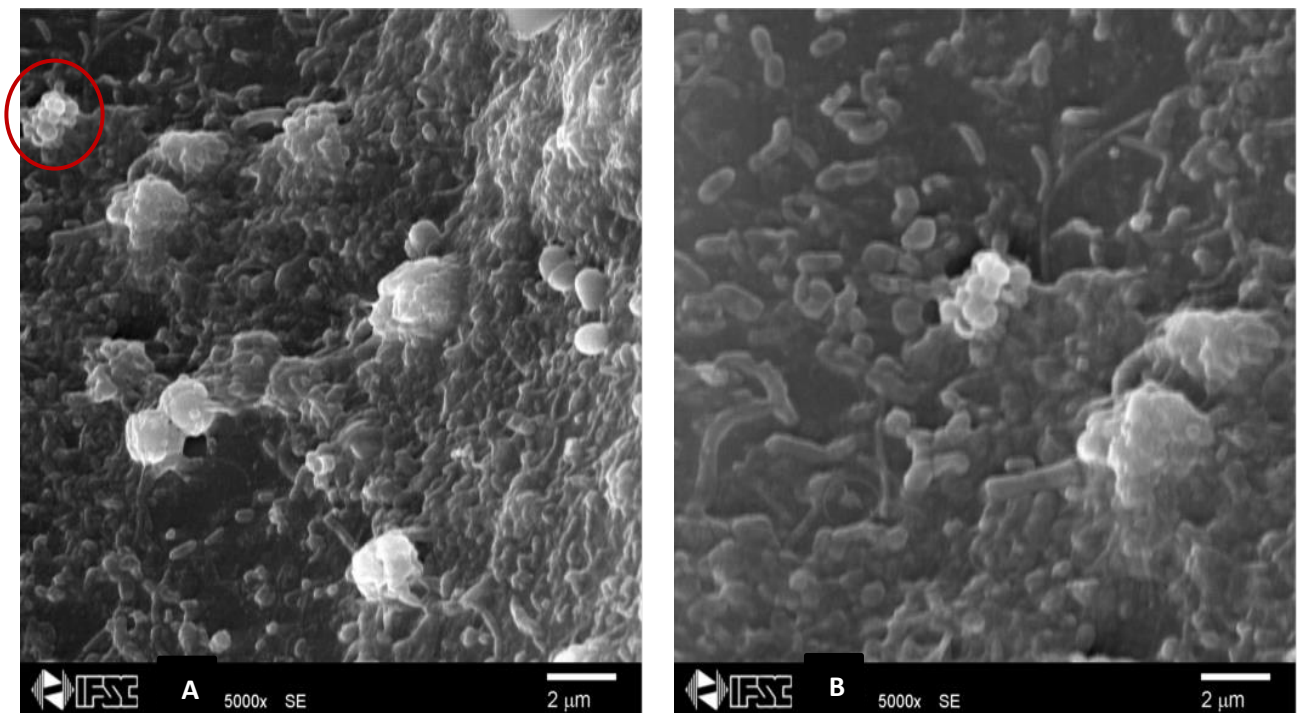
Amebas semelhantes ao gênero *Euglypha tuberculata*, microrganismo caracterizado pela ausência de carapaça e pelo revestimento celular formado por escamas sobrepostas, foram identificadas na região mais superficial do biofilme (Figura 34 A). Segundo Canler et al. (1999)<sup>4</sup> apud Fernandes et al. (2013), a presença de *Euglypha tuberculata* é indicativa da ocorrência de nitrificação, uma vez que esse grupo microbiano é sensível à altas concentrações de matéria orgânica e amônia. Devido seu comportamento alimentar, tais microrganismos estão ligados à manutenção da densidade e juventude da comunidade bacteriana (predação). Dessa maneira, pode-se afirmar que a presença desse grupo sinaliza a boa qualidade do efluente final.

Em (B) observou-se a presença da bactéria heterotrófica filamentosa semelhante a *Sphaerotilus natans*. Como já dito no item anterior, esse microrganismo está associado à condição de microaeração e de deficiência de fósforo (JENKIS et al., 2003). Além disso, foi

<sup>4</sup> CANLER, J.P.; PERRET, J. M.; DUCHÈNE, P.; COTTEUX, E. **Aide au diagnostic des stations dépuración par l'observation microscopique des boues activées**. Copyright Cemagref Éditions, 1999.

possível observar em (B) a presença de aglomerados de cocos, com morfologia semelhante a *Nitrosococcus* (BERGEY, 1989). Tais microrganismos também foram visualizados nos trabalhos desenvolvidos por Moura (2011) e Nocko (2008), os quais operaram reatores utilizando espuma de poliuretano como meio suporte para a remoção biológica de nitrogênio.

A Figura 35 retrata a diversidade microbiana presente na área mais interna do biofilme.

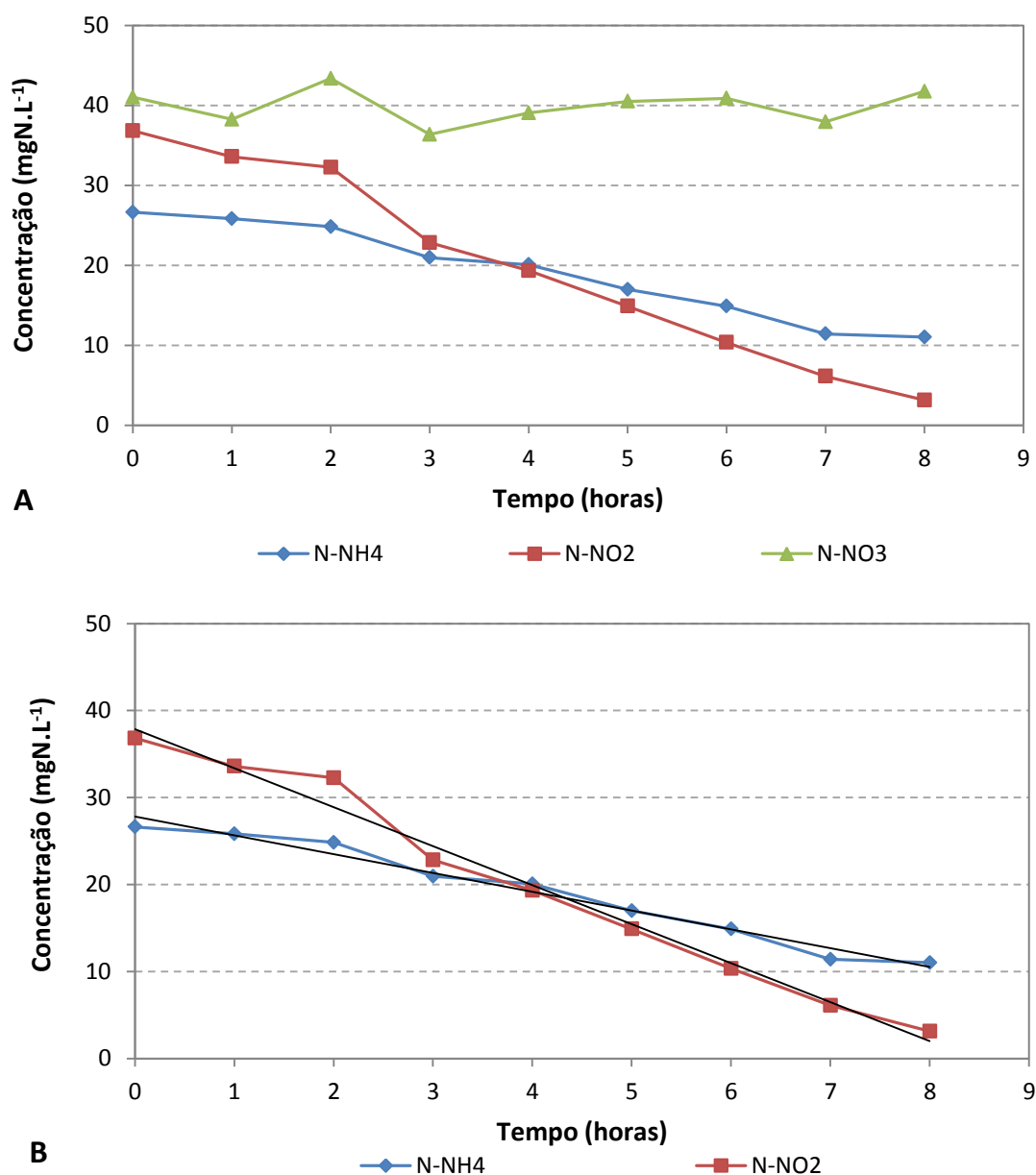


**Figura 37 - Imagem da comunidade microbiana presente nas zonas mais internas do biofilme (A); ampliação da área circulada na imagem anterior, com ênfase nas bactérias anammox (B).**

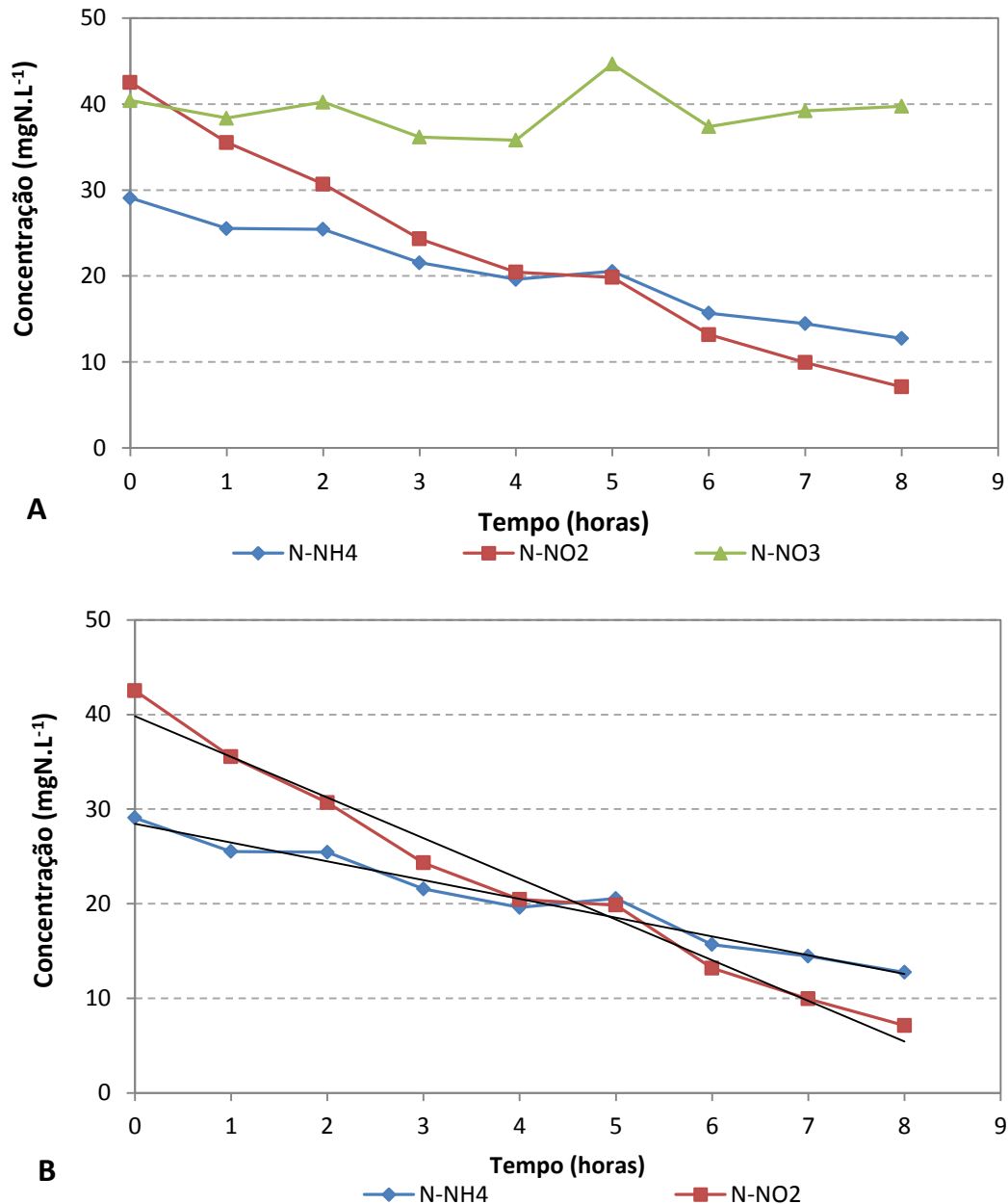
Pode-se observar a grande quantidade de bacilos e a presença de cocos (dispostos em pontos isolados). A área circulada em (A) foi ampliada e melhor visualizada em (B). O que chama atenção nessa última figura é o aglomerado central de cocos semelhante às bactérias anammox, agregadas em *clusters*. A partir da observação espacialmente direcionada, obtida pela aparelhagem da microscopia eletrônica de varredura, pode-se comprovar a existência das bactérias anammox no interior do biopartícula.

### 5.10 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANAMMOX

Para avaliar a presença do metabolismo anammox, realizaram-se testes com biomassa retirada no 211º dia de operação (Condição 3), submetendo-a à alimentação com meio nutriente específico. O consumo médio de N-nitrito e N-amoniaco em condições anóxicas nos reatores que foram agitados (ensaio 1) e naqueles que permaneceram em repouso (ensaio 2) está exemplificado nas Figuras 36 e 37, respectivamente.



**Figura 38 – Variação temporal na concentração dos compostos nitrogenados no ensaio 1(a); Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para consumo de N-amoniaco e N-nitrito no ensaio 1 (b).**



**Figura 39 – Variação temporal na concentração dos compostos nitrogenados no ensaio 2 (a); Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para consumo de N-amoniaco e N-nitrito no ensaio 2 (b).**

Conforme pode ser visualizado nas Figuras 36 e 37, a hipótese de ocorrência do processo anammox, como via complementar à desnitrificação heterotrófica, foi confirmada. Após 131 dias de operação, Barana et al. (2013) também observaram o desenvolvimento do metabolismo anammox em reator de leito fixo e estruturado, operando com baixa disponibilidade de matéria orgânica para desnitrificação heterotrófica.

A cinética de decaimento obtida para o processo anammox em ambos os ensaios foi de ordem zero. A atividade anammox específica (AAE, também chamada de velocidade

específica de consumo de N-amoniaco) obtida para os ensaios 1 e 2 foi de 9,78 e 9,42 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, respectivamente. A velocidade de consumo de N-nitrito foi de 4,71 e 4,35 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> para os ensaios 1 e 2, respectivamente. Assim, pode ser observado o mesmo padrão de comportamento de consumo dos compostos nitrogenados em ambos os ensaios, o que permite inferir que a agitação não influenciou no estabelecimento do processo anammox.

Em ambos os ensaios foi observado que a concentração de N-nitrato manteve-se na ordem de 40 mg.L<sup>-1</sup>, muito próxima à concentração inicial adotada. Portanto, não foi verificado aumento na concentração deste composto, como era esperado quando se leva em conta a relação estequiométrica do metabolismo anammox. Isso pode ser explicado pelo fato de que apesar dos ensaios terem sido realizados em condições anammox, a biomassa presente no reator não era predominantemente anammox. Além disso, sabe-se que o N-nitrato é reativo, atuando como adequado acceptor de elétrons. Assim, o N-nitrato produzido pela via anammox pode ter sido utilizado em outras vias metabólicas, como por exemplo, a desnitrificação heterotrófica da matéria orgânica presente na espuma ou ainda, na ocorrência da desnitrificação endógena.

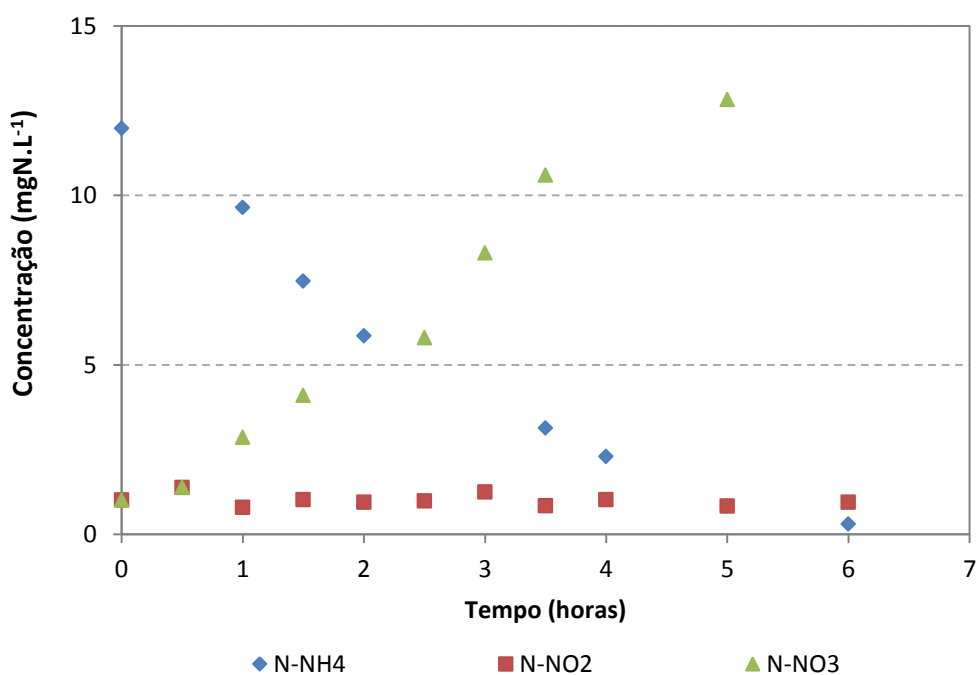
As reações anammox e da desnitrificação ocorrem em condições ambientais distintas. A ocorrência da atividade anammox está associada às concentrações específicas de amônia e nitrito. Ainda assim, pesquisadores têm obtido sucesso na combinação entre estes dois processos em ambientes naturais e em sistemas em escala piloto (DALSGAARD; THAMDRUP, 2002; KUMAR; LIN, 2010; KUYPERS et al., 2003). O crescimento aderido é a opção mais utilizada nos trabalhos disponíveis na literatura que buscam a coexistência do metabolismo desnitrificante e do metabolismo anammox (KUMAR; LIN, 2010). Esses sistemas são efetivos para o desenvolvimento das bactérias anammox mesmo sob concentrações de OD superiores a 0,5-0,7 mg.L<sup>-1</sup>, faixa estabelecida como adequada para o desenvolvimento desses organismos. O excesso de OD no sistema é metabolizado pelas bactérias oxidadoras de amônia e de matéria orgânica, que estão localizadas nas zonas mais superficiais do biofilme, permitindo o desenvolvimento das bactérias anammox nas zonas mais internas.

## 5.11 ENSAIOS CINÉTICOS

### 5.11.1 VELOCIDADE ESPECÍFICA DE NITRIFICAÇÃO

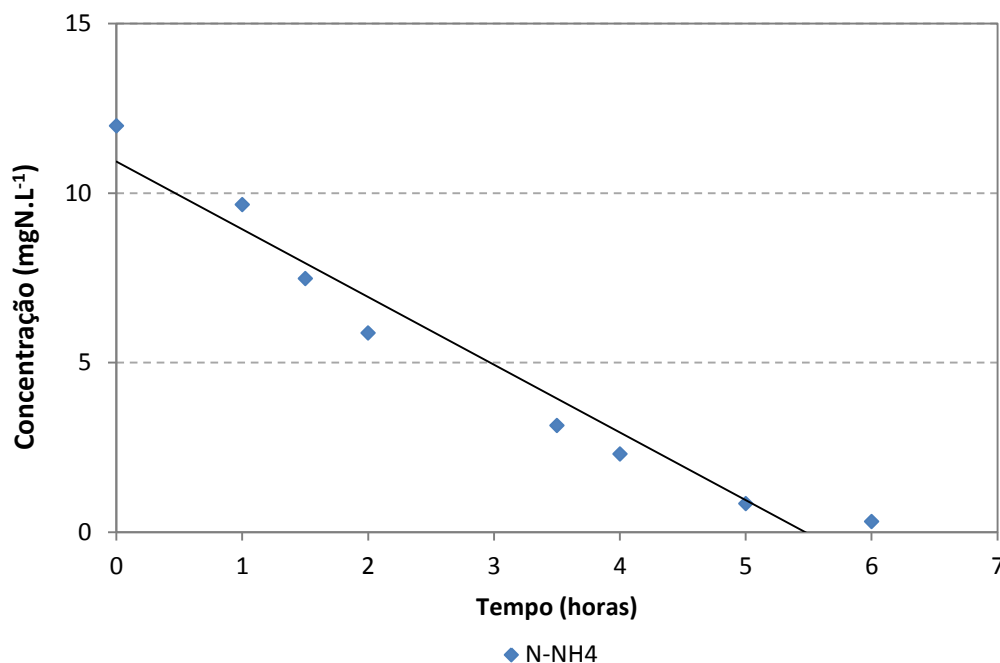
O perfil temporal para nitrificação via N-amoniacal com biomassa coletada na Condição 3 ( $C/N=2,9\pm 1$ ) está apresentado na Figura 38. Como houve problemas na quantificação das concentrações de  $N-NH_4^+$  via cromatografia iônica durante a Condição 2, os dados do ensaio cinético de nitrificação via N-amoniacal dessa condição não puderam ser computados.

A presença de N-nitrito foi observada durante o perfil, atingindo um pico máximo de  $1,39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Como esse valor máximo não foi significativo, ele pode ser desconsiderado do cálculo da velocidade de nitrificação.



**Figura 40 – Variação da concentração de N-amoniacal, N-nitrato e N-nitrito no perfil de nitrificação via N-amoniacal.**

O modelo de decaimento cinético de ordem zero foi o mais adequado para o ajuste dos dados obtidos, conforme fica evidenciado na Figura 39.



**Figura 41 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-amoniacal no ensaio de nitrificação via N-amoniacal.**

A velocidade específica de nitrificação via N-amoniacal obtida foi de  $5,48 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9535$ ).

Villaverde, García-Encina e Fdz-Polanco (1997) observaram que a concentração de amônia livre e a concentração de  $\text{N-NH}_4^+$  disponível influenciaram a velocidade de oxidação da amônia. Quando o pH do meio foi mantido em 8,2, a velocidade de nitrificação via N-amoniacal foi de  $15 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . A diferença entre as atividades nitrificantes obtidas no presente trabalho e por Villaverde, García-Encina e Fdz-Polanco (1997) ocorre possivelmente devido ao fato de que neste trabalho, a biomassa utilizada para o ensaio cinético não era formada exclusivamente por bactérias nitrificantes, mas sim por uma cultura microbiana mista. Tal fato também foi observado no trabalho de Moura (2011), o qual obteve velocidade de nitrificação via N-amoniacal de  $1,43 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

Além do ensaio de nitrificação via N-amoniacal, realizou-se ensaio cinético para obtenção da velocidade de nitrificação via N-nitrito. Este ensaio foi realizado em batelada utilizando biomassa retirada das Condições 2 (relação C/N de  $7,6 \pm 1$ ) e 3 (relação C/N de  $2,9 \pm 1$ ). As Figuras 40 e 41 mostram os perfis temporais obtidos para biomassa retirada do reator na Condição 2. Tais ensaios tiveram duração total de 6 horas e concentração inicial de N-nitrito de aproximadamente  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ .



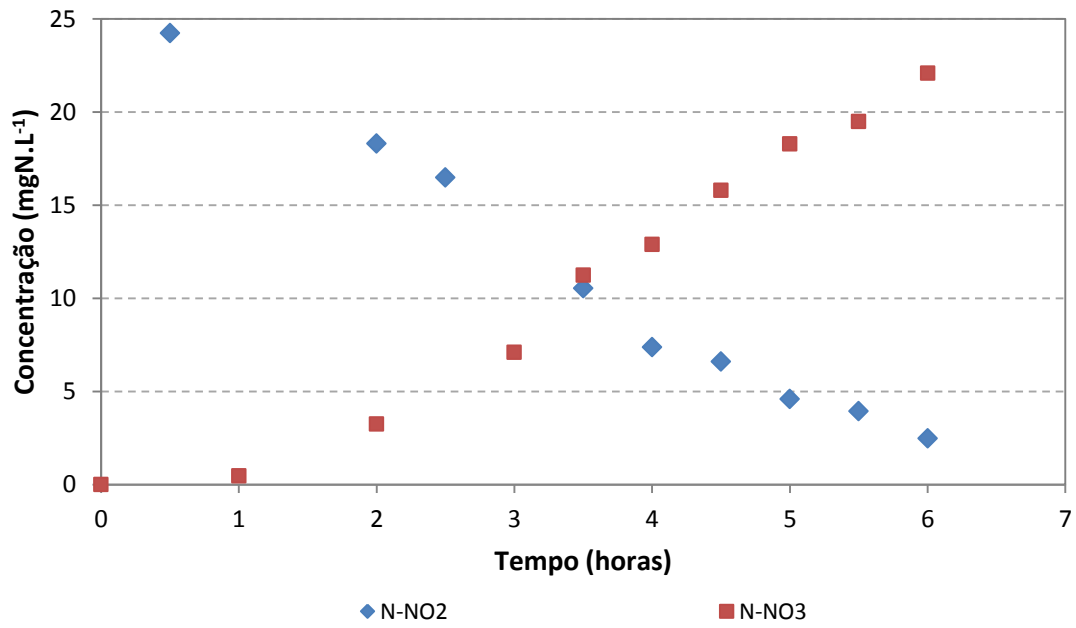


Figura 43 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 1 com biomassa da Condição 2.

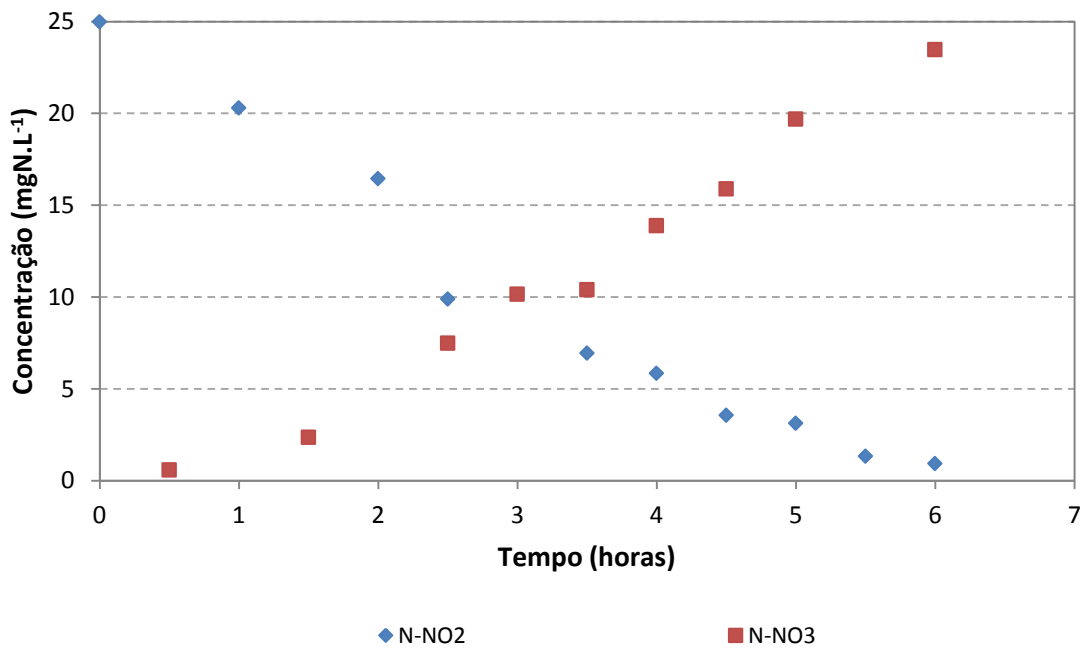
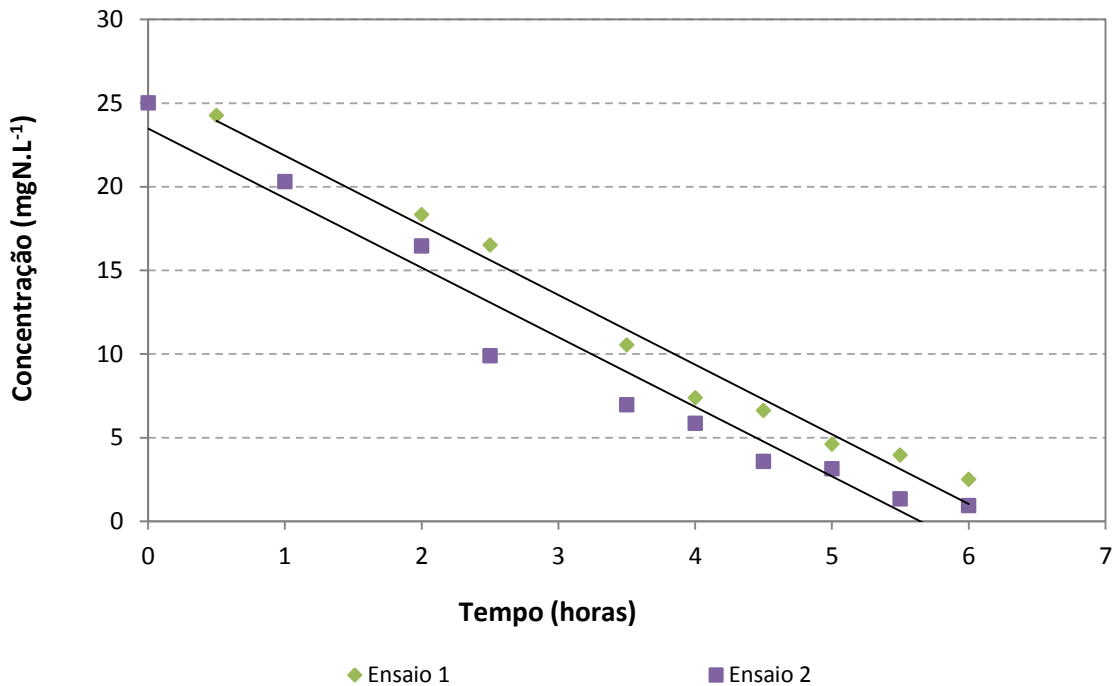


Figura 42 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 2 com biomassa da Condição 2.

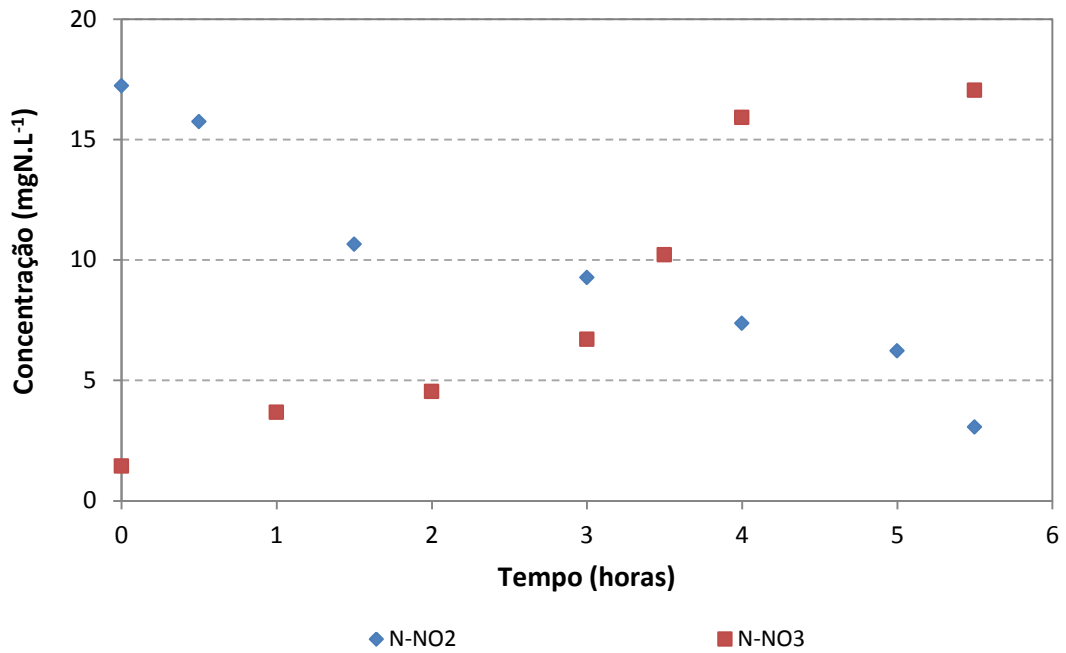
Os resultados dos dois ensaios também foram ajustados segundo modelo de decaimento de ordem zero. A Figura 42 mostra as retas de ajustes para cada ensaio.



**Figura 44 – Ajustes lineares do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrito nos ensaios 1 e 2 (biomassa retirada da Condição 2).**

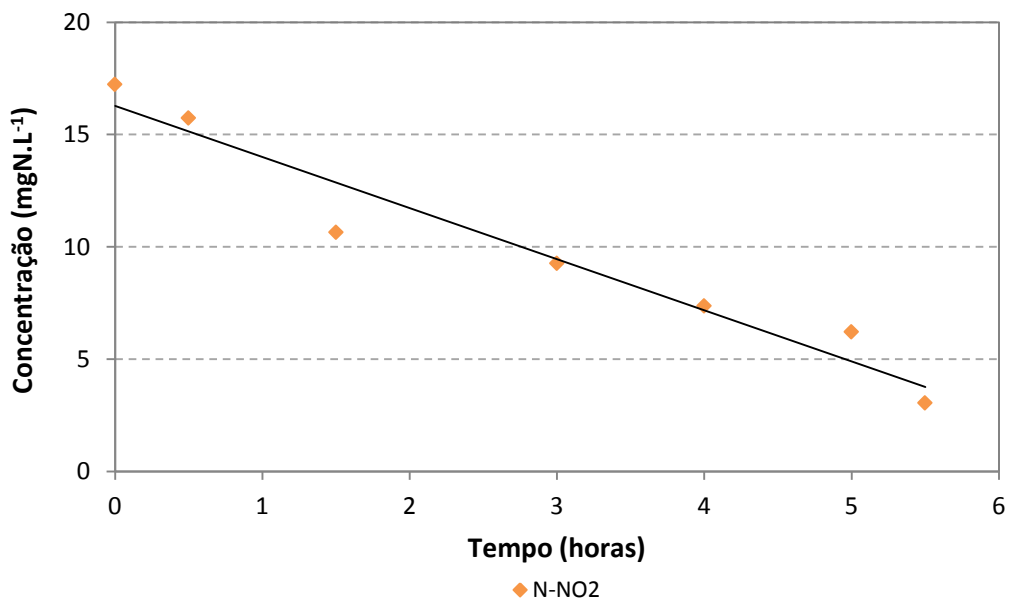
As velocidades específicas de consumo de N-nitrito e os respectivos coeficientes de correlação para os ensaios 1 e 2 foram:  $6,34 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9787$ ) e  $6,73 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9564$ ).

A Figura 43 mostra o perfil temporal da nitrificação via N-nitrito obtido com amostras de biomassa retiradas na 3ª condição operacional, ou seja, quando o sistema passou a ser alimentado com água residuária com menor relação C/N. O período de duração desse ensaio foi de 5,5 horas e a concentração inicial de nitrogênio na forma de N-nitrito foi de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$ .



**Figura 45 – Variação da concentração de N-nitrito e N-nitrato no perfil de nitrificação via N-nitrito realizado no ensaio 1 com biomassa da Condição 3.**

O modelo de decaimento cinético de ordem zero foi o mais adequado para o ajuste dos dados obtidos, conforme fica evidenciado na Figura 44.



**Figura 46 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrito no ensaio 1 (biomassa retirada da Condição 3).**

A velocidade específica de consumo de N-nitrito e seu respectivo coeficiente de correlação foi de 4,97 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,9454). Foi observado que para amostras de biomassa retiradas da Condição 3, a velocidade de oxidação de N-amoniacoal (5,48 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) foi superior à velocidade de oxidação de N-nitrito (4,97 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Observando as velocidades de consumo de N-amoniacoal e N-nitrito obtidas, pode-se notar que não houve acúmulo de N-nitrito no perfil de nitrificação via N-amoniacoal, garantindo o equilíbrio entre as duas etapas da nitrificação.

A Tabela 30 sintetiza as velocidades de nitrificação via N-amoniacoal e N-nitrito obtidas em diversos sistemas de remoção de nitrogênio, inclusive com os dados deste trabalho. Pode-se observar que os valores encontrados no trabalho em questão são similares aos disponíveis na literatura, reforçando a ideia de que a configuração de reator utilizada, aliada às adequadas condições operacionais, permitiu o estabelecimento de eficiente remoção de nitrogênio.

**Tabela 30 – Velocidades de nitrificação via N-amoniacoal e via N-nitrito em sistemas de remoção de nitrogênio.**

<b>Reator</b>	<b>Inóculo</b>	<b>Velocidade de nitrificação via N-amoniacoal (mg N. gSSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)</b>	<b>Velocidade de nitrificação via N-nitrito (mg N. gSSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)</b>	<b>Autores Reportados</b>
Reator de leito fixo e estruturado	Lodo anaeróbio+Lodo aeróbio	5,48	4,97	Este trabalho
SBR	Lodo de lagoa aeróbia	-	9,44	Chiu et al. (2007)
SBR	-	-	15	Pochana e Keller (1999)
SBR	Lodos ativados	-	3,0	Von Münch, Lant e Keller (1996)
Reator de leito fixo e estruturado	Lodo anaeróbio	1,43	1,3	Moura (2011)
Biofiltro	Lodo nitrificante	15	15-50	Villaverde, García-Encina e Fdz-Polanco (1997)

### 5.11.2 VELOCIDADE ESPECÍFICA DE DESNITRIFICAÇÃO HETEROTRÓFICA

A variação da concentração de N-nitrato e N-nitrito dos perfis cinéticos realizados para determinação da velocidade de desnitrificação está apresentada nas Figuras 45 e 46. Este ensaio foi realizado em duplicata, utilizando biomassa da Condição 2 ( $C/N=7,6\pm 1$ ).

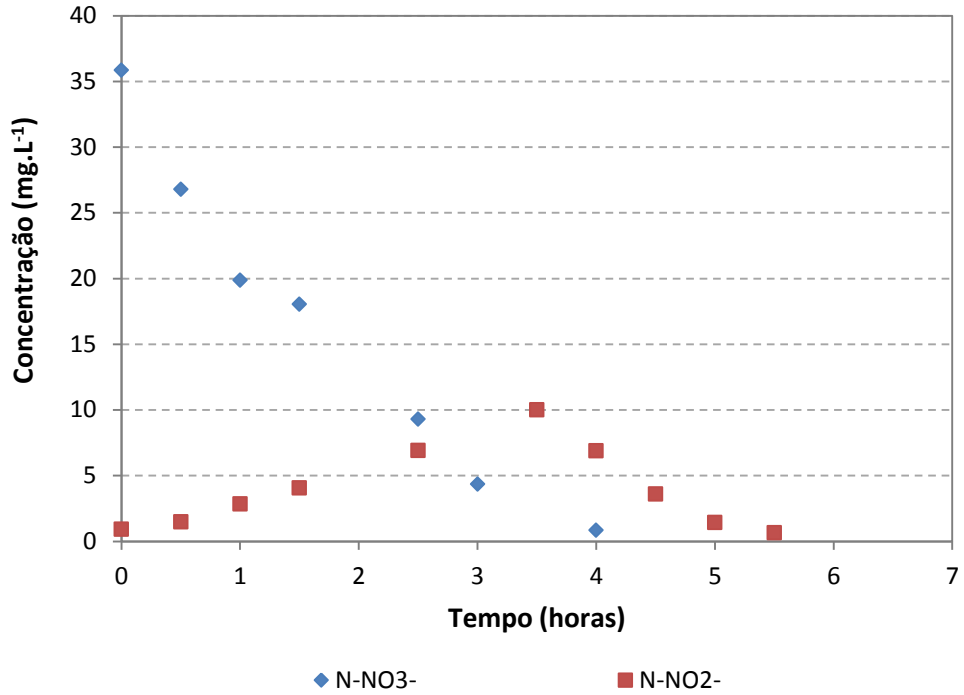


Figura 47 – Variação da concentração de N-nitrato e N-nitrito no perfil de desnitrificação heterotrófica realizado no ensaio 1.

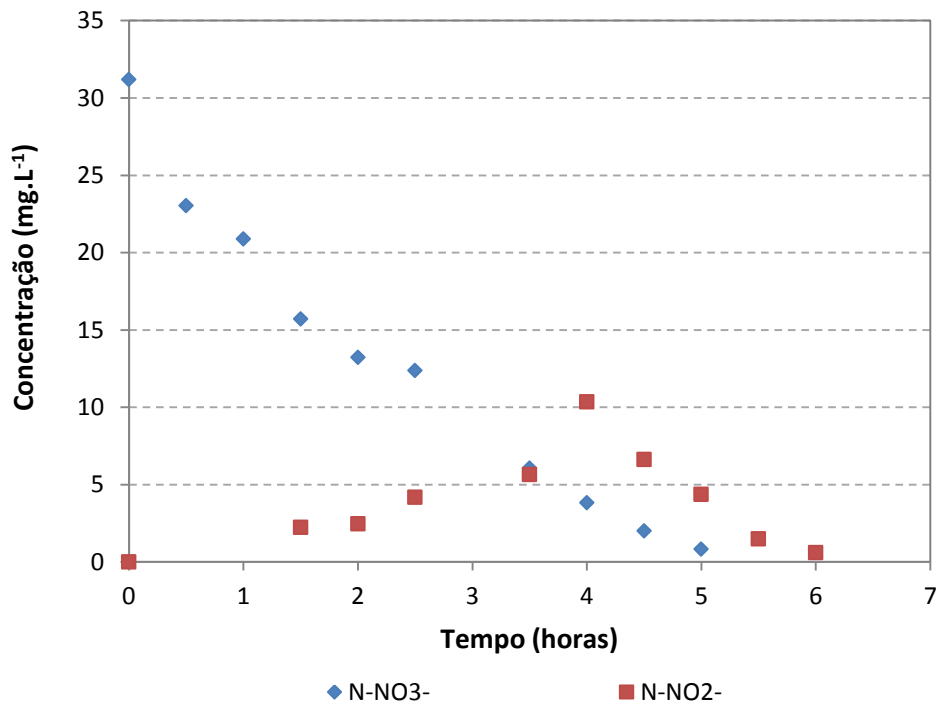
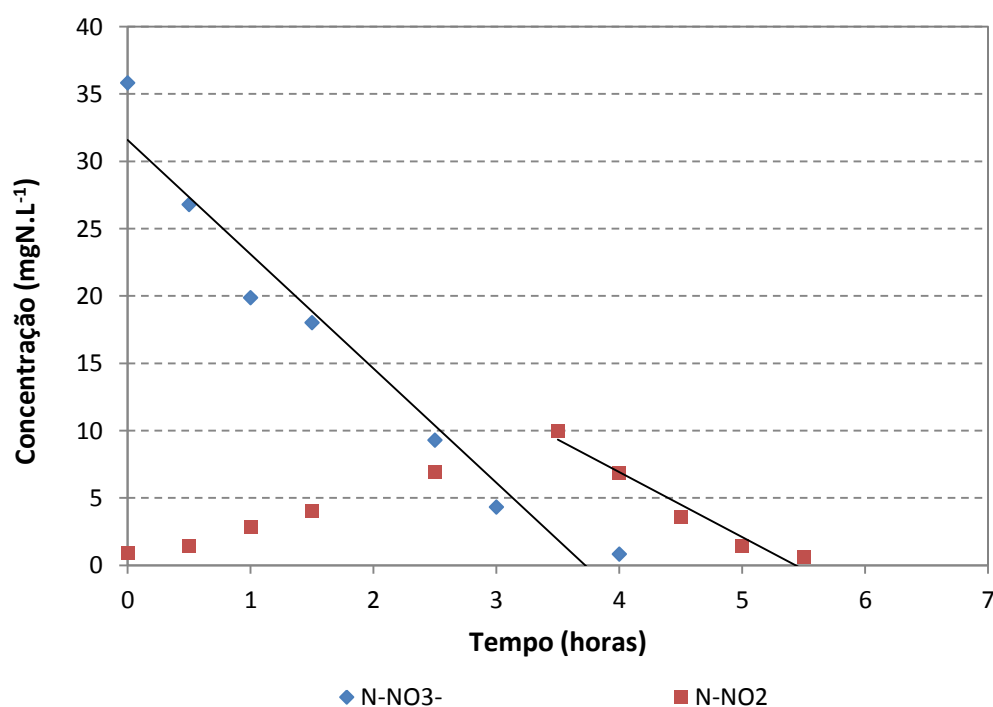


Figura 48 – Variação da concentração de N-nitrato e N-nitrito no perfil de desnitrificação heterotrófica realizado no ensaio 2.

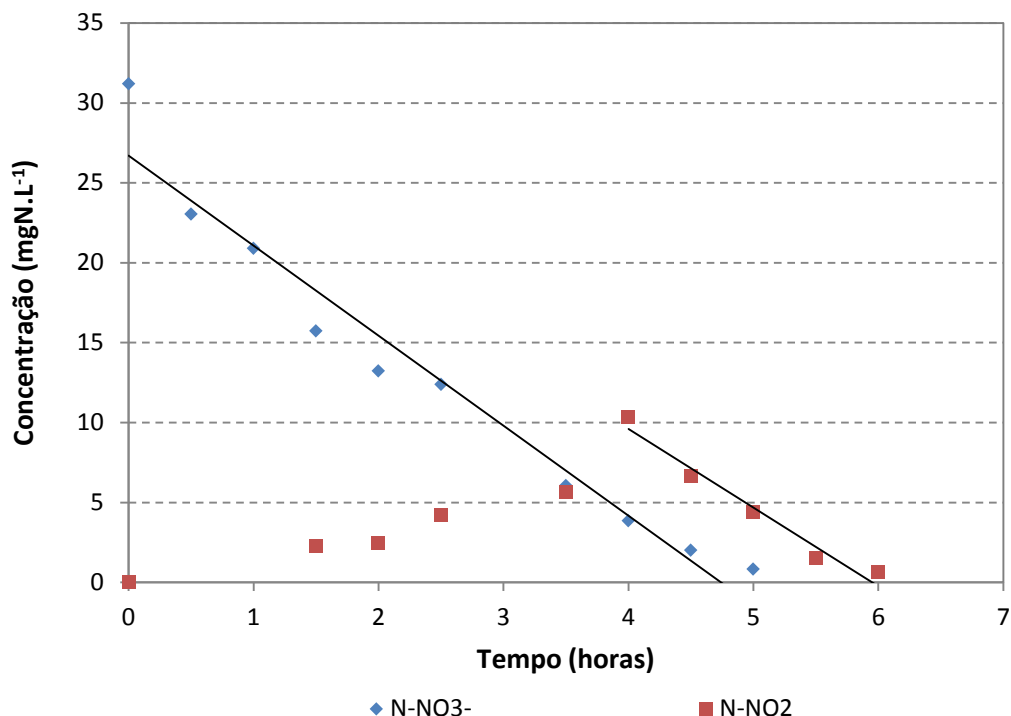
Como pode se observar, em ambos os ensaios ocorreu o consumo total do N-nitrato adicionado. Van Haandel e Marais (1999) afirmam que o tempo médio para desnitrificação em ambiente anóxico é inferior a 8 horas. No presente estudo, o tempo para o consumo total de N-nitrato para os ensaios 1 e 2 foi de 4 e 5 horas, respectivamente. Observou-se também o acúmulo de nitrito, atingindo ponto máximo em 3,5 horas no ensaio 1 e 4 horas no ensaio 2. A partir daí, o N-nitrito acumulado foi consumido, sendo que sua concentração foi zerada em 5,5 horas no ensaio 1 e em 6 horas no ensaio 2. Analisando o comportamento de consumo exibido pelo N-nitrato e N-nitrito pode-se afirmar que ambos apresentaram decaimento cinético de ordem zero. No caso do N-nitrito, esse comportamento foi identificado após o ponto de máximo acúmulo. As Figuras 47 e 48 retratam as linhas de tendências ajustadas para decaimento de N-nitrato e N-nitrito nos ensaios 1 e 2.



**Figura 49 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrato e N-nitrito no ensaio 1.**

No ensaio 1, a velocidade específica de conversão de N-nitrato a N-nitrito foi de  $8,6 \text{ mg N.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9531$ ) e a velocidade específica de conversão de N-nitrito a  $\text{N}_2$  foi de  $4,9 \text{ mg N.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9567$ ). Para o ensaio 2, a velocidade específica de conversão de N-nitrato a N-nitrito foi de  $6,6 \text{ mg N.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9568$ ) e a velocidade específica de conversão de N-nitrito a  $\text{N}_2$  foi de  $5,75 \text{ mg N.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9564$ ). A obtenção dessas velocidades permite comprovar que a produção de N-nitrito se deu em uma

velocidade superior à sua metabolização, acarretando em seu acúmulo conforme exposto nas Figuras 47 e 48.



**Figura 50 – Ajuste linear do modelo cinético considerando decaimento de ordem zero para remoção de N-nitrato e N-nitrito no ensaio 2.**

Com o intuito de verificar a confiabilidade dos resultados obtidos em cada um dos ensaios, realizou-se uma análise comparativa entre as velocidades específicas calculadas e a variação da concentração dos compostos nitrogenados nos ensaios em batelada. No caso do ensaio 1, o consumo teórico de N-nitrato, levando em consideração que este foi consumido em 4 horas com velocidade de  $8,6 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , foi de  $33,9 \text{ mg N.L}^{-1}$ , sendo esta concentração convertida a N-nitrito. Por outro lado, o consumo de N-nitrito neste mesmo período, considerando velocidade de  $4,9 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , foi de  $19,3 \text{ mg N.L}^{-1}$ . Assim, o acúmulo teórico de N-nitrito foi de  $14 \text{ mg N.L}^{-1}$ . Analisando o perfil experimental, na 4ª hora de ensaio, a diferença entre as concentrações de N-nitrito e N-nitrato mostrou acúmulo de  $7 \text{ mg N.L}^{-1}$  na forma de N-nitrito. Tal valor é pouco inferior ao valor teórico.

Para o ensaio 2, o consumo teórico de N-nitrato, levando em consideração que este foi consumido em 5 horas com velocidade de  $6,59 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , foi de  $28,2 \text{ mg N.L}^{-1}$ . Por outro lado, o consumo de N-nitrito neste mesmo período, considerando velocidade de  $5,75 \text{ mg N.g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , foi de  $24,6 \text{ mg N.L}^{-1}$ . Assim, o acúmulo teórico de N-nitrito foi de

3,6 mg N.L<sup>-1</sup>. Analisando o perfil experimental, na 5ª hora de ensaio, a diferença entre as concentrações de N-nitrito e N-nitrato mostrou acúmulo de aproximadamente 5 mg N.L<sup>-1</sup> na forma de N-nitrito. Tal valor é próximo ao valor teórico.

A Tabela 31 apresenta as velocidades de desnitrificação heterotrófica obtidas em sistemas de tratamento operando em condições de NDS, inclusive com os dados deste trabalho.

**Tabela 31 – Velocidades de desnitrificação de N- NO<sub>x</sub><sup>-</sup> em sistemas NDS.**

Reator	Inóculo	Água residuária	Relação C/N	Velocidade de consumo de N-NO <sub>x</sub> <sup>-</sup>	Autores Reportados
Reator de leito fixo e estruturado	Lodo anaeróbio+Lodo aeróbio	Efluente sintético	7,6	6,59 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .gSSV <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Este trabalho
SBR	Lodo de lagoa aeróbia	Efluente sintético	11,1	9,23 mg N-NO <sub>x</sub> <sup>-</sup> .gSSV <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Chiu et al. (2007)
SBR	-	Efluente pré- tratado em lagoa anaeróbia	14,5	12 mg N-NO <sub>x</sub> <sup>-</sup> .gSSV <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Pochana e Keller (1999)
Reator de leito fixo e estruturado	Lodo de lagoa anaeróbia	Efluente sintético	11,6	4,0 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .gSSV <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Moura (2011)
SBR	Lodos ativados	Esgoto doméstico	11,2	3,0 mg N-NO <sub>x</sub> <sup>-</sup> .gSSV <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup>	Von Münch, Lant e Keller (1996)

Comparando os resultados obtidos experimentalmente com o levantamento bibliográfico apresentado na Tabela 31, é possível verificar semelhança entre os valores de velocidades encontrados; uma vez que todos os sistemas operaram em condições NDS. Moura (2011) utilizou a mesma configuração de reator adotada neste trabalho, sendo que o sistema foi inoculado com lodo com características anaeróbias. Comparando-se a velocidade específica de desnitrificação deste trabalho com os resultados obtidos por Moura (2011), pode-se notar um ganho na capacidade de desnitrificação do sistema. Isto pode estar relacionado ao fato da mistura de inóculos ter proporcionado uma melhor distribuição dos organismos desnitrificantes entre a biomassa nitrificante e a biomassa oxidadora de matéria orgânica.



## 5.12 PERFIL DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO

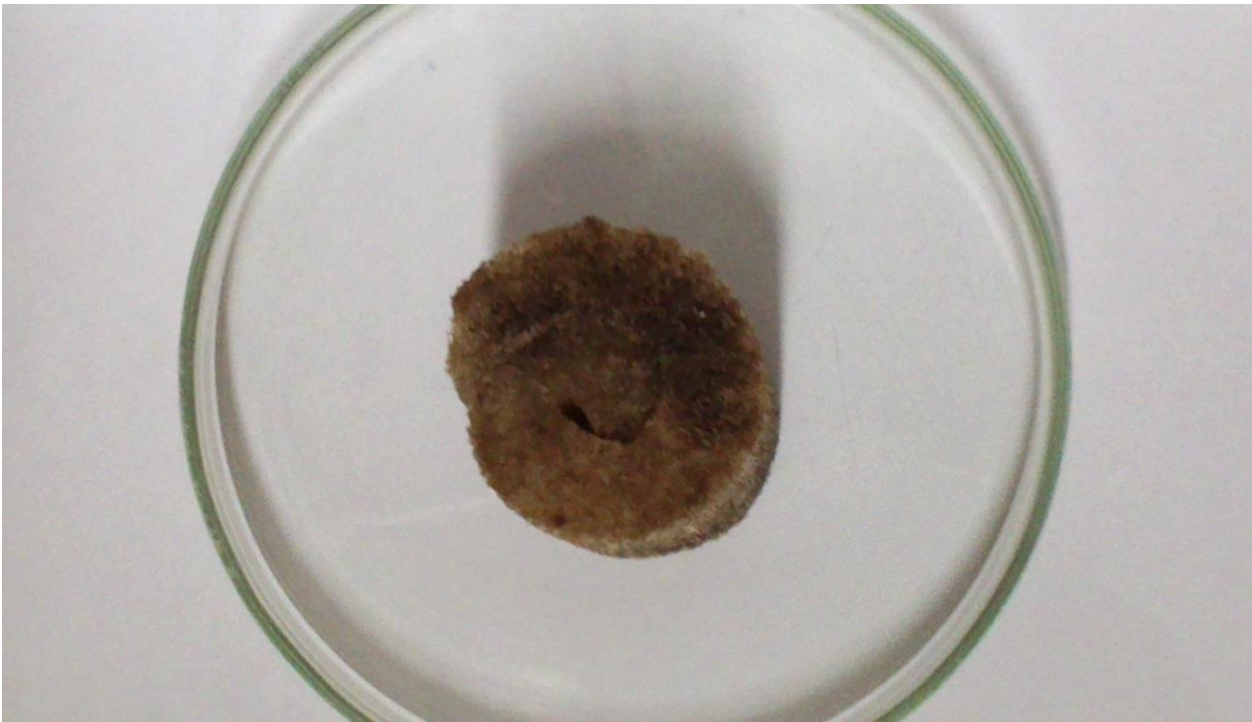
Com objetivo de caracterizar o biofilme com respeito à concentração de oxigênio em relação à espessura, foi realizado ensaio com microssensor de OD. O trabalho de Lewandowski, Walser e Characklis (1991) revela o processo de instrumentação do microssensor para medição de OD com micro fibra-óptica capilar. Sobrepondo resultados de ensaios repetidos, os autores concluíram que o início do biofilme é dado pelo ponto de inflexão da curva de concentração de OD em função da profundidade. Assim, por meio do software *Matlab*® 7.14, o ponto de inflexão foi determinado como sendo a solução da derivada de segunda ordem da regressão polinomial de melhor ajuste, conforme indica a Tabela 32. Para a determinação do início do biofilme anóxico, considerou-se que a concentração de oxigênio dissolvido deveria ser inferior 0,250 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tabela 32 – Dados para a obtenção do valor de concentração de OD que marca o início do biofilme.**

Melhor ajuste dos dados: regressão de 6ª ordem (R <sup>2</sup> = 0,9665)	$y = -43,959x^6 + 658,85x^5 - 3748,4x^4 + 10187x^3 - 13691x^2 + 8689,4x - 786,5$
Derivada de 2ª ordem	$31650,48x = 79062$
Ponto de inflexão	$[OD] = x = 2,498 \text{ mg.L}^{-1}$

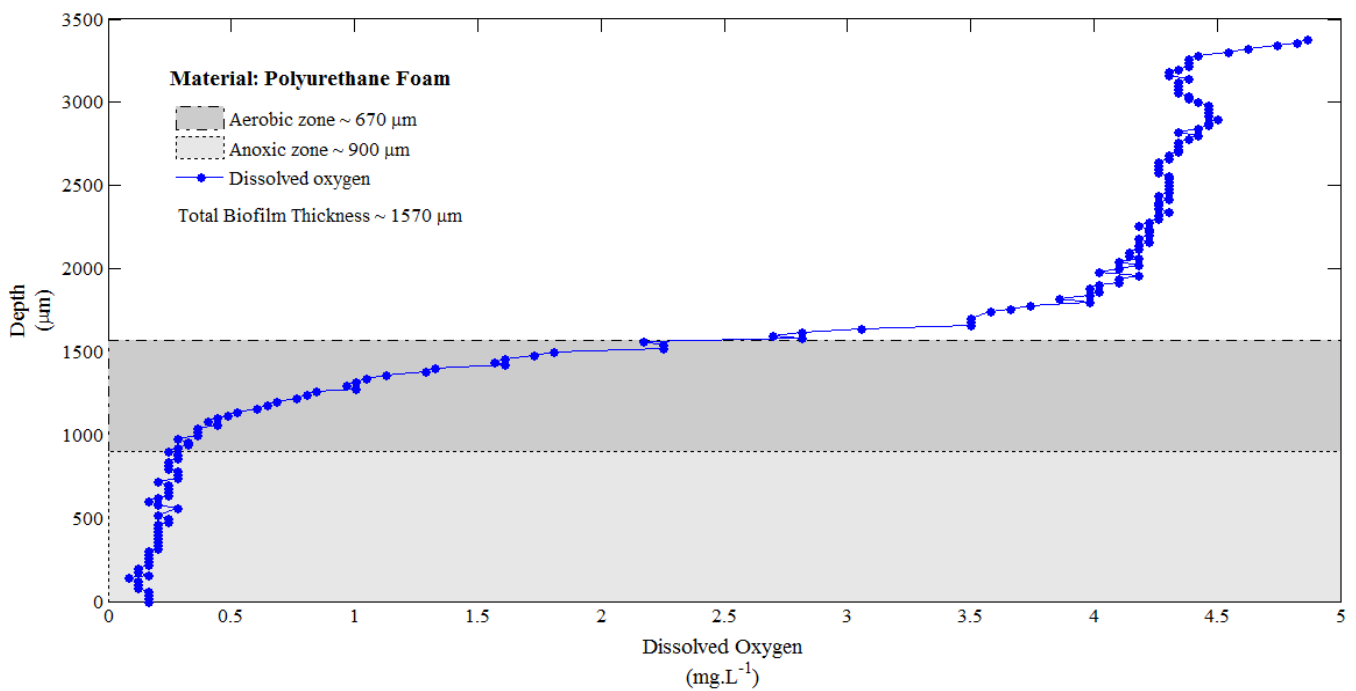
Satoh et al. (2004) investigaram a ocorrência da remoção simultânea de matéria orgânica e nitrogênio (via processo NDS) em reator biológico de membrana aerada. A partir de ensaios com microssensores específicos, foi verificada a distribuição espacial de zonas nitrificantes e desnitrificantes no biofilme formado. As medições do microssensor de OD indicaram zona aeróbia de 60 µm (medida a partir da superfície da membrana), sendo a zona anóxica observada acima da zona aeróbia. Ono (2007) utilizou um microssensor para obter o perfil de oxigênio em biofilme de reator nitrificante. O meio suporte avaliado foi espuma de poliuretano. Condições anóxicas foram identificadas em profundidades superiores a 400 µm.

A Figura 49 retrata amostra de espuma de poliuretano utilizada no ensaio com microssensor de OD. Observa-se a distribuição uniforme da biomassa sobre o meio suporte em questão.



**Figura 51 – Material suporte colonizado após 243 dias de operação do reator.**

Para obtenção do perfil de oxigênio dissolvido no biofilme, as medições foram realizadas no sentido radial da haste cilíndrica (aproximadamente 1,5 cm de raio). Assim, as medições da se iniciaram na zona mais externa e terminaram no miolo da haste. A Figura 50 apresenta o perfil de concentração de oxigênio dissolvido obtido no biofilme presente na espuma de poliuretano. Este ensaio foi realizado ao final da operação do reator.



**Figura 52 - Perfil de OD ao longo da espessura de biofilme desenvolvido na espuma de poliuretano.**

A partir desse perfil de OD foi possível distinguir dois ambientes: zona aeróbia (aproximadamente 670  $\mu\text{m}$ ) e zona anóxica (aproximadamente 900  $\mu\text{m}$ ). Tal estratificação das regiões reacionais viabilizou o desenvolvimento de diferentes vias de degradação biológica do nitrogênio (nitrificação autotrófica, desnitrificação heterotrófica e processo anammox), como discutido nos itens anteriores. Assim, sob o ponto de vista da viabilidade operacional, a adoção da espuma de poliuretano como meio suporte inerte aliada às condições de aeração intermitente, mostrou-se adequada para a imobilização de microrganismos de metabolismo aeróbio e anóxico.



## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, verificou-se a potencialidade da remoção concomitante de matéria carbonácea e nitrogenada em reator de leito fixo e estruturado submetido a relações C/N de 9,7, de 7,6 e de 2,9, TDH de  $11,2 \pm 0,6$  horas, recirculação de efluente ( $Q_R = 5Q_A$ ) e regime de aeração intermitente (2 horas com aeração e 1 hora sem aeração).

A eficiência média de remoção de DQO manteve-se acima de 90% ao longo de todo o período experimental. A eficiência máxima de remoção de N-total foi de  $84,6 \pm 10,1\%$ . A eficiência média de remoção de nitrogênio total e a carga de nitrogênio removida foram incrementadas à medida que a relação C/N foi reduzida. A manutenção da desnitrificação sob limitação da disponibilidade de doadores de elétrons, possibilitou identificar a ocorrência de outras vias de transformação do nitrogênio. O estabelecimento do processo anammox, como via complementar de remoção de nitrogênio em condições de baixa relação C/N foi verificado. Assim, as bactérias anammox fizeram parte do grupo de microrganismos ativos na remoção de N-total.

A espuma de poliuretano como meio suporte mostrou-se uma alternativa adequada para a imobilização da biomassa. A disposição do meio suporte em hastes cilíndricas (leito fixo e estruturado) permitiu evitar a colmatação do leito, promovendo melhor escoamento do efluente no interior do reator. Isto pode ser confirmado pela baixa concentração de SSV no efluente final.

O biofilme formado no reator foi caracterizado por meio de análises com microssensor de OD e microscopia eletrônica de varredura (MEV) com respeito à concentração de oxigênio em relação à espessura e ao arranjo dos microrganismos. A diversidade de espécies microbianas e as condições ambientais permitiram o estabelecimento das condições necessárias ao estabelecimento do processo SND e do metabolismo anammox.

As velocidades de nitrificação e desnitrificação obtidas nos ensaios cinéticos foram similares às encontradas em reatores que operaram com sistemas NDS. Para relação C/N de 2,9 e peptona de carne como fonte de carbono, as velocidades de oxidação de N-amoniaco e de N-nitrito foram de 5,48 e 4,97 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, respectivamente. No ensaio de desnitrificação, considerando relação C/N de 7,6 e peptona de carne como fonte orgânica e nitrogenada, as velocidades médias de consumo de N-nitrato e N-nitrito foram de 7,6 e 5,3 mg N.g SSV<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, respectivamente.

Como recomendações para trabalhos futuros sugerem-se:

- Estudo desta configuração de reator em dimensões em escala piloto, de maneira a obter parâmetros operacionais e de projeto em aumento de escala, permitindo aplicar essa tecnologia de tratamento em sistemas em escala real;
- Verificação da formação de gases com potencial de efeito estufa também precisa ser realizada, como parte das bases fundamentais para transformação do sistema em questão em tecnologia.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>5</sup>

ARAÚJO, J. C. **Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbio de leito fluidificado com esgoto sanitário sintético**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 19ª edição. Washington, D.C. APHA. 2005.

BARANA, A. C.; LOPES, D. D.; MARTINS, T. H.; POZZI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; DEL NERY, V.; FORESTI, E. Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for post-treatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 453–459, jun. 2013.

BERGEY. **Bergey's manual of systematic bacteriology, Section 20 – Aerobic chemolithotrophic bacteria and associated organisms, 1807-1834**, 1989.

CALIJURI, M. C.; ALVES, M.S.A.; SANTOS, A.C.A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: RIMA, 2006. 118 p

CHEN, H.; LIU, S.; YANG, F.; XUE, Y.; WANG, T. The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 4, p. 1548–54, fev. 2009.

CHIU, Y.-C.; LEE, L.-L.; CHANG, C.-N.; CHAO, A. C. Control of carbon and ammonium ratio for simultaneous nitrification and denitrification in a sequencing batch bioreactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 59, n. 1, p. 1–7, jan. 2007.

DALSGAARD, T.; THAMDRUP, B. Factors Controlling Anaerobic Ammonium Oxidation with Nitrite in Marine Sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3802–3808, 2002.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O.E. Volatile acids by direct titration. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 3, p. 356-365, 1961.

Environmental Protection Agency (EPA). **Nitrogen control**. Washington (DC): US EPA, 1993.

FERNANDES, H.; JUNGLES, M. K.; HOFFMANN, H.; ANTONIO, R. V.; COSTA, R. H. R. Full-scale sequencing batch reactor (SBR) for domestic wastewater: performance and diversity of microbial communities. **Bioresource Technology**, v. 132, p. 262–268, mar. 2013.

FU, B.; LIAO, X.; DING, L.; REN, H. Characterization of microbial community in an aerobic moving bed biofilm reactor applied for simultaneous nitrification and denitrification. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 11, p. 1981–1990, 13 mar. 2010.

---

<sup>5</sup> De acordo com ABNT NBR 6023/2012.

FU, Z.; YANG, F.; ZHOU, F.; XUE, Y. Control of COD/N ratio for nutrient removal in a modified membrane bioreactor (MBR) treating high strength wastewater. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 136–41, jan. 2009.

HELLINGA, C.; SCHELLEN, A.; MULDER, J. W.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. The Sharon process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 9, p. 135-142, 1998.

HELMER, C.; KUNST, S. Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 4-5, p. 183–187, 1998.

HOLMAN, J. B.; WAREHAM, D. G. COD, ammonia and dissolved oxygen time profiles in the simultaneous nitrification/denitrification process. **Biochemical Engineering Journal**, v. 22, n. 2, p. 125–133, jan. 2005.

HOOPER, A. B.; VANNELI, T.; BERGMANN, D. J.; ARCIERO, D. M. Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 71, p. 59–67, 1997.

JANZEN, J. G.; SCHULZ, H. E.; LAMON, A. W. **Measurements of dissolved oxygen concentration at water surface**, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-41522008000300006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522008000300006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 25/11/2013.

JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. **Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming and other solids separation problems**. 3<sup>rd</sup> Edition, London: Lewis Publishers, 2003.

JETTEN, M. S.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; ROBERTSON, L. A.; DE VRIES, S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, J. G. Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 71, n. 1-2, p. 75–93, fev. 1997.

JETTEN, M. S. M.; VAN NIFTRIK, L.; STROUS, M.; KARTAL, B.; KELTJENS, J. T.; OP DEN CAMP, H. J. M. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 44, n. 2-3, p. 65–84, jun. 2009.

KARTAL, B.; KUYPERS, M. M. M.; LAVIK, G.; SCHALK, J.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 635–642, mar. 2007.

KARTAL, B.; KUENEN, J. G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Engineering. Sewage treatment with anammox. **Science**, v. 328, n. 5979, p. 702–3, 7 maio 2010.

KHIN, T.; ANNACHHATRE, A. P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 519–32, set. 2004.



KUMAR, M.; LIN, J.-G. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal--Strategies and issues. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1-3, p. 1–9, 15 jun. 2010.

KUYPERS, M. M. M.; SLIEKERS, A. O.; LAVIK, G.; SCHMID, M.; JORGENSEN, B. B.; KUENEN, J. G.; DAMSTÉ, J. S. S.; STROUS, M.; JETTEN, M. S. M. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. **Nature**, v. 422, n. 10 de abril, p. 608–611, 2003.

LEWANDOWSKI, Z.; WALSER, G.; CHARACKLIS, W. G. Reaction kinetics in biofilms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 38, p. 877–882, 1991.

LI, Y.; LIU, Y.; SHEN, L.; CHEN, F. DO diffusion profile in aerobic granule and its microbiological implications. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 4-5, p. 349–354, out. 2008.

LIU, Y.; SHI, H.; XIA, L.; SHI, H.; SHEN, T.; WANG, T.; WANG, G.; WANG, Y. Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 3, p. 901–6, fev. 2010.

MARTINS, T.H. **Conversão de compostos nitrogenados em reatores biológicos: operação, caracterização microbiológica e filogenética**. 115f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

MENG, Q.; YANG, F.; LIU, L.; MENG, F. Effects of COD / N ratio and DO concentration on simultaneous nitrification and denitrification in an airlift internal circulation membrane bioreactor. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 2, p. 933–939, 2008.

METCALF E EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4 ed. New York, McGraw-Hill International Edition, 2003.

MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration. **Journal of Environmental Management**, v. 98, p. 163–7, 15 maio 2012.

MOURA, R. B. **Desempenho de um reator vertical de fluxo contínuo e leito estruturado com recirculação do efluente, submetido à aeração intermitente, na remoção de carbono e nitrogênio de um efluente sintético**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

NOCKO, L. M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido a aeração intermitente**. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

OHASHI, A.; SILVA, V. D. G.; MOBARRY, B.; MANEM, J. A.; STAHL D. A.; RITTMANN, B. E. Influence of substrate C/N ratio on the structure of multi-species biofilms consisting of nitrifiers and heterotrophs. **Water Science and Technology**, v. 32, n. 8, p. 75–84, 1995.

OHASHI, A.; SILVA, D. G.; RITTMANN, B. E. Influence of substrate C/N ratio on biofilms consisting of nitrifiers and heterotrophs. **Water Science Technology**, v. 32, n. 8, p. 75-84, 1995.

ONO, A. F. **Estratégia de operação de reatores aeróbio/anóxico operados em batelada sequencial para remoção de nitrogênio de água residuária industrial**. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

PHILIPS, S.; LAANBROEK, H. J.; VERSTRAETE, W. Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 115–141, jun. 2002.

PICKBRENNER, K. **Uso de reator sequencial em batelada (RSB) para pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio**. Dissertação (Mestrado), Departamento de Engenharia de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

POCHANA, K.; KELLER, J. Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND). **Water Science and Technology**, v. 39, n. 6, p. 61–68, 1999.

PYNAERT, K.; SMETS, B. F.; BEHEYDT, D.; VERSTRAETE, W. Start-up of autotrophic nitrogen removal reactors via sequential biocatalyst addition. **Environmental Science and Technology**, v. 38, p. 1228-1235, 2004.

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

RITTMANN, B. E.; LANGELAND, W. E. Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 57, n. 4, p. 300–308, 1985.

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. **Environmental biotechnology: principles and applications**. McGraw-Hill, New York, 2001.

ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Heterotrophic Nitrification in *Thiosphaera pantotropha*: oxygen uptake and enzyme studies. **Journal of General Microbiology**, v. 134, p. 857–863, 1988.

SATO, H.; ONO, H.; RULIN, B.; KAMO, J.; OKABE, S.; FUKUSHI, K-I. Macroscale and microscale analyses of nitrification and denitrification in biofilms attached on membrane aerated biofilm reactors. **Water Research**, v. 38, n. 6, p. 1633–1641, mar. 2004.

SCHIERHOLT NETO, G. F. **Desenvolvimento de Uma Flora de Microrganismos Oxidadores Anaeróbios de Amônia Utilizando Inóculos Provenientes de Dejetos de Suíno**. 101 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química, Florianópolis, 2007.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; BOCK, E.; FUERST, J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 481–492, out. 2003.

SILVA, A. J.; HIRASAWA, M. B.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. **Anaerobe**, v. 12, p. 93–98, 2006.

SLIEKERS, A. O.; DERWORT, N.; CAMPOS GOMEZ, J. L.; STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. **Water Research**, v. 36, n. 10, p. 2475–82, maio 2002.

STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; KUENEN, G. J.; JETTEN, M. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 2446–2448, 1997.

STROUS, M.; HEIJNEN, J. J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n. 5, p. 589–596, 27 nov. 1998.

SURAMPALLI, R. Y.; TYAGI, R. D.; SCHEIBLE, O. K.; HEIDMAN, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource technology**, v. 61, p. 151–157, 1997.

TAY, J.-H.; IVANOV, V.; PAN, S.; TAY, S. T.-L. Specific layers in aerobically grown microbial granules. **Letters in Applied Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 254–7, jan. 2002.

TORRES, P. **Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários**. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

TOUZEL, J. P.; ALBAGNAC, G. Isolation and characterization of *Methanococcus-mazei* strain MC3. **FEMS Microbiology Letters**, 16, 2-3, 241–245, 1983.

VAN DE GRAAF, A. A.; BRUJIN, P.; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. **Microbiology**, v. 142, p. 2187–2196, 1996.

VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodos ativados - Teoria e aplicações para projetos e operação**. Universidade Federal da Paraíba, 1999. 488 p.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; JETTEN, M. S. M. Microbiological conversions in nitrogen removal. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 1–7, 1998.

VAN NIEL, E. W. J. et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in *Alcaligenes faecalis* strain TUD. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 62, p. 231–237, 1992.

VAN NIFTRIK, L. A.; FUERST, J. A.; DAMSTÉ, J. S. S.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, n. 1, p. 7–13, abr. 2004.

VILLAVERDE, S.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; FDZ-POLANCO, F. influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. **Water Research**, v. 31, n. 5, p. 1180–1186, 1997.

VON MÜNCH, E.; LANT, P.; KELLER, J. simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 30, n. 2, p. 277–284, 1996.

WANG, C.-C.; LEE, P.-H.; KUMAR, M.; HUANG, Y.-T.; SUNG, S.; LIN, J.-G. Simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) in a full-scale landfill-leachate treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 622–8, 15 mar. 2010.

WIDDEL, F.; PFENNIG, N. Dissimilatory Sulfate or Sulfur Reducing Bacteria. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. (Eds) Krieg, N. R.; Holt, J. G. 1: 663 – 679, 1984.

YOO, H.; AHN, K.-H.; LEE, H.-J.; LEE, K.-H.; KWAK, Y.-J.; SONG, K.-G. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Research**, v. 33, n. 1, p. 145–154, 1999.

YUAN, X.; GAO, D. Effect of dissolved oxygen on nitrogen removal and process control in aerobic granular sludge reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1-3, p. 1041–5, 15 jun. 2010.

ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. Reator anaeróbio de leito fixo para tratamento de águas residuárias: Concepção e avaliação preliminar do desempenho. **Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química**, v. 11, p. 33, 1994.

ZENG, R. J.; LEMAIRE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 84, n. 2, p. 170–8, 20 out. 2003.

ZHANG, P.; ZHOU, Q. Simultaneous nitrification and denitrification in activated sludge system under low oxygen concentration. **Environmental Science Engineering**, v. 1, n. 1, p. 49–52, fev. 2007.

ZHAO, H. W.; MAVINIC, D. S.; OLDHAM, W. K.; KOCH, F. A. Controlling factors for simultaneous nitrification and denitrification in a two- stage intermittent aeration process treating domestic sewage. **Water Research**, v. 33, n. 4, p. 961–970, 1999.



## ANEXO 1

Tabela 33 - Caracterização físico-química da peptona de carne.

Variáveis	Valor
DQO <sub>F</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	1039
DBO (mg.L <sup>-1</sup> )	814
pH	6,4
NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	133
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	45,3
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	0,9
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	1,0
PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	9,2
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	0,7
Fl <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	1,2
Cl <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	36,2
Br <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	1,7
Zn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,018
Pb (mg.L <sup>-1</sup> )	0,152
Cd (mg.L <sup>-1</sup> )	0,04
Ni (mg.L <sup>-1</sup> )	0,022
Fe (mg.L <sup>-1</sup> )	0,027
Mn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,002
Cu (mg.L <sup>-1</sup> )	0,000
Cr (mg.L <sup>-1</sup> )	0,000
K (mg.L <sup>-1</sup> )	4,025
Ca (mg.L <sup>-1</sup> )	0,375
Mg (mg.L <sup>-1</sup> )	0,879

