

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

BRUNO GARCIA SILVA

Reator de biofilme fixo aerado submetido à contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados

Orientador: Prof. Dr. Eugenio Foresti

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

Outubro de 2020

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

BRUNO GARCIA SILVA

Reator de biofilme fixo aerado submetido à contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em ciências: Engenharia hidráulica e saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Eugenio Foresti

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

Outubro de 2020

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

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

S586r Silva, Bruno Garcia
Reator de biofilme fixo aerado submetido à contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados / Bruno Garcia Silva; orientador Eugenio Foresti. São Carlos, 2020.

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

1. Remoção de nitrogênio. 2. Nitrificação e desnitrificação simultânea. 3. Pós-tratamento. 4. Poliuretano. 5. Biofilme. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **BRUNO GARCIA SILVA**.

Título da tese: "Reator de biofilme fixo aerado submetido à contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados".

Data da defesa: 13/11/2020.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Eugenio Foresti**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

APROVADO

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

APROVADO

Prof. Dr. **Theo Syrto Octavio de Souza**
(Escola Politécnica/EP-USP)

APROVADO

Profa. Dra. **Ana Claudia Barana**
(Universidade Estadual de Ponta Grossa/UEPG)

APROVADO

Prof. Dr. **João Paulo Bassin**
(Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ)

APROVADO

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

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

Dedico este trabalho à minha família,
especialmente a minha mãe, que tanto lutou pela
minha educação, e aos meus irmãos, Fábio e Alex.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Eugênio Foresti por sua orientação, dedicação ao longo do doutorado e pelo bom exemplo de professor e de pessoa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelas bolsas de pesquisa no país (2017/10049-8) e no exterior (2018/17064-5).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelos primeiros meses de bolsa.

À Professora Márcia e ao Professor Marcelo Zaiat, que sempre estiveram abertos para discussões de temas relacionados à minha pesquisa e às oportunidades de estágio PAE.

Ao Professor Robert Nerenberg e Patricia-Perez Calleja pela orientação, o acolhimento e grandes ensinamentos durante meu estágio no exterior. “To Professor Robert Nerenberg and Patricia-Perez Calleja for their guidance, welcoming and great teaching during my internship abroad.”

À Mengfei pela ajuda para a realização da análise FISH. “To Mengfei for helping to carry out the FISH analysis.”

Ao Jean pela grande amizade e pela ajuda com as análises dos dados do sequenciamento do gene 16S.

À Natalia, por todo o apoio na execução do trabalho, pelos momentos divertidos que passamos dentro do laboratório e fora também.

À Isabel Kimiko Sakamoto, pela ajuda nos procedimentos de extração de DNA.

Ao BK, grande amigo, por sua ajuda em todos os aspectos possíveis durante meu estágio no exterior. “해외 인턴십 기간 동안 가능한 모든면에서 저를 도와 준 훌륭한 친구 BK에게”.

Aos meus amigos e colegas de Notre Dame, Marcela, Sarajene, Saul, Yan, Emily, Meenu por me fazerem me sentir em casa durante o estágio no exterior. “To my friends and colleagues at Notre Dame, Marcela, Sarajene, Saul, Yan, Emily, Meenu for making me feel at home during my internship abroad.”

Aos amigos do grande time de futebol Pichanga e amigos, Rodrigo, Alex, Luca, Martin, Fernando, Joaquim, Consuelo, Jorge por todo o companheirismo, partidas de futebol, churrascos, acampamentos que tornaram o estágio no exterior uma experiência única e inesquecível. “To the friends of the great football team Pichanga and friends, Rodrigo, Alex,

Luca, Martin, Fernando, Joaquim, Consuelo, Jorge for all the companionship, soccer matches, barbecues, camps that made the internship abroad a unique and unforgettable experience.”

Aos técnicos do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), por toda sua atenção e disposição na rotina de análises do Laboratório.

A todos amigos, colegas e profissionais do LPB e do departamento de Hidráulica e Saneamento que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste Trabalho.

À minha família, em especial à minha Mãe e aos meus irmãos Fábio e Alex por estarem sempre presentes na minha vida sob e em quaisquer circunstâncias.

À minha segunda família, Gustavo e Carol, por tantas coisas que passamos juntos e por saber que sempre poderei contar com vocês.

À Ana Luísa pelo amor, paciência, suporte e carinho.

RESUMO

SILVA, Bruno Garcia. Reator de biofilme fixo aerado submetido à contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados. 2020. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

Uma nova configuração de reator, denominada foam-aerated biofilm reactor (FABR), foi avaliada para a remoção de nitrogênio e matéria orgânica de água residuária sintética. Esta nova configuração estabelece a contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons no biofilme. Essa característica é especialmente eficaz no tratamento de águas residuárias com baixas relações DQO/N. Nos FABR ensaiados, o ar é injetado em um cilindro interno de aço inox perfurado, envolto por uma camada de espuma de poliuretano. Essa camada de espuma separa o compartimento aerado do compartimento não aerado, que recebe a água residuária. Avaliou-se o efeito da espessura da camada de espuma (10, 5 e 2 mm) e da relação DQO/N (5,0 e 2,5). O reator com 2 mm de espessura de espuma não apresentou boa aderência da biomassa e, portanto, não apresentou remoção de N. Os reatores com 5 e 10 mm, alimentados com ambas águas residuária, apresentaram eficiências médias de remoção de nitrogênio total entre 36 e 46%. A eficiência de desnitrificação foi de 100% durante todo o período experimental. Menores valores de espessura de espuma de poliuretano e de carga orgânica aplicada não proporcionaram maior taxa de nitrificação, como era esperado. O crescimento da biomassa foi associado à queda na eficiência de nitrificação, a qual foi restabelecida após descarte de biomassa. Concluiu-se que maior limitação do sistema está associada à resistência à transferência de massa no biofilme e não à espessura da camada de espuma. O aumento dessa resistência ocorreu devido ao crescimento da biomassa no interior da espuma, levando à colmatção dos poros e criando barreiras ao transporte de massa eficiente. Um modelo matemático foi elaborado para descrever o transporte de massa na espuma e as reações no biofilme. A difusividade efetiva e a porosidade do biofilme foram determinadas experimentalmente e incorporadas ao modelo. A análise de sensibilidade do modelo proposto mostrou que o valor da difusividade efetiva influiu de maneira preponderante nos resultados. Gradientes de concentração de oxigênio, nitrato, nitrito e amônia através do biofilme foram medidos usando microsensores e comparados com os valores calculados pelo modelo. Concluiu-se que o complexo de fibras de espumas e células bacterianas podem ser considerados como um biofilme, desde que considerada a difusividade efetiva adequada, que depende do grau de colmatção dos poros.

Palavras-chaves: Contra-difusão; remoção de nitrogênio; nitrificação e desnitrificação simultânea; pós-tratamento; poliuretano; biofilme.

ABSTRACT

SILVA, Bruno Garcia. Aerated fixed biofilm reactor subjected to counter-diffusion of acceptors and electron donors to remove nitrogenous compounds. 2020. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

A novel foam aerated biofilm reactor (FABR) was evaluated to remove nitrogen and COD from synthetic wastewater. This new reactor configuration establishes a counter-diffusion biofilm like the well-known membrane aerated bioreactor (MABR), however using polyurethane foam as the support material and aeration system by air diffuser. It is especially well suited for wastewaters with low COD/N ratios. In FABR, a polyurethane foam sheet separates the aerobic compartment, which received the aeration, and the anoxic compartment, which received the effluent. Foams sheets with thicknesses of 10, 5 and 2 mm and synthetic wastewater with COD/N ratios of 5 and 2.5 were evaluated. The 2 mm thick foam reactor did not show good biomass adherence and, therefore, did not show N removal efficiency. The 5 and 10 mm reactors, in both COD/N ratios, showed an average total nitrogen removal efficiency from 36 to 46%. The denitrification efficiency was 100% throughout the experimental period. Lower values of polyurethane foam thickness and COD/N ratio did not provide a higher nitrification rate, as expected. Throughout the operation, biomass growth was associated with a decrease in nitrification efficiency, which was restored after biomass removal. It was concluded that the greatest limitation of the system is associated with mass transfer resistance in the biofilm and not with the thickness of the foam layer. The increase in this resistance occurred due to the biomass growth inside the foam, leading to pore clogging and creating barriers to efficient mass transport. A mathematical model was developed to describe the mass transport in the foam. The effective diffusivity and porosity of the biofilm were determined experimentally and incorporated into the model. The value of the effective diffusivity proved to be more significant for the results of the model. Gradients of oxygen, nitrate, nitrite and ammonia concentration through the biofilm were measured using microsensors and compared with the values calculated by the model. It was concluded that the foam fiber and bacterial cell complex can be considered as a biofilm, as long as it is considered adequate effective diffusivity, which depends on biomass growth within the foam pores.

keywords: Counter-diffusion; nitrogen removal; simultaneous nitrification and denitrification; post treatment; polyurethane; biofilm.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Principais rotas metabólicas exploradas em sistemas biológicos de remoção de nitrogênio.....	23
Figura 3.2 – Níveis a amônia livre em relação ao pH e temperatura	25
Figura 3.3 – Principais constituintes de um biofilme	33
Figura 3.4 – Esquema de um reator de leito móvel (moving bed biofilm reactor - MBBR)....	36
Figura 3.5 - reator de leito fixo estruturado (strucuted bed reactor – STBR).....	37
Figura 3.6 – padrão de concentração de substrato e oxigênio no biofilme a) co-difusão e b) contra-difusão. S_a – aceptores de elétrons, S_d – doadores de elétrons.....	40
Figura 3.7 – Remoção de N-total versus relação DQO/N em trabalhos com reatores de biofilme fixo em espuma de poliuretano e MABR	41
Figura 4.1- Foam aerated biofilm reactor (FABR). 1. Compressor de ar 2. Medidor de vazão de ar 3. Selo hídrico 4. Pedra porosa 5. Espuma de poliuretano. 6. Zona de aeração 7. Bomba de alimentação 8. Bomba de recirculação 9. Efluente.	45
Figura 4.2 – Fotos da montagem do aparato experimental. (A) Reator sem o revestimento de espuma. (B) Detalhe da pedra porosa. (C) Montagem do revestimento de espuma. (D) Reator com cilindro interno revestido por espuma. (E) Detalhe da estrutura de fechamento do topo. (F) Reator após inoculação.....	45
Figura 4.3 – Célula de fluxo. 1 afluente, 2 entrada da recirculação, 3 efluente, 4 saída da recirculação, 5 pedras porosas, 6 espuma de poliuretano, 7 compartimento inferior 8 compartimento superior. 9 nível de água.....	52
Figura 4.4 – Compartimento do reator de biofilme Aquasim. Setas sólidas indicam possíveis fluxos de massa através dos limites do compartimento e setas sombreadas indicam fluxos de massa dentro do compartimento	53
Figura 5.1 – Curva de concentração normalizada e curva DTR obtidas no ensaio hidrodinâmico com e sem aeração.....	62
Figura 5.2 – Perfis de oxigênio dissolvido no compartimento interno e externo durante o ensaio de transferência de oxigênio. C_i – Concentração no compartimento interno; C_e concentração no comportamento externo.	64
Figura 5.3 – Valores experimentais e calculados para a concentração de oxigênio dissolvido no compartimento interno e K_{La} obtido.	65

Figura 5.4 – Eficiências de oxidação de amônia, remoção de N-total e remoção de DQO dos reatores com 10 e 5 mm de espessura de poliuretano alimentados com água residuária com relação DQO/N igual a 5 e 2,5.....	68
Figura 5.5 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente (DQO/N=5) e efluente; (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia efluente, (◆) concentração de nitrato efluente, (X) concentração de nitrito efluente, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.	69
Figura 5.6. Concentrações de compostos nitrogenados no compartimento interno aerado (DQO/N=5), (○) concentração de amônia, (◆) concentração de nitrato, (X) concentração de nitrito.....	70
Figura 5.7 – (A) Biofilme externo a espuma de poliuretano antes do descarte de biomassa R 10 mm alimentado com água residuária de relação DQO/N igual a 5 e concentração de nitrogênio amoniacal de 40mg.L ⁻¹ (B) procedimento de descarte de biomassa.....	71
Figura 5.8 – Espuma de poliuretano com baixa adesão de sólidos ao final da operação do R – 2 mm alimentado com água residuária 1.....	72
Figura 5.9 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente (DQO/N=2,5) e efluente; (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia efluente, (◆) concentração de nitrato efluente, (X) concentração de nitrito efluente, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.	74
Figura 5.10 - Eficiências de remoção de N-total e de remoção de DQO dos reatores antes e após o descarte de biomassa.....	75
Figura 5.11 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente, efluente e no compartimento interno (Água residuária 3); (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia, (◆) concentração de nitrato, (X) concentração de nitrito, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.....	77
Figura 5.12 – Curva de rarefação.....	79
Figura 5.13 - Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis. As diferentes espessuras de espuma de poliuretano (2, 5 e 10 mm) estão destacadas com cores diferentes.	80
Figura 5.14 - Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis. Diferentes valores de relação DQO/N da água residuária estão destacados com cores diferentes.	81
Figura 5.15 - Abundância relativa das 12 principais OTU	82
Figura 6.1 – Concentrações de amônia e DQO no afluente e efluente durante a operação das células de fluxo	86

Figura 6.2 - Concentrações de nitrogênio amoniacal no compartimento superior e fator de difusividade efetivo estimado para cada espessura de espuma de poliuretano.	87
Figura 6.3 - Imagens de OCT para o R9 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica a seção e a direção da imagem da OCT, azul é o plano de fundo. Região central da região 'A' Aerada 'B'; Região anóxica "C"	90
Figura 6.4 – Composição em 3D das imagens de OCT do R4.5 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica os limites da área da imagem da OCT	90
Figura 6.5 - Composição em 3D das imagens de OCT do R2 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica os limites da área da imagem da OCT	91
Figura 6.6 - Perfil de porosidade, calculado a partir dos resultados das imagem OCT para o R4.5 mm e R 2.....	91
Figura 6.7 - Imagens de FISH. Região aerada 'A' do R 9 mm; Região anóxica 'B' do R9; Região aerada 'C' do R4.5; Região anóxica 'D' do R4.5. Região aerada 'E' do R2; Região anóxica 'F' do R2. AOB são mostrados em vermelho; NOB são mostrados em azul; DAPI são mostrados em verde.	92
Figura 6.8 – Perfis de concentração medidos e calculados pelos modelos 'A' oxigênio, 'B' nitrato, C' amônia.....	93
Figura 6.9 – Estimativa da remoção de N-total e oxidação da amônia em relação a carga de nitrogênio aplicada e área disponível de biofilme.....	96

Apêndice A

Figura A 1 – Imagens OCT utilizadas para a estimativa da porosidade para o R2.....	112
Figura A 2 - Imagens OCT utilizadas para a estimativa da porosidade para o R4.5m	113

Apêndice B

Figura B 1 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the ammonia effluent concentration	114
Figura B 2 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the oxygen biofilm concentration	114
Figura B 3 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the ammonia biofilm concentration	114
Figura B 4 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the nitrate biofilm concentration	115

Apêndice C

Figura C 1 - R9, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	116
Figura C 2 - R9, modelo 2, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	117
Figura C 3- R9, modelo 3, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	118
Figura C 4 - R9, modelo 4, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	119
Figura C 5- R4.5 mm, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	120
Figura C 6 - R4.5 mm, modelo 2, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	121
Figura C 7- R4.5 mm, modelo31, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	122
Figura C 8- R4.5 mm, modelo 4, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	123
Figura C 9- R2, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	124
Figura C 10 - R2, modelo 3, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.....	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Constantes cinéticas do processo de nitrificação, T = 30°C, pH = 8.	26
Tabela 3.2 – Constantes cinéticas do processo de desnitrificação heterotrófica	28
Tabela 3.3 – Constantes cinéticas do processo de desnitrificação autotrófica via compostos reduzidos de enxofre.....	30
Tabela 3.4 – Constantes cinéticas do processo anammox	32
Tabela 3.5 – Desempenho da NDS em reatores de biofilme com espuma de poliuretano como material suporte.	39
Tabela 3.6 - Desempenho da NDS em MABR.....	42
Tabela 4.1 Composição da água residuária sintética	46
Tabela 4.2 – Análises Físico Químicas	47
Tabela 4.3 – Características das amostras de biomassa microbiana submetidas ao sequenciamento metabarcoding do gene 16S rRNA	50
Tabela 4.4 – Expressões cinéticas dos processos considerados no modelo	55
Tabela 4.5 - Parâmetros e constantes do modelo.....	56
Tabela 4.6 – Matriz estequiométrica.	57
Tabela 4.7 - Parâmetros incluídos do software Aquasim para estimar o fator de efetividade .	59
Tabela 4.8 – Valores utilizados de porosidade e fator de difusividade efetiva utilizadas em cada modelo.	60
Tabela 5.1 – Parâmetros monitorados durante a operação dos reatores em escala de bancada	67
Tabela 5.2 - Carga de nitrogênio aplicada, eficiências de oxidação NTK e remoção de N-total em sistemas de biofilme contínuos de uma única unidade.....	76
Tabela 5.3 - Quantidade de sequências, OTUs, Shannon, Chao-1 e índice de Good's para cada amostra.....	78
Tabela 5.4 - Abundância relativa das 12 principais OTU	84
Tabela 6.1 – Parâmetros utilizados para modelo de avaliação	95

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivos geral	21
2.2	Objetivos específicos.....	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1	Processos biológicos de conversão de nitrogênio aplicado ao tratamento de águas residuárias	22
3.1.1	Nitrificação.....	23
3.1.2	Desnitrificação heterotrófica.....	27
3.1.3	Desnitrificação autotrófica via compostos reduzidos de enxofre	28
3.1.4	Anammox.....	31
3.2	Nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) em reatores de biofilme	33
3.2.1	NDS em reatores de espuma de poliuretano como material suporte	35
3.2.2	NDS em MABR e contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons.....	40
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	Etapa 1 – Operação de reatores em escala de bancada:	44
4.1.1	Reator em escala de bancada	44
4.1.2	Águas residuárias	46
4.1.3	Inóculo	46
4.1.4	Análises Físico-químicas	47
4.1.5	Ensaio Hidrodinâmicos	47
4.1.6	Ensaio de transferência de oxigênio entre os compartimentos.....	48
4.1.7	Caracterização filogenética da comunidade microbiana.....	49
4.2	Etapa 2 – Operação de células de fluxo, modelagem e simulação.....	51
4.2.1	Células de fluxo	51
4.2.2	Água residuária	52
4.2.3	Análises Físico-químicas	52
4.2.4	Microeletrodos	52
4.2.5	Modelo Aquasim.....	53
4.2.6	Teste de determinação do fator de difusividade efetiva (EDF)	58
4.2.7	Imagens de OCT e estimativa da porosidade	59
4.2.8	Análise FISH.....	60
4.2.9	Efeito dos parâmetros de porosidade e difusividade na modelagem	60
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES – ETAPA 1	62
5.1	Ensaio hidrodinâmicos e de transferência de oxigênio.....	62

5.2	Efeitos da espessura da espuma e da relação DQO/N	66
5.3	Efeitos do aumento da concentração de nitrogênio	77
5.4	Avaliação da diversidade filogenética	78
5.4.1	Índices de diversidade	78
5.4.2	Caracterização filogenética.....	81
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES – ETAPA 2.....	85
6.1	Operação das células de fluxo.....	85
6.2	Fator de difusividade efetiva (EDF)	86
6.3	Estrutura do biofilme	88
6.4	Perfis de concentração de substratos e modelo Aquasim	92
6.5	Simulações de performance: Impacto da carga de nitrogênio e da área de biofilme.....	95
7	CONCLUSÕES	97
8	Sugestões para trabalhos Futuros	99
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
	Apêndice A.....	112
	Apêndice B	114
	Apêndice C	116

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio está presente na fase líquida em diversas formas: nitrogênio orgânico (proteínas, aminoácidos e amins), nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato. O excesso de compostos nitrogenados em águas superficiais propicia o crescimento excessivo de plantas aquáticas e algas, ocasionando a eutrofização. Em um ambiente eutrofizado, a matéria orgânica advinda da decomposição das algas é consumida por bactérias heterotróficas, gerando impactos, como queda de oxigênio dissolvido, alteração de diversidade de espécies e liberação de cianotoxinas. Além disso, a presença de íon nitrato, em água potável, está relacionada a doenças como a metahemoglobinemia e o câncer de estômago. Esgoto sanitário, fertilizantes agrícolas, lixiviado de aterro sanitário e efluentes industriais advindos de petroquímicas, matadouros, frigorífico e curtumes, são exemplos de águas residuárias ricas em nitrogênio.

O tratamento biológico para a remoção do nitrogênio da fase líquida consiste em converter o nitrogênio amoniacal e orgânico em nitrogênio gasoso. Essa conversão é realizada por diferentes microrganismos e ocorre em pelo menos duas etapas; inicialmente há a oxidação da amônia a nitrito e/ou nitrato e, em seguida, a redução desses compostos a nitrogênio gasoso. A amônia é oxidada, ou seja, doa elétrons, em ambiente aeróbio quando há reduzida disponibilidade de matéria orgânica. Por outro lado, as formas oxidadas de nitrogênio, nitrito e nitrato, podem ser aceptores de elétrons na presença de um doador de elétrons e na ausência de oxigênio, levando à formação de gás nitrogênio. Devido ao processo completo ocorrer em diferentes ambientes (aeróbio e anóxico), sistemas convencionais projetados para a remoção de nitrogênio possuem pelo menos duas unidades de tratamento (uma aeróbia e outra anóxica), podendo chegar a quatro unidades, como por exemplo o sistema Bardenpho de quatro estágios. Em sistemas de várias unidades, para se atingirem altas eficiências de remoção, são utilizadas fontes externas de matéria orgânica, e.g. etanol, metanol, como fonte doadora de elétrons para a redução do nitrito e do nitrato a N_2 , o que aumenta os custos de construção e operacionais. Além disso, a operação do sistema se torna mais complexa. Devido a essa complexidade, a remoção de nitrogênio ocorre em unidades de tratamento terciário e só é priorizada depois da remoção da matéria orgânica.

O reator anaeróbio de manta de lodo (Upflow anaerobic sludge blanket– UASB) é uma tecnologia bem estabelecida, para remoção da matéria orgânica, especialmente em países de clima quente. Este reator é capaz de atingir eficiência de remoção de matéria orgânica de até 80%, com possibilidade de geração de biogás e sem gastos de energia com sistemas de aeração.

Entretanto, para atingir os padrões de lançamentos exigidos quanto à remoção de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio e fósforo), muitas vezes é necessário promover o pós-tratamento dos efluentes gerados.

Estações de tratamento que possuem reatores anaeróbios como primeira unidade de tratamento biológico são mais compactas, de simples operação e baixo gasto energético quando comparadas aos sistemas aeróbios convencionais, e.g. sistemas de lodos ativados. A energia utilizada em uma estação de tratamento, baseada em sistema de lodos ativados convencional, é da ordem de 2,5 a 4,5 W.habitante⁻¹; sistemas de aeração prolongada chegam a 3.5-5.5 W.habitante⁻¹ (Von Sperling, 2007). Além disso, o lodo produzido nessas unidades pode chegar a 80 g.habitante⁻¹.dia⁻¹ e necessita ser desaguado e, enfim, enviado a aterro sanitário. A adição de uma unidade anaeróbia anterior já representa uma economia da potência instalada de 1.0-1,8 W.habitante⁻¹ (Von Sperling, 2007). Outra vantagem é que a unidade de sedimentação primária pode ser dispensada (Chernicharo, 2006).

Esta pesquisa visou desenvolver uma unidade de pós-tratamento capaz de remover o nitrogênio e a matéria orgânica de efluentes com baixa relação DQO/N, como aqueles remanescentes do tratamento anaeróbio. O processo desta unidade é o de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS). Este processo destaca-se pela sua simplicidade operacional e ocorre quando há formação de biofilme (aderido à material suporte, granulo ou floco) capaz de criar ambientes favoráveis para a coexistência de comunidades anóxicas e aeróbias em um mesmo ambiente. A coexistência destas comunidades em sistemas com biomassa aderida ou granular é possível devido ao consumo do oxigênio nas camadas mais superficiais do biofilme deixando, assim, as camadas mais profundas livres de oxigênio. A NDS tem se mostrado eficiente na remoção de matéria orgânica e nitrogênio em várias situações. No entanto, efluentes com baixas relações entre matéria orgânica e nitrogênio apresentam baixas taxas de desnitrificação. Tal fato ocorre porque a matéria orgânica é consumida na zona aeróbia do biofilme por bactérias heterotróficas durante seu processo de difusão através do biofilme, não restando, assim, matéria orgânica para as bactérias heterotróficas desnitrificantes em seu interior (Chen et al., 2018; Silva et al., 2018).

Nesta pesquisa, avaliou-se a eficácia da espuma de poliuretano como material suporte para o crescimento da biomassa em uma nova configuração de reator designada foam-aerated biofilm reactor (FABR). A nomenclatura deve-se à similaridade da configuração FABR com o reator de biofilme aderido a membrana aerada (membrane biofilm reactor – MABR) em desenvolver um biofilme submetido à contra-difusão de reagentes e produtos. No caso do MABR, o oxigênio é fornecido através de uma membrana permeável aos gases, que serve como

material de suporte para a fixação da biomassa. O FABR, por outro lado, possui dois compartimentos separados por uma camada de espuma. Um compartimento é aerado, enquanto o outro recebe o afluente. Por um lado, os doadores de elétrons presentes no afluente penetram nas camadas mais internas da espuma, enquanto, por outro lado, o oxigênio penetra comoceptor de elétrons e o biofilme se desenvolve nos poros da espuma. Esta característica é denominada contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons.

A proposta do FABR parte do princípio de que a disponibilidade de matéria orgânica advinda de efluentes de reatores anaeróbios é baixa. Por esse motivo, ela deve estar disponível em ambiente anóxico para a desnitrificação heterotrófica, enquanto que o oxigênio deve ser utilizado em ambiente autotrófico aeróbio para a nitrificação no interior do biofilme. Outra vantagem desta configuração seria o possível tratamento do biogás gerado nos reatores anaeróbios. Compostos reduzidos de enxofre presentes no biogás podem ser utilizados como doadores de elétrons para a desnitrificação autotrófica no ambiente anóxico externo ao biofilme. Para tanto, é necessário que haja concentração de nitrato suficiente no compartimento anóxico.

Dentre os muitos aspectos, esta pesquisa se propôs avaliar a influência da camada de espuma, da relação DQO/N, e da concentração de nitrogênio na água residuária, em reatores FABR de bancada. A hipótese foi de que a espessura da espuma de poliuretano pode afetar a adesão da biomassa. Considera-se que o biofilme se desenvolve e se mantém principalmente no interior da espuma. Assim, a espessura da camada de espuma pode tanto proteger a biomassa das forças de cisalhamento externas ao biofilme, como oferecer maior ou menor resistência à transferência de massa entre os compartimentos.

Avaliou-se, também, o efeito da relação DQO/N no atendimento à demanda de matéria orgânica para a desnitrificação completa. Avaliou-se, ainda, se maiores concentrações de nitrogênio na água residuária poderiam favorecer o processo Anammox no FABR.

Uma estimativa correta da transferência de massa através de biofilmes submetidos à contra-difusão é fundamental para o projeto e controle do processo, pois é essa transferência que permite a disponibilidade adequada de doadores e aceptores de elétrons. Foi proposto um modelo matemático para descrever o transporte de massa e as reações no biofilme formado. Os parâmetros que mais influenciam os resultados de concentração de substratos foram identificados e determinados experimentalmente. A qualidade do modelo foi avaliada comparando-se os resultados de concentração calculados com resultados de concentração medidos no biofilme por meio de microsensores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAL

Avaliar o desempenho de uma configuração inovadora de reator, designado foam-aerated biofilm reactor (FABR), na remoção simultânea de matéria orgânica e de nitrogênio; bem com a dinâmica de formação do biofilme e da transferência de massa dos substratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a eficiência de remoção de nitrogênio e demanda química de oxigênio (DQO) em diferentes espessuras de espumas de poliuretano em reatores em escala de bancada;
2. Avaliar a eficiência de remoção de nitrogênio e de matéria orgânica (expressa como DQO) em diferentes concentrações e relações DQO/nitrogênio (DQO/N), em reatores em escala de bancada;
3. Formular um modelo matemático para descrever o transporte de massa e as reações no biofilme e determinar experimentalmente os parâmetros mais significativos para o cálculo das concentrações de substratos.
4. Verificar a qualidade do modelo, comparando-se os resultados de concentrações calculados com os obtidos através de medição com microsensores.
5. Determinar a forma de colonização da biomassa dentro dos poros da espuma e a porosidade do conjunto biofilme e espuma formado.
6. Caracterizar, por meio do sequenciamento massivo do gene 16S rRNA, a diversidade microbiana e os grupos de microrganismos mais abundantes no compartimento aerado e no compartimento anóxico, ao final da operação do reator em escala de bancada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

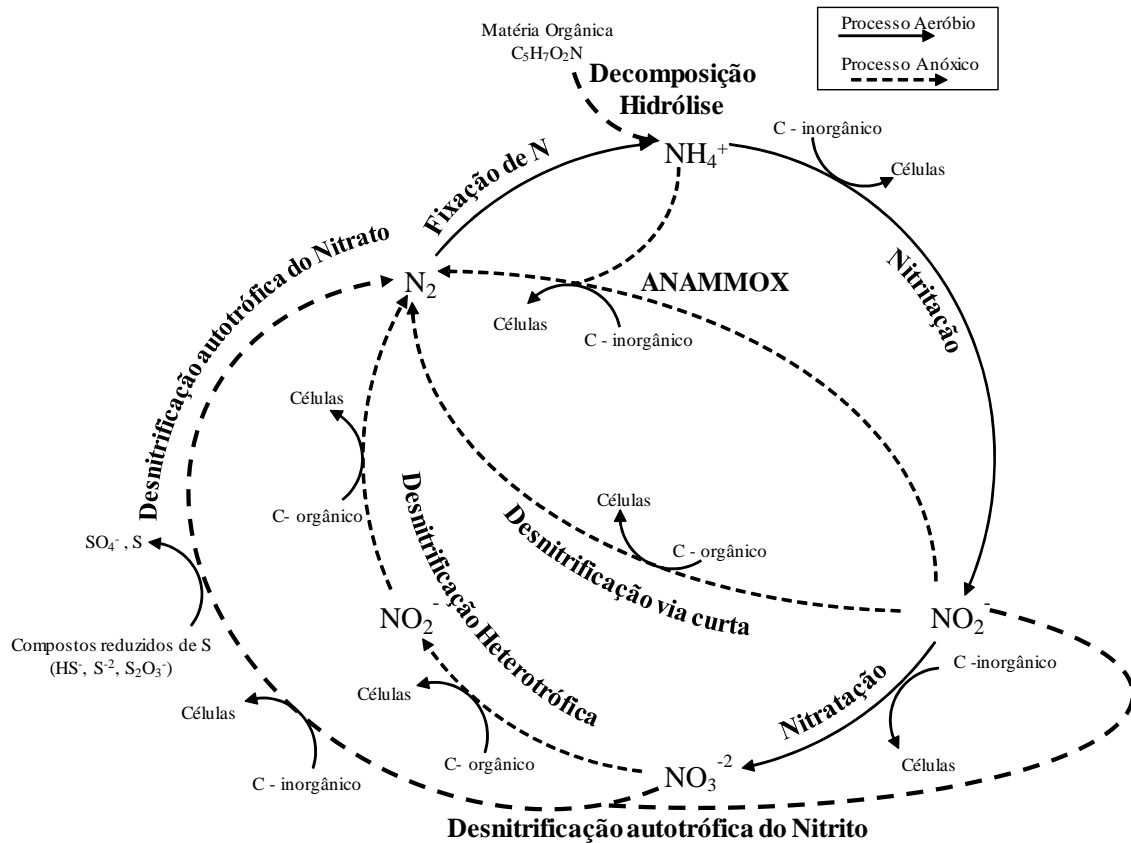
Esta revisão bibliográfica está dividida em duas partes principais. A primeira parte é uma revisão acerca dos processos de conversão biológica do nitrogênio. Para cada etapa do ciclo biológico do nitrogênio é dado foco à estequiometria do processo, às condições ótimas de cada processo e aos parâmetros cinéticos. A segunda parte trata dos reatores de biofilme, os fundamentos deste tipo de sistema e a ocorrência de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS). É dado maior nível de detalhe aos estudos que utilizaram espuma de poliuretano como material suporte e, em seguida, aos trabalhos com reatores de membrana aerada, que possuem a característica de contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons.

3.1 PROCESSOS BIOLÓGICOS DE CONVERSÃO DE NITROGÊNIO APLICADO AO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Em comparação aos processos físico-químicos, os processos biológicos de remoção de nitrogênio são considerados mais eficazes e relativamente baratos (Ahn, 2006). Na maioria das vezes, sistemas biológicos são concebidos para remover o nitrogênio presente em compostos orgânicos (proteínas, aminoácidos, bases nucleotídicas e ureia) que, ao sofrerem hidrólise, são transformados em amônia. A Figura 3.1 apresenta os principais processos biológicos explorados em sistemas que visam remover o nitrogênio presente na fase líquida transformando-o em gás nitrogênio.

Para a transformação do nitrogênio amoniacal em gás nitrogênio é necessário pelo menos um processo aeróbio (oxigênio é o acceptor final de elétrons) e um processo anóxico (nitrito ou nitrato são aceptores de elétrons). Além do acceptor de elétrons, é importante observar a fonte de carbono para a síntese celular nesses processos. Processos autotróficos utilizam fonte de carbono inorgânico; esses processos geralmente são favorecidos quando não há disponibilidade de carbono orgânico. Por outro lado, processos heterotróficos necessitam de fonte de carbono orgânica como doadora de elétrons e para crescimento celular. A seguir, é apresentada uma revisão sobre cada um desses processos.

Figura 3.1 – Principais rotas metabólicas exploradas em sistemas biológicos de remoção de nitrogênio.



Fonte: Silva (2016)

3.1.1 Nitrificação

A primeira etapa para a conversão do nitrogênio amoniacal a nitrogênio gasoso é a nitrificação. Qualquer que seja o processo que venha a seguir, ao menos 50% do nitrogênio amoniacal precisa ser convertido a nitrito. A nitrificação ou oxidação da amônia ocorre em duas etapas: conversão da amônia a nitrito (Equação 3.1), seguida da conversão do nitrito a nitrato (Equação 3.2).

Nitrificação ou nitrificação parcial



Nitratação



Fonte: Henze et al. (2008)

Analisando-se a estequiometria da reação simplificada da Equação 3.1, observa-se que, para cada 1 mg de N-NH₄⁺ convertido em N-NO₂⁻, são consumidos 3,43 mg de oxigênio e 7,14 mg.L⁻¹ de alcalinidade equivalente a CaCO₃. Ressalva-se, entretanto, que parte da amônia também é utilizada para o anabolismo. O nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrito na presença de oxigênio por meio diversas bactérias quimioautotróficas oxidadoras de amônia (ammonia oxidizing bacteria – AOB). Participam desta etapa os gêneros: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* (Metcalf et al., 2003).

A segunda etapa da nitrificação é a nitratação (Equação 3.2). Nessa etapa, bactérias oxidadoras de nitrito (nitrite oxidizing bacteria - NOB) convertem nitrito a nitrato. Para cada 1 mg de N-NO₂⁻ convertido a nitrato são consumidos 1,14 mg de oxigênio. Dentre os gêneros que realizam estes processos estão: *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospina* (Metcalf et al., 2003).

As velocidades de conversão de amônia a nitrito são, geralmente, muito inferiores à de conversão de nitrito a nitrato. Na prática, na maioria das situações em que não há inibição das NOB, todo o nitrito formado é imediatamente convertido a nitrato. Em vários modelos em estado estacionário, admite-se que, no processo de nitrificação, reagentes e produtos estão em relação estequiométrica. Portanto, considera-se que as NOB atuam somente como catalisadores do processo, e que a velocidade de formação do nitrato é igual à de oxidação da amônia. Assim, a nitrificação completa da amônia a nitrato requer 4,57 mg de oxigênio e 7,14 mg.L⁻¹ de alcalinidade por mg de N-NH₄⁺ oxidado.

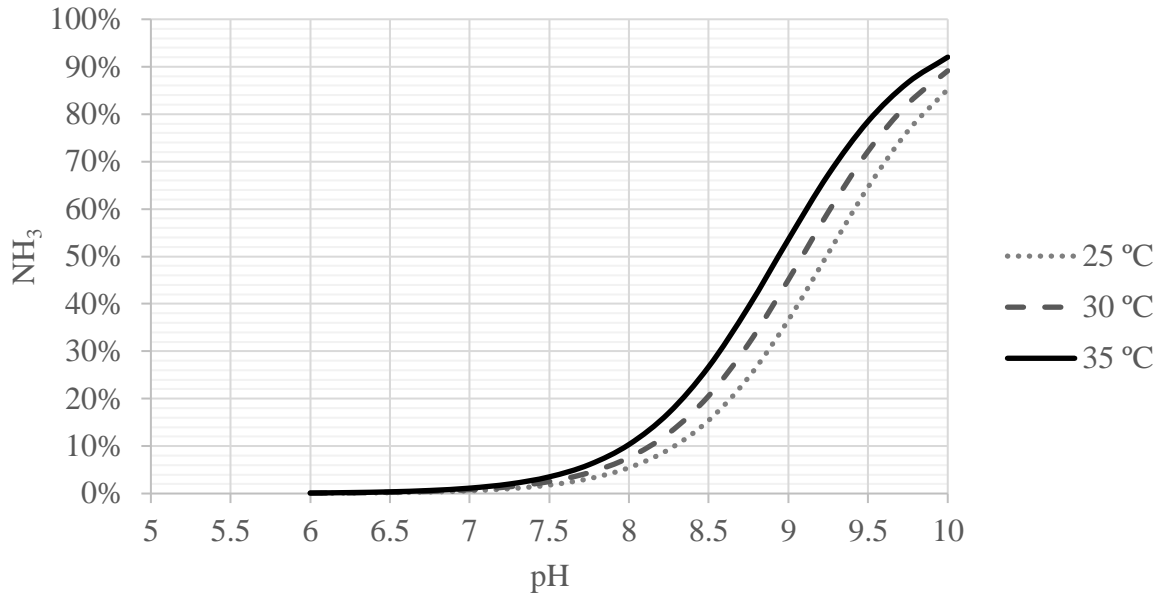
Os principais fatores que influenciam a nitrificação estão relacionados ao processo bioquímico dos microrganismos, como pH, temperatura e salinidade. Diversos estudos encontraram valores ótimos de pH na faixa entre 7,5 e 9 e de temperaturas nas faixas de 25 a 35 °C (Metcalf et al., 2003). Villaverde et al. (1997) encontraram crescimento ótimo das bactérias nitrificantes em biofiltro em pH de 8,0. Esse pH coincidiu com a atividade máxima das AOB.

A amônia não ionizada é tóxica para muitas formas de vida aquática, mesmo em baixas concentrações (>0,2 mg.L⁻¹) e pode afetar negativamente as AOB e NOB. A porcentagem de amônia livre no meio pode ser calculada a partir das constantes de equilíbrio pela Equação 3.3 (Bonmatí e Flotats, 2003).

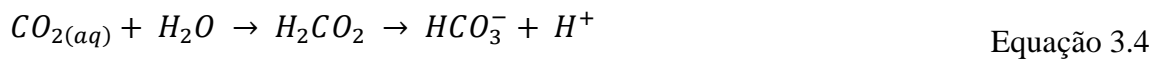
$$[NH_3] = \frac{[NH_3 + NH_4^+]}{1 + \frac{[H^+]}{K_a}} = \frac{[NH_3 + NH_4^+]}{1 + 10^{pK_a - pH}} \quad \text{Equação 3.3}$$

A Figura 3.2 mostra a porcentagem de amônia livre de acordo com o pH e a temperatura, calculados com os valores de pKa para diversas temperaturas medidos por Bates e Pinching (1949). Para valores mais baixos de pH e temperatura, a conversão diminui significativamente.

Figura 3.2 – Níveis a amônia livre em relação ao pH e temperatura



A alcalinidade é outro parâmetro fundamental para todo o processo de nitrificação, tanto como fonte de carbono inorgânico, como para manter o pH do meio, devido à geração de íons H^+ . A Equação 3.4 mostra o equilíbrio do gás carbônico dissolvido na água. A partir das relações das Equações 3.5 a 3.8, é possível encontrar o pH para uma certa alcalinidade e concentração do gás carbônico dissolvido. (K_{a1} e K_{a2} são as constantes de dissociação ácida)



$$\text{Alcalinidade (eq.L}^{-1}\text{)} = [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [OH^-] - [H^+] \quad \text{Equação 3.5}$$

$$[CO_3^{2-}] = \frac{K_{a2}[HCO_3^-]}{[H^+]} \quad \text{Equação 3.6}$$

$$[HCO_3^-] = \frac{\text{Alcalinidade (eq.L}^{-1}\text{)} - [OH^-] + [H^+]}{1 + \frac{2K_{a2}}{[H^+]}} \quad \text{Equação 3.7}$$

$$pH = \log \frac{[HCO_3^-]}{K_{a1}[CO_{2(aq)}]} \quad \text{Equação 3.8}$$

Esse equilíbrio deve ser avaliado cuidadosamente, pois, em baixas concentrações de gás carbônico dissolvido, a alcalinidade requerida para a nitrificação pode elevar o pH a patamares acima de 8,5, o que aumenta o teor de amônia livre que pode prejudicar o processo.

As concentrações de substrato também são fundamentais para uma nitrificação eficiente. As Equações 3.9 a 3.12 apresentam o modelo cinético de crescimento e decaimento endógeno das AOB e NOB, sendo S_{NH_4} a concentração de amônia ($gN.m^{-3}$), S_{O_2} a concentração de oxigênio dissolvido ($g.m^{-3}$), X_{AOB} e X_{NOB} representam as concentrações de biomassa das comunidades. A Tabela 3.1 contém as demais constantes cinéticas encontradas por Wiesmann (1994).

$$\text{Crescimento AOB} \quad \mu_{AOB} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^{AOB}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2}^{AOB}} X_{AOB} \quad \text{Equação 3.9}$$

$$\text{Decaimento endógeno AOB} \quad b_{AOB} X_{AOB} \quad \text{Equação 3.10}$$

$$\text{Crescimento NOB} \quad \mu_{NOB} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^{NOB}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2}^{NOB}} X_{NOB} \quad \text{Equação 3.11}$$

$$\text{Decaimento endógeno NOB} \quad b_{NOB} X_{NOB} \quad \text{Equação 3.12}$$

Tabela 3.1 – Constantes cinéticas do processo de nitrificação, T = 30°C, pH = 8.

	AOB		NOB		
Y_{AOB}	0,15	odm ¹ .gN ⁻¹	Y_{NOB}	0,042	odm ¹ .gN ⁻¹
$K_{NH_4}^{AOB}$	2,4	gN.m ⁻³	$K_{NO_2}^{NOB}$	5,5	gN.m ⁻³
$K_{O_2}^{AOB}$	0,6	gDQO.m ⁻³	$K_{O_2}^{NOB}$	2,2	gDQO.m ⁻³
μ_{AOB}	0,0854	h ⁻¹	μ_{NOB}	0,0604	h ⁻¹
b_{AOB}	0,0054	h ⁻¹	b_{NOB}	0,0025	h ⁻¹

¹ Organic dry matter (odm) – Matéria orgânica seca

Y, coeficiente de rendimento celular; K, constante de meia saturação do substrato; μ , velocidade máxima de crescimento, b, constante de decaimento endógeno.

Fonte: Wiesmann (1994)

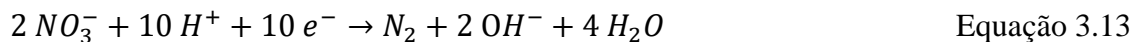
A constante de meia saturação da amônia ($K_{NH_4}^{AOB}$) é próxima de 2 mg N.L⁻¹, ou seja, a velocidade é próxima da máxima em concentrações maiores que 4 mg.L⁻¹. Entretanto, em concentrações menores a velocidade da reação de oxidação cai drasticamente, implicando que haverá um residual de concentração de amônia que dificilmente será eliminado devido à velocidade de reação extremamente baixa. O fato de a constante de meia saturação do oxigênio ser menor para as AOB do que para as NOB permite que os sistemas possam ser projetados para obter a oxidação parcial da amônia, limitando a concentração de oxigênio dissolvido (Park

et al., 2010). Essa estratégia pode reduzir o requerimento de DQO na etapa seguinte, que é de desnitrificação.

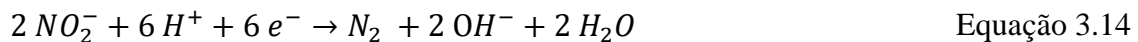
3.1.2 Desnitrificação heterotrófica

A desnitrificação (do nitrito e do nitrato) é o processo que, efetivamente, remove o nitrogênio da fase líquida, liberando o gás nitrogênio. Esse processo ocorre em ambiente anóxico e necessita de doadores de elétrons (Equação 3.13 e 3.14).

Desnitrificação heterotrófica do Nitrato



Desnitrificação heterotrófica do Nitrito



Fonte: Metcalf e Eddy (2003)

Concentrações de oxigênio dissolvido (OD) superiores a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ podem inibir a desnitrificação (Rittmann and Langeland, 1985). Quando há maior disponibilidade de OD, as bactérias desnitrificantes podem respirar aerobiamente ao mudar os aceptores de elétrons do nitrato para o oxigênio. Neste processo, a fonte doadora de elétrons mais utilizada é o carbono orgânico. Pela relação estequiométrica simplificada, para cada 1 mg de $N\text{-NO}_3^-$ transformados em N_2 , são consumidos, em termos de DQO, 2,68 mg de glicose; 2,85 mg de sacarose; 2,86 mg de etanol; 3,47 mg de metanol; ou 4,30 mg de acetato e gerados $3,57 \text{ mg CaCO}_3\text{.L}^{-1}$ de alcalinidade. Os microrganismos envolvidos neste processo são dos gêneros: *Archromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus* e *Pseudomonas*. (Metcalf et al., 2003).

Quando a oxidação de nitrogênio amoniacal é interrompida na geração de nitrito e a desnitrificação ocorre reduzindo o nitrito a gás nitrogênio, tem-se a chamada desnitrificação pela via curta (Equação 3.14). A remoção de nitrogênio por via curta é uma alternativa para reduzir custos associados à operação desses sistemas. Além de consumir apenas o oxigênio necessário para oxidação até nitrito, são necessários 60% da matéria orgânica como doadora de elétrons em relação à desnitrificação via nitrato.

As Equações 3.15 a 3.18 apresentam o modelo cinético de crescimento das bactérias heterotróficas desnitrificantes e seu decaimento endógeno. Nessas equações, S_{NH_4} , é a concentração de amônia (gN.m^{-3}), S_{O_2} a concentração de oxigênio dissolvido (g.m^{-3}), S_{COD} a

concentração de matéria orgânica expressa em DQO, X_H é a biomassa heterotrófica expressa como gDQO.L^{-1} . A Tabela 3.2 contém as demais constantes cinéticas.

$$\begin{array}{l} \text{Crescimento} \\ \text{heterotrófico NO}_2^- \\ \text{aceptor de elétrons} \end{array} \quad \mu_h \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{DQO}}{S_{DQO} + K_{DQO}^H} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^H} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^H} X_H \quad \text{Equação 3.15}$$

$$\begin{array}{l} \text{Decaimento} \\ \text{endógeno NO}_2^- \\ \text{aceptor de elétrons} \end{array} \quad b_H \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^H} X_H \quad \text{Equação 3.16}$$

$$\begin{array}{l} \text{Crescimento} \\ \text{heterotrófico NO}_3^- \\ \text{aceptor de elétrons} \end{array} \quad \mu_h \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{DQO}}{S_{DQO} + K_{DQO}^H} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^H} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^H} X_H \quad \text{Equação 3.17}$$

$$\begin{array}{l} \text{Decaimento} \\ \text{endógeno NO}_3^- \\ \text{aceptor de elétrons} \end{array} \quad b_H \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{NO_3}^H} X_H \quad \text{Equação 3.18}$$

Tabela 3.2 – Constantes cinéticas do processo de desnitrificação heterotrófica

Y_H	0,63 gDQOgDQO^{-1}
μ_h	6,0 dia^{-1}
η_d	0,8
$K_{O_2}^H$	0,2 gDQO.m^{-3}
$K_{NO_2}^H$	0,5 gN.m^{-3}
$K_{NO_3}^H$	0,5 gN.m^{-3}
K_{DQO}^H	4 gDQO.m^{-3}
$K_{NH_4}^H$	0,05 gN.m^{-3}
b_H	0,4 dia^{-1}

Y , coeficiente de rendimento celular; η_d , fator de redução anóxico; K , constante de meia saturação do substrato; μ , velocidade máxima de crescimento, b , constante de decaimento endógeno.

Fonte: Henze et al. (2000)

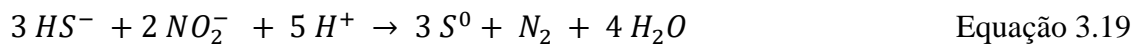
3.1.3 Desnitrificação autotrófica via compostos reduzidos de enxofre

Sob condições anaeróbias, as bactérias redutoras de sulfato (Sulfate reducing bactéria - SRB) usam sulfato como aceptor de elétrons final para a degradação de compostos orgânicos e produzem sulfeto de hidrogênio (H_2S). Após a unidade de tratamento anaeróbio, o sulfeto de hidrogênio pode estar presente tanto na fase líquida quanto no biogás gerado. O sulfeto de hidrogênio, além de tóxico para os seres humanos mesmo em concentrações baixas, diminui a qualidade do biogás, pois causa corrosão do concreto e do aço, o que inviabiliza o seu armazenamento e a produção de energia. Além disso, sua queima gera dióxido de enxofre (Jensen et al., 2009).

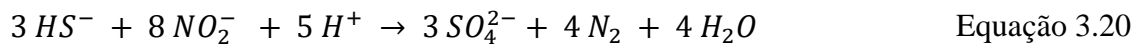
Processos biológicos para remoção de sulfeto têm ganhado atenção recentemente. Dentre eles, a desnitrificação autotrófica via compostos reduzidos de enxofre é relevante para o contexto de pós-tratamento de reatores anaeróbios, pois integra o ciclo do nitrogênio com o do enxofre e permite a remoção de ambos (Filho et al., 2010; Hubert et al., 2009; Pantoja Filho et al., 2015; Pokorna and Zabranska, 2015).

As equações 3.19 a 3.22 são referentes à desnitrificação autotrófica do nitrito e do nitrato. Nestes processos, bactérias oxidadoras de enxofre (sulfur oxidizing bactéria-SOB) utilizam compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons para reduzir N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ a N₂. Sistemas de desnitrificação baseados em S₀ tendem a ser dominados por espécies de *Thiobacillus* (Wang et al., 2016).

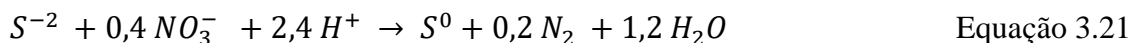
Desnitrificação autotrófica do Nitrito (Sulfeto a enxofre elementar)



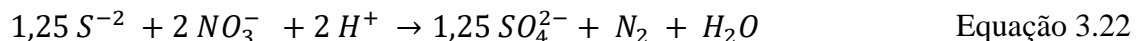
Desnitrificação autotrófica do Nitrito (Sulfeto a Sulfato)



Desnitrificação autotrófica do Nitrato (Sulfeto a enxofre elementar)



Desnitrificação autotrófica do Nitrato (Sulfeto a Sulfato)



Fonte: Souza e Foresti (2013)

Considerando-se a relação estequiométrica, para cada 1 mg de N-NO₃⁻ reduzido a N₂, consume-se 5,71 e 1,42 mg de S⁻² na oxidação a enxofre elementar e SO₄²⁻, respectivamente. Portanto, comparada com a desnitrificação heterotrófica convencional, a desnitrificação autotrófica tem duas vantagens: não há necessidade de uma fonte externa de carbono orgânico, e.g. metanol ou etanol, o que diminui o custo do processo; e menor produção de biomassa, o que minimiza os custos associados ao manuseio do lodo. Diversos trabalhos propuseram modelos cinéticos para a desnitrificação autotrófica (Campos et al., 2008; Claus and Kutzner, 1985; Wang et al., 2010; Xu et al., 2014). As equações 3.23 a 3.27 apresentam as expressões cinéticas e a Tabela 3.3 as constantes propostas por Xu et al., (2014) que foram obtidas utilizando cultura mista com remoção simultânea de sulfeto, nitrato e acetato.

Desnitrificação do nitrito via sulfeto (R1)	$\mu_{SOB}^{R1} \frac{S_s}{S_s + K_s^{R1} + \frac{(S_s)^2}{K_{I,S}^{R1}}} \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{NO_3}^{R1}} \frac{K_{I,NO_2}^{R1}}{S_{NO_2} + K_{I,NO_2}^{R1}} X_{SOB}$	Equação 3.23
Desnitrificação do nitrito via sulfeto (R2)	$\mu_{SOB}^{R2} \frac{S_s}{S_s + K_s^{R2} + \frac{(S_s)^2}{K_{I,S}^{R2}}} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^{R2} + \frac{(S_{NO_2})^2}{K_{I,NO_2}^{R2}}} X_{SOB}$	Equação 3.24
Desnitrificação do nitrato via enxofre (R3)	$\mu_{SOB}^{R3} \frac{X_s}{X_s + K_s^{R3}} \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{NO_3}^{R3}} X_{SOB}$	Equação 3.25
Desnitrificação do nitrito via enxofre (R4)	$\mu_{SOB}^{R4} \frac{X_s}{X_s + K_s^{R4}} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^{R4}} X_{SOB}$	Equação 3.26
Decaimento endógeno SOB	$b_{SOB} X_{SOB}$	Equação 3.27

Tabela 3.3 – Constantes cinéticas do processo de desnitrificação autotrófica via compostos reduzidos de enxofre.

Y_{SOB}	0,128 g DQOgS ⁻¹	Xu et al. (2013)
μ_{SOB}^{R1}	0,245 h ⁻¹	Xu et al. (2014)
μ_{SOB}^{R2}	0,135 h ⁻¹	Xu et al. (2014)
μ_{SOB}^{R3}	0,020 h ⁻¹	Xu et al. (2014)
μ_{SOB}^{R4}	0,083 h ⁻¹	Xu et al. (2014)
b_{SOB}	0,002 h ⁻¹	Wang et al. (2010)
K_s^{R1}	1,36 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{I,S}^{R1}$	2053,2 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{NO_3}^{R1}$	0,20 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)
K_{I,NO_2}^{R1}	0,698 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)
K_s^{R2}	1,80 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{I,S}^{R2}$	1,38 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{NO_2}^{R2}$	0,21 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)
K_{I,NO_2}^{R2}	0,65 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)
K_s^{R3}	0,215 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{NO_3}^{R3}$	0,183 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)
K_s^{R4}	174,51 gS.m ⁻³	Xu et al. (2014)
$K_{NO_2}^{R4}$	0,107 gN.m ⁻³	Xu et al. (2014)

Y , coeficiente de rendimento celular; K , constante de meia saturação do substrato; K_I , constante inibição; μ , velocidade máxima de crescimento, b , constante de decaimento endógeno.

Diferentes tipos de reatores vêm sendo estudados para executar a remoção de nitrogênio usando H₂S como doador de elétrons para desnitrificação autotrófica. Esse processo inclui o

uso de reatores de leito fixo aeróbio-anóxico (Pantoja, 2011), de reator de leito horizontal fixo misto aeróbio-anóxico (Guerrero and Zaiat, 2018), de reator de lodo granular (Yang et al., 2016), de reator de leito fixo alimentado em bateladas sequenciais e submetido a aeração intermitente (Moraes et al., 2013) e de reatores de membrana aerada (Chen et al., 2016). A semelhança entre todos esses sistemas é o fato de serem baseados em biofilme e dependerem de uma fase aeróbia, para a oxidação da amônia, e uma fase anóxica, para a oxidação do sulfeto.

O grande desafio destes sistemas é a dificuldade em disponibilizar o sulfeto para o processo desnitrificante nos períodos não aerados, devido à presença de oxigênio dissolvido remanescente, sendo este utilizado preferencialmente pelos microrganismos para a oxidação de sulfeto (Moraes et al., 2013).

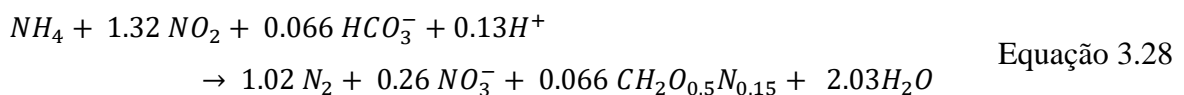
3.1.4 Anammox

O processo de oxidação anaeróbia de amônia (anaerobic ammonium oxidation - anammox) foi descoberto em um reator de biofilme de leito fluidizado desnitrificante em escala piloto (Mulder et al., 1995). Desde então, a utilização do processo anammox provou ser econômica e eficaz para tratamento de efluentes com alto teor de amônia (concentrações entre 400 e 1000 mgN.L⁻¹) e elevadas temperaturas (29 a 36 °C).

Existem seis gêneros conhecidos de bactérias anammox, que pertencem à ordem *Planctomycetales*, incluindo *C. Brocadia*, *C. Kuenenia*, *C. Jettenia*, *C. Anammoxoglobus*, *C. Scalindua* e *C. Anammoximicrobium*, todos identificados em instalações de tratamento de águas residuárias ou sistemas em escala de laboratório. No entanto, *C. Scalindua* é encontrado principalmente em ambientes naturais (Jetten et al., 2001; Kartal et al., 2008; Nsenga Kumwimba et al., 2020)

A razão para a alta eficiência e a economia deste processo está na capacidade dos microrganismos envolvidos em oxidar a amônia diretamente a nitrogênio gasoso utilizando o nitrito como acceptor de elétrons. Ainda, este processo é autotrófico, ou seja, utiliza apenas CO₂ como fonte de carbono. A estequiometria do processo é expressa na Equação 3.28.

Oxidação anaeróbia de amônia (anammox)



Fonte: (Strous et al., 1998)

A natureza anaeróbia e autotrófica desses organismos permite economias significativas em energia para aeração sem necessidade de carbono orgânico e menor produção de lodo. O gargalo das aplicações do processo é o período de inicialização relativamente longo, devido à taxa de crescimento extremamente lenta das bactérias que possuem tempo de geração de cerca de 11 dias (Strous et al., 1998). Além disso, o processo anammox depende da disponibilidade de amônia e nitrito no sistema, portanto o processo deve estar acoplado à nitrificação parcial. Chen et al. (2016), propuseram a Equação 3.29 e 3.30 para o equacionamento do processo anammox em MABR. A Tabela 3.4 apresenta as constantes cinéticas adotadas neste estudo.

$$\text{Crescimento anammox} \quad \mu_{An} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^{An}} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^{An}} \frac{K_{O_2}^{An}}{S_{O_2} + K_{O_2}^{An}} \frac{K_{I,NO_2}^{An}}{S_{NO_2} + K_{I,NO_2}^{An}} X_{An} \quad \text{Equação 3.29}$$

$$\text{Decaimento anammox} \quad b_{An} X_{An} \quad \text{Equação 3.30}$$

Fonte: (Chen et al., 2016)

Tabela 3.4 – Constantes cinéticas do processo anammox

Y_{An}	0,128 g DQOgN ⁻¹	Strous et al. (1998)
μ_{An}	0,003 h ⁻¹	Koch et al. (2000)
$K_{NH_4}^{An}$	0,07 g N L ⁻¹	Strous et al. (1998)
$K_{NO_2}^{An}$	0,05 g N L ⁻¹	Hao et al. (2001)
$K_{O_2}^{An}$	0,01 g DQO L ⁻¹	Strous et al. (1998)
K_{I,NO_2}^{An}	400 g N L ⁻¹	Lotti et al. (2012)
b_{An}	0,00013 h ⁻¹	Hao et al. (2001)

Y , coeficiente de rendimento celular; K , constante de meia saturação do substrato; K_I , constante inibição; μ , velocidade máxima de crescimento, b , constante de decaimento endógeno.

Fonte: Chen et al. (2016)

Destacam-se os baixos valores de coeficiente de rendimento celular, velocidade máxima de crescimento e constante de decaimento endógeno em comparação com os demais processos de conversão de nitrogênio, que constituem as principais vantagens do processo. Outro aspecto contemplado nesse modelo é a toxicidade do nitrito e a inibição pelo oxigênio. Strous et al. (1999) verificaram que o processo anammox foi completamente inibido por concentrações de nitrito superiores a 100 mg N.L⁻¹. Outros autores relataram concentrações semelhantes como prejudiciais para o processo anammox, mas alguns indicaram a inibição do nitrito como reversível e outros irreversível. Lotti et al. (2012) mostraram que o aumento do tempo de exposição a altas concentrações de nitrito aumentou a inibição. Nesse estudo, também foi

mostrado que as bactérias anammox podem resistir períodos de aeração de 1 hora a concentrações de oxigênio dissolvido de 5 mg.L^{-1} .

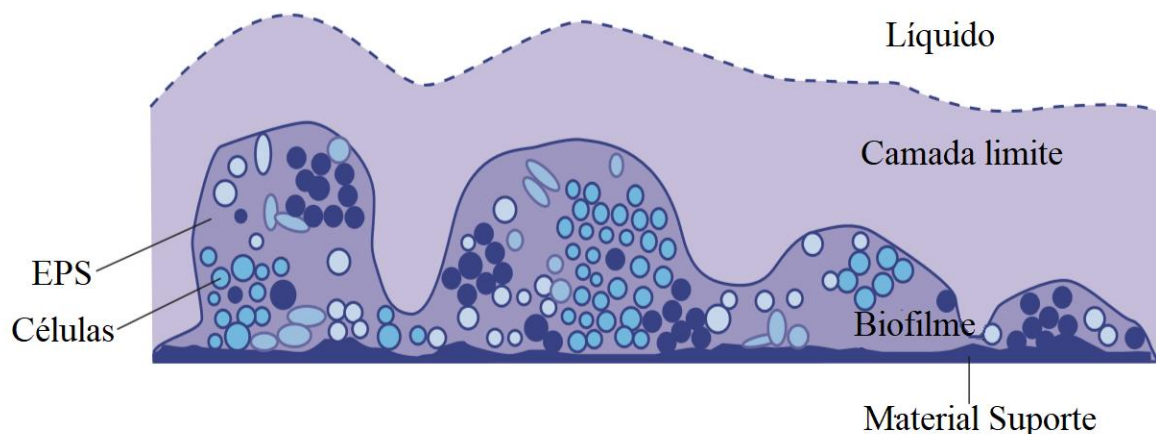
3.2 NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEAS (NDS) EM REATORES DE BIOFILME

Os processos biológicos de tratamento de águas residuárias são baseados no consumo dos poluentes presentes na água pelos microrganismos e sua separação da fase líquida. Para que um sistema biológico de tratamento seja eficiente, três características são fundamentais: alta concentração de microrganismos ativos no sistema, contato entre os microrganismos e os poluentes e boa separação dos microrganismos da água antes do lançamento final.

Atualmente, o sistema de lodos ativados é a principal tecnologia de tratamento biológico no mundo. Nestes sistemas, a biomassa cresce em flocos suspensos e, portanto, possuem bom contato com os poluentes dissolvidos na água. Ademais, é necessária uma unidade de separação sólido-líquido e o recirculo do lodo para manter a biomassa ativa no sistema.

Sistemas baseados em biofilme, por muitas vezes, não necessitam uma unidade de separação posterior. Biofilmes são estruturas complexas que consistem em células procarióticas e outros microrganismos, como leveduras, fungos e protozoários, que secretam substâncias poliméricas extracelulares (extracellular polymeric substance - EPS). Essas substâncias são constituídas de polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos e água (Boltz et al., 2017). Na natureza, os biofilmes são comunidades de múltiplas bactérias nas quais cada espécie preenche um nicho ecológico, dependendo do seu metabolismo e morfologia (Stoodley et al., 2002). A Figura 3.3 mostra um desenho esquemático dos principais constituintes de um biofilme: o material suporte, as células, as EPS, a camada de limite de líquido e, por fim, o meio líquido.

Figura 3.3 – Principais constituintes de um biofilme



Fonte: modificado de Henze et al. (2008)

As EPS têm a função de fixar o biofilme ao material suporte, mantendo as células imobilizadas, o que ajuda no desenvolvimento de biofilmes nitrificantes e outros microrganismos de crescimento lento (Bassin et al., 2012). Além disso, as EPS protegem os microrganismos de mudanças ambientais súbitas, exposição a metais pesados e outros agentes tóxicos (Shao et al., 2017). Em sistemas de biomassa imobilizada é possível facilmente obter alta concentração de microrganismos no sistema e alto tempo de retenção celular. A grande limitação nesse caso é o acesso aos poluentes pelos microrganismos. Ao contrário do crescimento suspenso, a transferência de massa ocorre principalmente por difusão molecular; portanto, os poluentes sofrem resistência para alcançar as camadas profundas do biofilme.

A difusão molecular é mais lenta que o consumo do substrato pelos microrganismos na grande maioria dos casos práticos. Apesar dessa limitação das velocidades de conversão de poluentes devido à resistência no transporte de massa, essa resistência também proporciona uma vantagem aos sistemas de biofilmes, que é a formação de gradientes de concentração de substrato em seu interior. A consequência da formação desses gradientes é o desenvolvimento de diferentes nichos ecológicos no interior do biofilme.

A aplicação da tecnologia de biofilme no tratamento de efluentes originou-se da operação industrial de filtros percoladores (trickling filters - TF) no início da década de 1880 no País de Gales, Grã-Bretanha (Qureshi et al., 2005). Desde então, vários tipos de reatores de biofilme aderido a algum tipo de material suporte têm sido utilizados para tratamento de águas residuárias, como por exemplo: biofiltro submerso; reatores biológicos rotativos de contato (rotating biological contactors- RBCs); reatores de leito fluidizado; reatores de biofilme de leito móvel (moving bed bioreactor - MBBRs); sistemas de lodos ativados híbrido (integrated fixed-film activated sludge – IFAS); reatores de biofilme aderidos à membrana (membrane biofilm reactors – MBfRs); reatores de leito empacotado (packed bed reactors - PBR) e reatores de leito estruturado (structured bed reactors – STBR).

Reatores com biomassa granular como os reatores anaeróbios de manta de lodo (reatores UASB) ou os com biomassa granular aeróbia (Nereda®), podem ser considerados como um tipo específico de reatores de biofilme. Em comparação aos grânulos, sistemas com biomassa aderida à algum material suporte possuem a vantagem da eliminação das incertezas quanto à granulação.

A escolha do material suporte adequado para a imobilização da biomassa ativa tem recebido grande atenção no projeto de biorreatores. Geralmente se busca um material inerte com grande área superficial específica para a fixação da biomassa, que pode ser grãos de

pequeno diâmetro (0,2 a 2 mm) ou um material com alta porosidade. No caso dos MBfRs, apesar de a membrana ser um material inerte, ela também é responsável para transferência de algum gás para a biomassa. As características desta permeabilidade se tornam fundamentais para o projeto. Quando o gás utilizado no sistema é o ar, o sistema é denominado reator de membrana aerada (membrane aerated biofilm reactor - MABR).

A ocorrência da NDS é possível quando há formação de biofilme aderido a material suporte, grânulo ou floco, em que gradientes de concentrações de oxigênio possibilitam a manutenção de ambientes óxicos e anóxicos, devido ao consumo do oxigênio ao longo da profundidade do biofilme. Assim, as reações de nitrificação e desnitrificação acontecem em uma mesma unidade operacional. Existem algumas vantagens de sistemas que operam com NDS em relação aos sistemas de remoção de nitrogênio convencionais tais como: dispensam unidades adicionais de tratamento; permitem a manutenção de condições operacionais constantes, sem que haja necessidade de equipamentos de monitoramento e controle entre zona aerada e zona anóxica; requerem menor demanda de oxigênio e de alcalinidade, resultando na redução de custos de implantação e operacionais (Canto et al, 2008; Münch et al, 1996).

A seguir, tendo como foco a remoção de compostos nitrogenados, apresenta-se uma revisão sobre os reatores contínuos que usam a espuma de poliuretano e, também, sobre reatores de membrana aerada, que possuem a característica de contra-difusão.

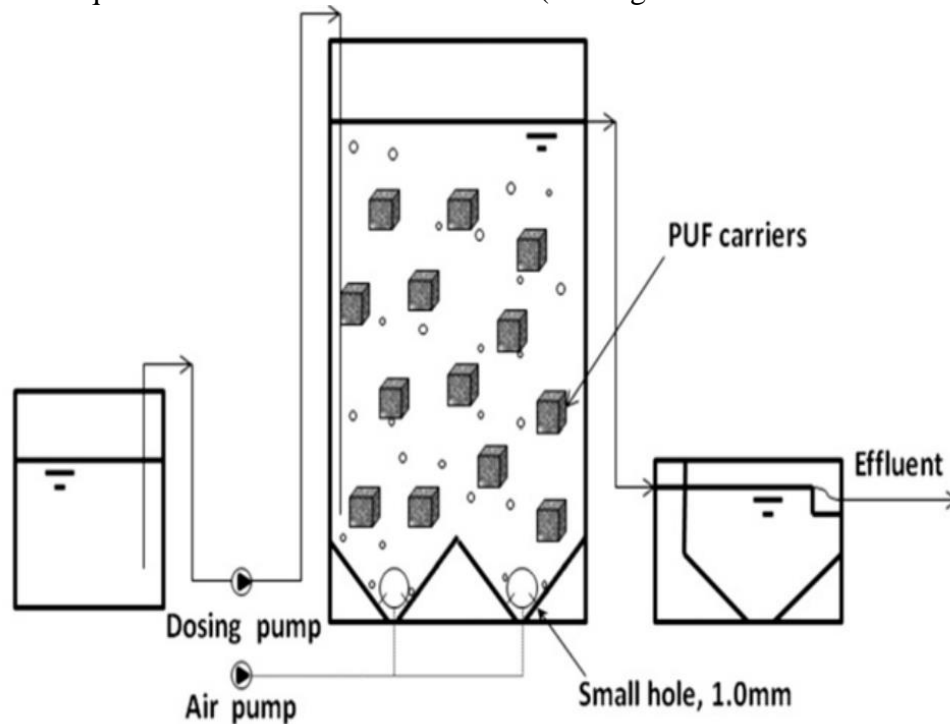
3.2.1 NDS em reatores de espuma de poliuretano como material suporte

Reatores de biofilme que empregam espuma de poliuretano (PU) como suporte para biomassa têm apresentado bom desempenho na remoção simultânea de nitrogênio e matéria orgânica. A escolha da espuma de PU como material suporte se deve, principalmente, às suas características de alta porosidade, boa resistência mecânica e de baixo custo (Guo et al., 2010). Existem diversas configurações de reatores que podem utilizar espumas de PU como material suporte. Neste item, serão discutidos os MBBR e os STBR, pois estes sistemas possuem maior similaridade com o sistema proposto nesta tese.

Os MBBR, com partículas de espuma de PU, são reportados desde a década de 1980 e são empregados com sucesso para tratar esgotos, águas residuárias industriais e atualizar pequenas estações de tratamento. As características desses sistemas é o aumento da concentração de biomassa ativa, enchendo-se de 15 a 30% do volume de um tanque aerado com partículas de algum material suporte. As partículas do material suporte seguem os movimentos

hidráulicos do meio líquido, que são criados pelos dispositivos de aeração e agitação e, portanto, são distribuídos pelo volume total do reator (Figura 3.4).

Figura 3.4 – Esquema de um reator de leito móvel (moving bed biofilm reactor - MBBR)



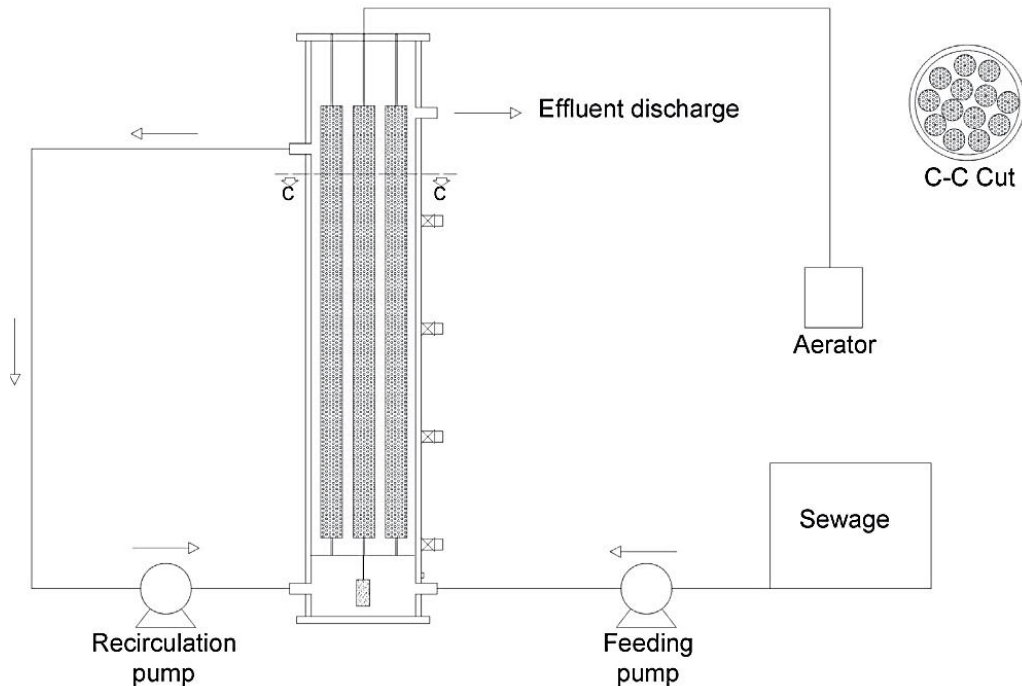
Fonte: Feng et al. (2012)

Deguchi e Kashiwaya (1994) relataram que a taxa de nitrificação e desnitrificação do MBBR contendo partículas de PU foram 1,5 a 1,6 vezes maiores que as de um reator convencional de lodos ativados. Kondo et al. (1992) avaliaram, em MBBR, o efeito das características físicas de espumas de poliestireno e poliuretano na remoção de nitrogênio. Foram testadas espumas com tamanhos dos poros de 14 a 40 ppi (poros por polegada) e tamanho das partículas cúbicas de 8 a 16 mm. O material melhor avaliado para a remoção de nitrogênio e matéria orgânica foram cubos de espuma poliuretano de 12 mm com 40 ppi.

Em sistemas MBBR as partículas de espuma de poliuretano podem se tornar anaeróbias no centro e assentar no piso do reator, diminuindo o contato destas partículas com os poluentes. Ademais, também pode ocorrer a perda de material suporte junto com o efluente final. Em reatores de leito empacotado, há grande preocupação com a colmatação do leito e a criação de caminhos preferenciais. Para contornar esses problemas, foi proposto o reator de leito fixo estruturado (structured bed reactor – STBR)(Moura et al., 2012). No STBR, a espuma é fixada envolta às hastes de PVC no interior do reator, formando cilindros de espuma com 2 a 3 cm de

diâmetro (Figura 3.5). Esses cilindros impedem a perda de material suporte para o efluente e sua disposição evita a colmatação do leito.

Figura 3.5 - reator de leito fixo estruturado (structured bed reactor – STBR)



Fonte: Moura et al. (2018)

O STBR precisa receber a quantidade adequada de matéria orgânica biodegradável para a atividade desnitrificante, bem como oxigênio e alcalinidade para a atividade nitrificante. Para controlar a disponibilidade de oxigênio, é utilizada a aeração intermitente. Essa estratégia consiste em desligar a aeração por um período de tempo (de 30 minutos a 3 horas). Uma linha de recirculação garante as condições de mistura no reator e qualidade do efluente constante (Moura et al., 2016).

Entre as dificuldades reportadas para se obter altas eficiências de remoção de nitrogênio em reatores de leito estruturado e aeração intermitente destacam-se: altas concentrações de OD no meio líquido, que permitem que bactérias heterotróficas desnitrificantes usem o oxigênio livre em vez do nitrato como receptor de elétrons (Barana et al, 2013); problemas de transferência de oxigênio para a nitrificação devido ao acúmulo de biomassa (Santos et al. 2016); acúmulo de nitrato no sistema devido à baixa disponibilidade de doadores de elétrons para desnitrificação (relações DQO/N próximas à estequiométrica) (Barana et al, 2013; Silva, 2016).

A Tabela 3.5 apresenta o desempenho da NDS em estudos que utilizaram reatores MBBR e STBR com espuma de poliuretano como material suporte. Nesses sistemas, eficiências de remoção de nitrogênio acima de 70% foram alcançadas tanto em STBR (Barana et al., 2013; Moura et al., 2012; Santos et al., 2016), quanto em MBBR (Xing et al., 2000). Nas condições em que não houve plena remoção de N-total nota-se que a etapa limitante foi a desnitrificação heterótrofica, uma vez que a eficiência de oxidação de NTK acima de 80% é facilmente atingida, com tempos de retenção hidráulica de 9 a 12 horas.

Silva et al. (2018) testaram diferentes períodos de aeração intermitente em STBR para remoção de nitrogênio e matéria orgânica de efluente de reator UASB com relação DQO/N de 3,03. Nesse estudo, o período de aeração intermitente de 1h/2h (período aerado/não aerado) foi o que apresentou melhores resultados de oxidação de NTK e remoção de N-total, equivalentes a $82\% \pm 7\%$ e $29\% \pm 10\%$, respectivamente. Períodos de não aeração de 3 horas comprometeram a eficiência da oxidação da amônia ($42\% \pm 19$) pela baixa disponibilidade de oxigênio. Portanto, a estratégia de aeração intermitente não foi suficiente para impedir que parte da matéria orgânica biodegradável fosse oxidada por comunidades aeróbias e, ao mesmo tempo, garantir uma alta oxidação de NTK.

Nos trabalhos de Santos et al. (2016) e Barana et al. (2013), a manutenção da remoção de nitrogênio total sob limitação da disponibilidade de doadores de elétrons possibilitou identificar o estabelecimento do processo anammox como via complementar de remoção de nitrogênio em condições de baixa relação DQO/N (2,5 a 2,7). O processo anammox é favorecido quando há concentrações altas de nitrogênio afluente que, no caso desses estudos, foram de 169 a 193 mg.L⁻¹. Nessas condições, a coexistência de desnitrificação heterotrófica e anammox é tecnicamente viável e economicamente favorável, mesmo quando o efluente contém amônia e carbono orgânico (Kumar; Lin 2010).

Tabela 3.5 – Desempenho da NDS em reatores de biofilme com espuma de poliuretano como material suporte.

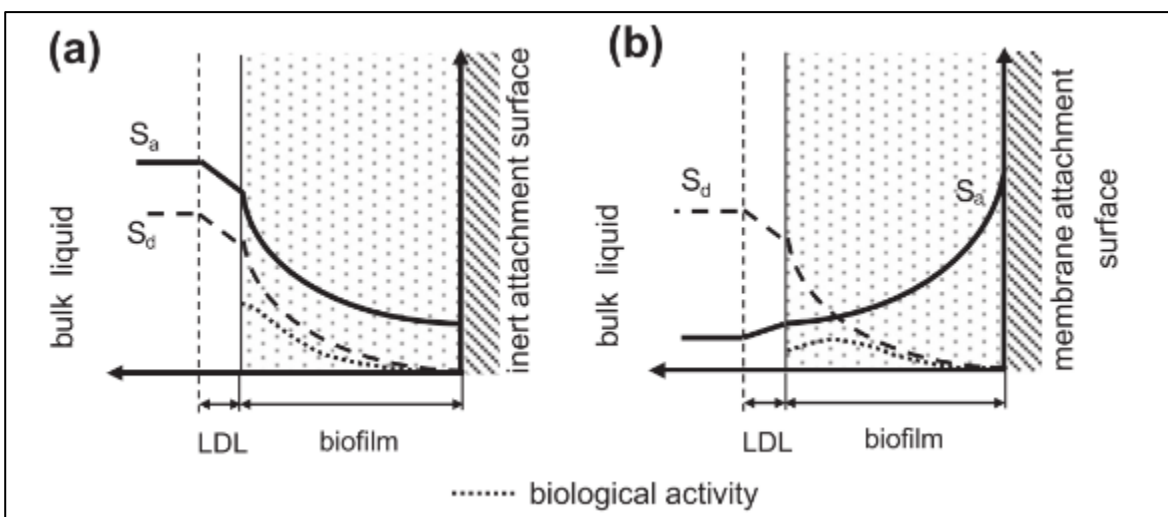
Volume reator (L)	Área superficial do material suporte (m ²)	TDH (h)	Concentração de DQO afluente (mg.L ⁻¹)	Concentração de NTK afluente (mg.L ⁻¹)	DQO/N	Carga de N volumétrica (g.dia ⁻¹ .L ⁻¹)	Carga de N ao biofilme (gN.m ⁻² dia ⁻¹)	Eficiência de Oxidação de NTK	Eficiência de remoção de N-Total	Referência
STBR										
9,6	0,86	12	120	34	3,5	0,068	0,76	82%	29%	(Silva et al., 2018)
6,1	0,74	12	353	31	11,6	0,061	0,51	82%	89%	(Moura et al., 2012)
5,5	0,74	11,2	489	64	7,7	0,137	1,02	92%	72%	(Santos et al., 2016)
5,5	0,74	11,2	489	179	2,7	0,384	2,88	92%	84%	(Santos et al., 2016)
5,5	0,74	11,2	529	193	2,7	0,414	3,10	85%	82%	(Santos et al., 2016)
13,2	0,57	24	418	169	2,5	0,169	3,90	96%	62%	(Barana et al., 2013)
9,3	0,57	12	298	40	7,5	0,080	1,30	90%	53%	(Leick et al., 2017)
MBBR										
6	0,80	14	200	47	4,2	0,081	0,61	62%	11%	(Chu and Wang, 2011)
6	0,80	14	401	50	8,1	0,085	0,64	64%	42%	Chu and Wang, 2011)
6	0,48	7	300	25	12,0	0,086	1,07	95%	54%	(Feng et al., 2012)
6	0,72	7	300	25	12,0	0,086	0,71	95%	49%	(Feng et al., 2012)
6	0,96	7	300	25	12,0	0,086	0,54	95%	52%	(Feng et al., 2012)
10	0,50	8	100	40	2,5	0,120	2,40	80%	27%	(Xing et al., 2000)
10	0,50	8	100	20	5,0	0,060	1,20	95%	59%	(Xing et al., 2000)
10	0,50	8	150	20	7,5	0,060	1,20	88%	78%	(Xing et al., 2000)
10	0,50	8	200	20	10,0	0,060	1,20	95%	85%	(Xing et al., 2000)
10	0,50	8	300	40	7,5	0,120	2,40	70%	51%	(Xing et al., 2000)

3.2.2 NDS em MABR e contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons

A influência da relação DQO/N no processo NDS foi avaliada por He et al (2009). Nesse trabalho, verificou-se que a remoção de N-total aumentou de 18,05% (DQO/N = 6,12) para 89,71% (DQO/N = 21,29) com a adequação da quantidade de matéria orgânica. Diversos outros trabalhos que utilizaram biofilme em floco ou granular para NDS mostram que, em baixas relações DQO/N, mesmo quando as relações estequiométricas são satisfatórias, ocorre a falta de doadores de elétrons para a desnitrificação heterotrófica (Chiu et al, 2007; Fu et al, 2009; Liu et al, 2010; Lochmatter et al, 2013). Isso ocorre quando o oxigênio é introduzido diretamente no meio líquido (co-difusão), devido ao consumo da matéria orgânica por bactérias aeróbias heterotróficas, durante o processo de difusão do oxigênio no interior do biofilme, (Figura 3.4-a).

A contra-difusão de aceptores e doadores de elétrons (Figura 3.6-b) ocorre em MABR e têm se mostrado eficaz na utilização do substrato orgânico para a desnitrificação heterotrófica. Nestes sistemas, o oxigênio é transferido através da membrana que serve de material suporte para o crescimento da biomassa (Nerenberg, 2016).

Figura 3.6 – padrão de concentração de substrato e oxigênio no biofilme a) co-difusão e b) contra-difusão. S_a – aceptores de elétrons, S_d – doadores de elétrons.



Fonte: Martin e Nerenberg (2012)

A contra-difusão permite que a comunidade nitrificante aeróbia se desenvolva na zona de alta concentração de oxigênio dissolvido e baixa disponibilidade de carbono orgânico, aumentando a velocidade de nitrificação, pois esse processo é sensível à concentração de DQO no meio líquido (Downing e Nerenberg, 2008). O crescimento do biofilme atinge o equilíbrio de forma distinta em cada caso. Na co-difusão, o biofilme cresce até entrar em equilíbrio com

as taxas de desprendimento e decaimento endógeno, enquanto que, na contra-difusão, o biofilme cresce até que ocorra a limitação do receptor ou do doador de elétrons. A resistência à transferência de massa no meio líquido afeta negativamente as velocidades de conversão do biofilme de co-difusão à medida em que sua espessura aumenta. Na contra-difusão, a resistência à transferência de massa proporciona uma barreira à perda do substrato interno para o meio líquido, podendo favorecer as velocidades de conversão (Nerenberg 2016, Martin; Nerenberg, 2012).

A obtenção de altas eficiências de remoção de nitrogênio (acima de 80%) foram reportados por Lin et al (2015), que utilizaram sistema MABR mantendo relações DQO/N maiores ou iguais a 5, e concentração inicial de NTK de 50 mg.L^{-1} . Os problemas relacionados aos sistemas MABR se referem a: supercrescimento do biofilme, que dificulta o desempenho devido à limitação da difusão do substrato; desafios operacionais para a manutenção da espessura ideal do biofilme; e identificação de membranas de baixo custo (Semmens et al, 2003). A Tabela 3.6 apresenta os resultados e os principais parâmetros dos MABR em estudos que avaliaram o desempenho da NDS.

A Figura 3.7 apresenta, de forma gráfica, a remoção de N-total versus a relação DQO/N dos estudos apresentados nas tabelas 3.5 e 3.6. Nesta figura é possível notar a vantagem dos sistemas de MABR, quanto a remoção de N-total, especialmente em situações de baixa relação DQO/N.

Figura 3.7 – Remoção de N-total versus relação DQO/N em trabalhos com reatores de biofilme fixo em espuma de poliuretano e MABR

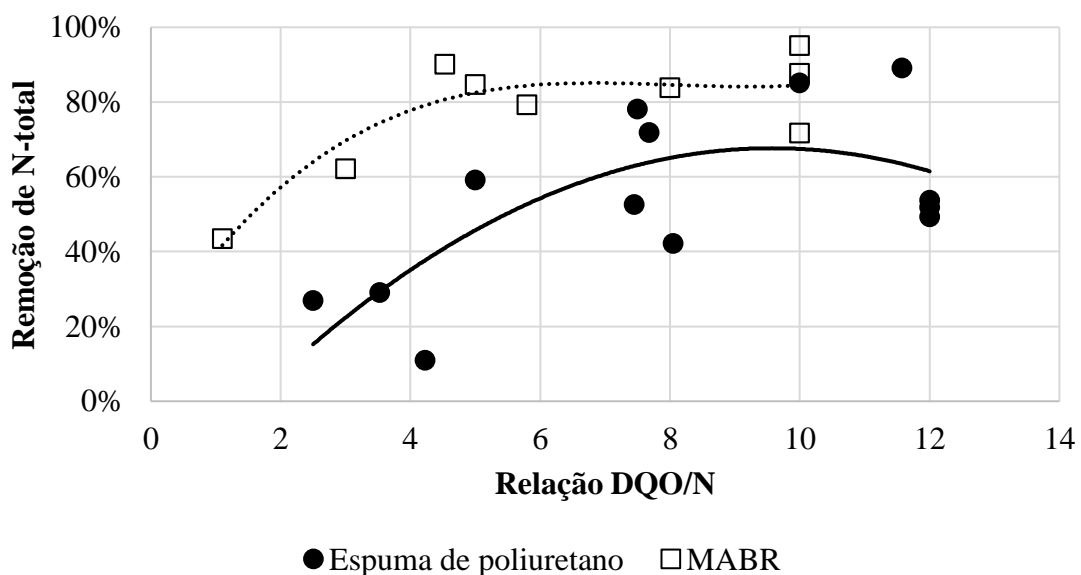


Tabela 3.6 - Desempenho da NDS em MABR.

Volume reator (L)	Área superficial do material suporte (m ²)	TDH (h)	Concentração de DQO afluente (mg.L ⁻¹)	Concentração de NTK afluente (mg.L ⁻¹)	DQO/N	Carga de N volumétrica (g.dia ⁻¹ .L ⁻¹)	Carga de N ao biofilme (gN.m ² dia ⁻¹)	Eficiência de Oxidação de NTK	Eficiência de remoção de N-Total	Referencia
6.0	0.25	24	435	75	5.8	0.075	1.84	99%	79%	(Quan et al., 2018)
6.0	0.25	24	83	75	1.1	0.075	1.84	99%	43%	(Quan et al., 2018)
3.8	0.45	24	500	50	10.0	0.050	0.42	90%	88%	(Lin et al., 2016)
3.8	0.45	24	400	50	8.0	0.050	0.42	90%	84%	(Lin et al., 2016)
3.8	0.45	24	250	50	5.0	0.050	0.42	93%	85%	(Lin et al., 2016)
3.8	0.45	24	150	50	3.0	0.050	0.42	85%	62%	(Lin et al., 2016)
3.8	0.45	24	300	30	10.0	0.030	0.25	95%	95%	(Lin et al., 2015)
3.8	0.45	24	500	70	10.0	0.070	0.58	78%	72%	(Lin et al., 2015)
7.0	2.95	6	394	87	4.5	0.348	0.82	90%	90%	(Semmens et al., 2003)

Outra vantagem da utilização da contra-difusão é a manutenção de um meio líquido anóxico, que pode permitir a remoção de sulfeto de hidrogênio presente no biogás e na fase líquida, oriundos do tratamento anaeróbio. A viabilidade de MABR para a remoção simultânea de nitrogênio, metano dissolvido e sulfeto de efluentes da digestão anaeróbia foi analisada por Chen et al (2016) através de simulações. A simulação mostrou a viabilidade de remoção de mais de 97% desses compostos.

Esta pesquisa visa, portanto, aliar a simplicidade operacional de sistemas com biomassa aderida à espuma de poliuretano à característica de contra-difusão utilizada em sistema MABR. Ao contrário dos sistemas de biofilme aderidos à membrana, o sistema de espuma de poliuretano permite que a espessura do biofilme seja controlada pela adoção de diferentes espessuras de espuma. O suporte de espuma de poliuretano pode proteger o biofilme contra cisalhamento, fornecendo pontos de ancoragem protegidos por causa dos grandes volumes de poros. Além disso, a espuma de poliuretano é um material barato, aspecto muito importante para a viabilidade de sistemas de remoção de nutrientes em países em desenvolvimento, como o Brasil.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta tese está dividida em duas etapas. A primeira consistiu em explorar, em escala de bancada, a aplicação da contra-difusão em reator de leito fixo em espuma de poliuretano. Foram avaliadas diferentes espessuras da espuma e as características da água residuárias, como a concentração de nitrogênio amoniacal e a relação DQO/N. Na segunda etapa, foram utilizadas células de fluxo. As células de fluxo são reatores em menor escala, que simulam o reator em escala de bancada e que permitem a medição dos gradientes de concentração no biofilme através de microeletrodos.

4.1 ETAPA 1 – OPERAÇÃO DE REATORES EM ESCALA DE BANCADA:

As hipóteses testadas na Etapa 1 foram: A espessura da espuma de poliuretano tem um papel fundamental para garantir ambientes aeróbios e anóxico, necessários para NDS; Espessuras muito pequenas não permitem gradientes de concentração suficientes enquanto que espessuras maiores propiciam maior resistência à transferência de massa. A diminuição da relação DQO/N no afluente favorece a nitrificação em detrimento da desnitrificação; e, por último; maiores concentrações de amônia no afluente favorecem a ocorrência de processo anammox concomitante à remoção de matéria orgânica.

4.1.1 Reator em escala de bancada

O reator biológico foi construído por um cilindro de acrílico com diâmetro interno de 14 cm e 40 cm de altura, com uma base cônica de 13 cm de altura e volume útil de 5 litros. O tempo de detenção hidráulica foi de 24 horas e o reator foi mantido em câmara a 30°C. No seu interior, há inserido um cilindro de PVC de 63,5 mm de diâmetro, preso à estrutura de fechamento no topo da unidade (Figura 4.1 e Figura 4.2). Na saída do efluente há um pequeno volume por onde é realizada a recirculação do efluente e também serve para realizar medidas da concentração de oxigênio dissolvido do compartimento externo.

O interior do tubo (compartimento interno) está em contato com a atmosfera por onde é realizada a aeração a partir de um compressor de ar acoplado a uma pedra porosa. A vazão de ar foi ajustada em 5 L.min⁻¹ por meio do medidor de fluxo de ar instalado na linha de aeração. O compartimento interno é separado do compartimento externo por uma camada de espuma de poliuretano. A espuma de poliuretano está presa a uma estrutura de aço inoxidável que lhe dá sustentação e a área externa do cilindro de espuma é de 0,039 m². Foram utilizadas ao todo três

espessuras de espuma, de 10, 5 e 2 mm, a partir daqui os reatores serão denominados como *R10*, *R5* e *R2* respectivamente.

Após os resultados dos ensaios hidrodinâmicos, o reator foi submetido à recirculação do efluente com razão de recirculação igual a 3. A justificativa para a adoção da recirculação será discutida no item 7.1 *Ensaio hidrodinâmicos*.

Figura 4.1- Foam aerated biofilm reactor (FABR). 1. Compressor de ar 2. Medidor de vazão de ar 3. Selo hídrico 4. Pedra porosa 5. Espuma de poliuretano. 6. Zona de aeração 7. Bomba de alimentação 8. Bomba de recirculação 9. Efluente.

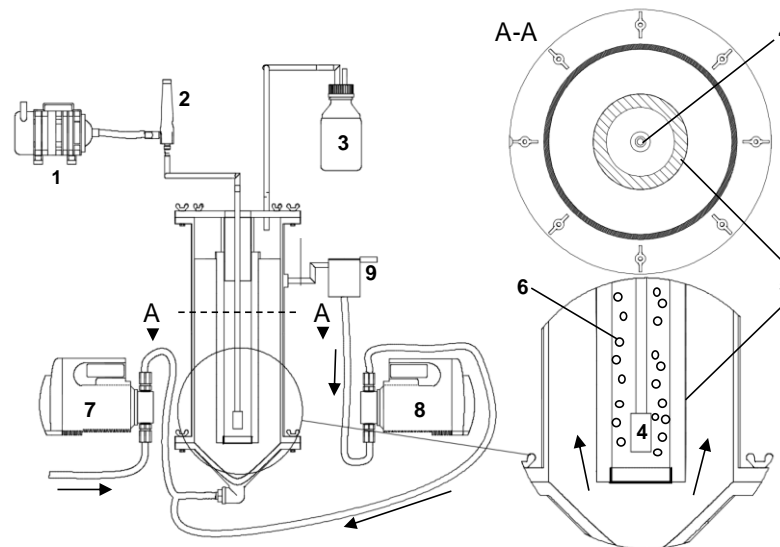
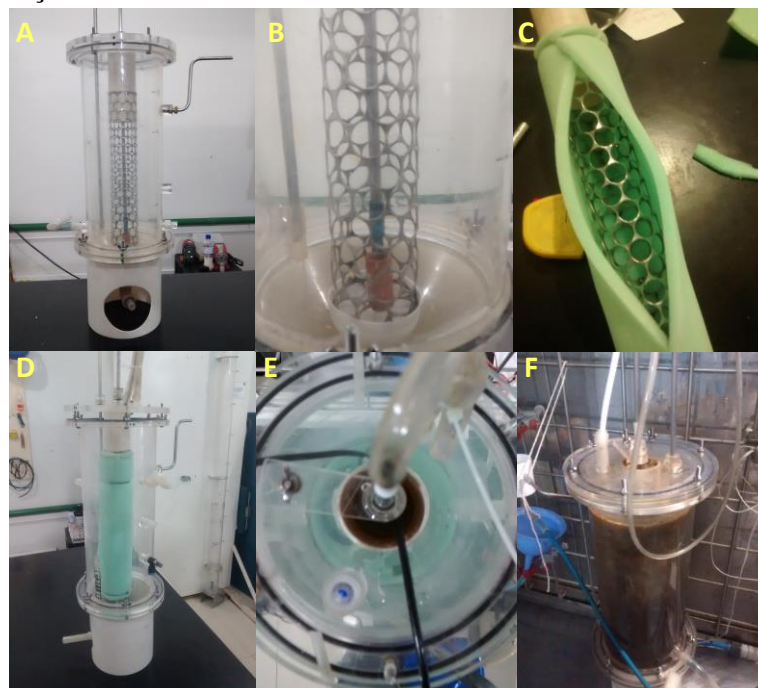


Figura 4.2 – Fotos da montagem do aparato experimental. (A) Reator sem o revestimento de espuma. (B) Detalhe da pedra porosa. (C) Montagem do revestimento de espuma. (D) Reator com cilindro interno revestido por espuma. (E) Detalhe da estrutura de fechamento do topo. (F) Reator após inoculação.



4.1.2 Águas residuárias

O reator foi alimentado com água residuária sintética. Os principais constituintes da água foram: acetato de sódio como fonte de doador de elétrons; cloreto de amônia como fonte de nitrogênio; e bicarbonato de sódio para garantir a alcalinidade. Além desses componentes, micronutrientes foram adicionados para suprir as necessidades nutricionais e promover o desenvolvimento dos microrganismos presentes no sistema. Foram utilizadas três diferentes composições de água residuária conforme apresenta a Tabela 4.1.

Todas as águas residuárias foram suplementadas com 2.5 mL.L⁻¹ da seguinte solução de sais: NaCl (100 g.L⁻¹), CaCl₂.2H₂O (2.8 g.L⁻¹), e MgCl₂.6H₂O (1.8 g.L⁻¹) e 1.0 mL.L⁻¹ da seguinte solução de micronutrientes: ácido nitrilotriacético (12.8 g.L⁻¹), FeCl₃.6H₂O (1.35 g.L⁻¹), MnCl₂.4H₂O (0.1 g.L⁻¹), CoCl₂.6H₂O (0.024 g.L⁻¹), CaCl₂.2H₂O (0.1 g.L⁻¹), ZnCl₂.4H₂O (0.1 g.L⁻¹), CuCl₂.2H₂O (0.025 g.L⁻¹), H₃BO₃ (0.01 g.L⁻¹), Na₂MoO₄.2H₂O (0.024 g.L⁻¹), NaCl (1 g.L⁻¹), Na₂SeO₃.5H₂O (0.026 g.L⁻¹) e NiCl₂.6H₂O (0.12 g.L⁻¹).

Tabela 4.1 Composição da água residuária sintética

Água residuária	AR1	AR2	AR3
Concentração de N-NH₄ (mgN.L ⁻¹)	40	40	100
Concentração de acetato (mg DQO.L ⁻¹)	200	100	500
Concentração de bicarbonato (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	300	300	800
DQO/N	5	2,5	5
Reatores utilizados	R10 R5 R2	R10 R5	R10

4.1.3 Inóculo

O reator foi inoculado de acordo com procedimento adotado por Santos et al. (2016), usando uma mistura de lodo biológico anaeróbico da estação de tratamento de águas residuárias da Avícola Dacar e 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). A espuma foi disposta em recipiente plástico, adicionando-se a mistura de lodos de maneira a garantir o contato de todo o meio suporte. Após período de 2 horas, retirou-se o excesso de lodo do cilindro de espuma, inserindo-o no reator.

4.1.4 Análises Físico-químicas

Amostras do afluente, efluente e do compartimento interno foram coletadas semanalmente e analisadas de acordo com a Tabela 4.2. As amostras foram previamente filtradas em filtros de membrana de 0.45 µm. O oxigênio dissolvido no meio líquido do reator foi monitorado com sonda de medidor por luminescência Hach, modelo LDO HQ101.

Tabela 4.2 – Análises Físico Químicas

Variáveis	Metodologia
Alcalinidade	Titulométrico (Dilallo; Albertson 1961) modificado por Ripley et al. 1986)
Demanda Química de Oxigênio	Colorimétrico (APHA, 2005)
pH	Potenciométrico (APHA, 2005)
Oxigênio Dissolvido	Luminescência, Eletrodo HACH intellicall
Nitrogênio Amoniacal	Colorimétrico (APHA, 2005)
Nitrito	Colorimétrico (APHA, 2005)
Nitrato	Ultravioleta (APHA, 2005)

4.1.5 Ensaios Hidrodinâmicos

A aeração interna ao material suporte pode causar movimento convectivo no meio líquido semelhante a um reator do tipo air-lift. Este movimento ocorre devido à diferença de densidade do líquido na região aerada (compartimento interno) e não aerada (compartimento externo). O movimento convectivo entre os compartimentos pode gerar um biofilme homogêneo. Para que comunidades microbianas aeróbias e anóxicas se estabeleçam em diferentes partes do material suporte, o transporte de massa deve ocorrer principalmente por difusão.

A fim de verificar as características do escoamento no reator e o impacto da aeração, foram realizados ensaios hidrodinâmicos com e sem a aeração, utilizando-se NaCl (10g.L⁻¹). A adição do traçador no reator ocorreu na forma de degrau, segundo descrito em Levenspiel (1999). As amostras do efluente foram analisadas continuamente por um condutivímetro a cada 30 segundos e registradas por um computador. Deste modo, obtém-se os dados da concentração de NaCl ao longo do tempo no efluente do reator. A resposta do sistema é dada por meio da distribuição cumulativa $F(t)$ que relaciona a concentração de saída do traçador com a concentração inicial (Equação 4.1)

$$F(t) = \left[\frac{C_{saída}}{C_{max}} \right]_{degrau} \quad \text{Equação 4.1}$$

Em que: $C_{saída}$ é a concentração do traçador na saída do reator e C_{max} a concentração máxima do traçador obtida em cada experimento, considerada constante para cada experimento.

A função $F(t)$ não é utilizada diretamente no equacionamento dos dados hidrodinâmicos do reator e deve ser transformada na curva de distribuição do tempo de residência (DTR). A curva DRT ou $E(t)$ descreve quantitativamente em quanto tempo diferentes elementos de fluido permanecem no reator e é obtida por meio da diferenciação da Equação 4.1 (Equação 4.2).

$$E(t) = \frac{d}{dt} \left[\frac{C_{saída}}{C_{max}} \right]_{degrau} \quad \text{Equação 4.2}$$

Para se obter boa diferenciação, os dados da curva $F(t)$ foram ajustados à curva de Boltzman pelo algoritmo de Levenberg-Maquart. A partir dessa curva foi então calculada a derivada de cada ponto. A partir da equação 4.2, é possível calcular o TDH (tempo de detenção hidráulico) médio real pela Equação 4.3. A variância será calculada pela Equação 4.4.

$$\theta_h = \frac{\int_0^{tf} t \cdot E(t) \cdot dt}{\int_0^{tf} E(t) \cdot dt} \quad \text{Equação. 4.3}$$

$$\delta^2 = \frac{\int_0^{tf} (t - \theta_h)^2 \cdot E(t) \cdot dt}{\int_0^{tf} E(t) \cdot dt} \quad \text{Equação 4.4}$$

Considerando o modelo de tanques de mistura completa em série, será possível calcular o número de reatores (N), de acordo com a Equação 4.5:

$$N = \frac{\theta_h^2}{\delta^2} \quad \text{Equação 4.5}$$

A derivada, integrais e o ajuste a curva de Boltzman foram obtidos utilizando o software Origin 9.1®.

4.1.6 Ensaios de transferência de oxigênio entre os compartimentos

Além do ensaio hidrodinâmico, foram realizados ensaios de transferência de oxigênio. O objetivo deste ensaio foi de avaliar o impacto da agitação ocasionada pela aeração na transferência de oxigênio entre os compartimentos sem a interferência do biofilme. Este ensaio, portanto, permite avaliar se somente a espuma, sem a biomassa, é capaz de proporcionar gradientes de oxigênio ou se o reator com a agitação, espumas com poros limpos e sem consumo de oxigênio se comporta como mistura completa quanto a concentrações de oxigênio.

O coeficiente global volumétrico de transferência de massa (K_{La}) foi obtido monitorando-se as concentrações de oxigênio por meio de sensores (medidor por luminescência

Hach, modelo LDO HQ101) imersos no meio líquido nos compartimentos interno e externo. Em ensaio abiótico, o nitrogênio gasoso foi injetado na fase líquida para a remoção do oxigênio. Quando a concentração de oxigênio chegou a zero, interrompeu-se a alimentação de nitrogênio e injetou-se vazão de ar desejada e iniciou-se a contagem do tempo até que a concentração de oxigênio chegasse à saturação na zona externa e interna do reator. Pelos dados da curva de concentração de oxigênio pelo tempo foi possível estimar o $K_L a$ entre os compartimentos pela Equação 4.6. Quando a concentração de oxigênio dissolvido no interior chegou à saturação e permaneceu constante, foi possível determinar o $K_L a$ por regressão não-linear da Equação 4.7. Para o cálculo da regressão foi utilizado o software Origin 9.1® pelo algoritmo de Levenberg-Maquart.

$$\frac{dC_e}{dt} = K_L a \cdot (C_i - C_e) \quad \text{Equação 4.6}$$

$$C = C_i - (C_i - C_{e0}) e^{-K_L a \cdot (t - t_0)} \quad \text{Equação 4.7}$$

Nas quais

C_e – concentração de oxigênio no meio líquido no compartimento externo;

C_i – concentração de oxigênio no compartimento interno;

t_0 – tempo em que o compartimento interno atinge a saturação

C_{e0} – concentração de oxigênio no meio líquido no compartimento externo no instante

t_0 ;

t – tempo.

4.1.7 Caracterização filogenética da comunidade microbiana

Ao final da operação dos reatores, a camada mais superficial de biofilme foi removida com o auxílio de uma pisseta. O resultado desta lavagem do compartimento interno (aeróbio) e externo (anóxico) foi centrifugado (9000 rpm, 5 min) para a recuperação da biomassa suspensa (Tabela 4.3). As amostras coletadas foram lavadas três vezes com tampão PBS 1X, seguindo-se centrifugação a 4°C por 3000 rpm e preservação a -20°C até a extração de DNA (Griffiths et al., 2000).

A técnica utilizada para extração do DNA foi baseada no protocolo de Griffiths et al. (2000) modificado, usando fenol tamponado com Tris e clorofórmio. A concentração e pureza do DNA foram avaliadas observando-se relação entre as absorvâncias a 260 nm e 280 nm em espectrofotômetro Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, EUA). As amostras em que a relação entre as absorvâncias (A_{260}/A_{280}) se encontrava na faixa de 1,8 a 2,0 foram consideradas aptas para o sequenciamento do gene 16S rRNA. O sequenciamento foi realizado por meio da plataforma Plataforma Illumina – HiSeq2500. Utilizaram-se os primers universais

341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) e 806R (GGACTACNNGGGTATCTA AT) para amplificação das regiões V3 e V4 do gene 16S rRNA de Bactéria.

Tabela 4.3 – Características das amostras de biomassa microbiana submetidas ao sequenciamento metabarcoding do gene 16S rRNA

Amostra	Reator	Compartimento	Água residuária	Tempo de operação
R10_i (1)	R – 10 mm	Interno	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	189 dias
R10_e (1)	R – 10 mm	Externo	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	189 dias
R5_i (1)	R – 5 mm	Interno	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	70 dias
R5_e (1)	R – 5 mm	Externo	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	70 dias
R2_i (1)	R – 2mm	Interno	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	30 dias
R2_e (1)	R – 2mm	Externo	(1) DQO/N = 5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	30 dias
R10_i (2)	R – 10 mm	Interno	(2) DQO/N = 2,5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	127 dias
R10_e (2)	R – 10 mm	Externo	(2) DQO/N = 2,5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	127 dias
R5_i (2)	R – 5 mm	Interno	(2) DQO/N = 2,5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	125 dias
R5_e (2)	R – 5 mm	Externo	(2) DQO/N = 2,5 ; N= 40 mg.L ⁻¹	125 dias
R10_i (3)	R – 10 mm	Interno	(3) DQO/N = 5 ; N= 100 mg.L ⁻¹	80 dias
R10_e (3)	R – 10 mm	Externo	(3) DQO/N = 5 ; N= 100 mg.L ⁻¹	80 dias

A poda e união dos pares de leituras geradas no sequenciamento de amplicons do gene 16S rRNA foram realizados utilizando o USEARCH v.11 (Edgar and Flyvbjerg, 2015). O pipeline do USEARCH v.11 também foi utilizado para a truncagem, orientação, filtragem por qualidade (número máximo de erros esperados = 1%) e desrepliação das sequências. As quimeras foram removidas e unidades taxonômicas operacionais (UTOs) com 97% de similaridade foram criadas com o uso do algoritmo UPARSE (Edgar, 2013). A anotação taxonômica foi realizada com o uso do SINTAX e utilizando o *RDP 16S rRNA training set v16* como banco de dados de referência (Edgar, 2016, 2018).

Para caracterização da estrutura da comunidade microbiana foram avaliadas a composição e abundância relativa das populações. A diversidade alpha foi avaliada utilizando-se os índices de diversidade *Chao 1* e *Shannon*. A diferença de complexidade entre diferentes amostras (diversidade beta) foi avaliada por dendograma de dissimilaridade baseado no índice de Bray-Curtis e método de agrupamento *ward*. A diversidade beta foi utilizada para avaliar como as diferentes espessuras de espuma de poliuretano e tipos de água residuária contribuem na substituição das populações microbianas nos compartimentos interno e externo.

4.2 ETAPA 2 – OPERAÇÃO DE CÉLULAS DE FLUXO, MODELAGEM E SIMULAÇÃO

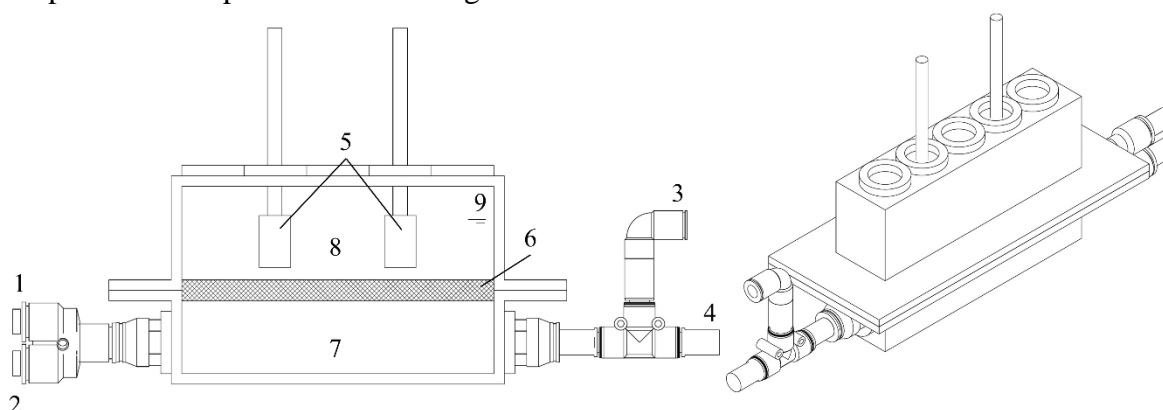
Esta etapa da pesquisa foi realizada durante o estágio de pesquisa no exterior, que teve duração de 10 meses e ocorreu no laboratório de Biotecnologia Ambiental da Universidade de Notre Dame, Indiana, EUA, sob a supervisão do Prof. Dr. Robert Nerenberg.

A Etapa 2 consistiu na operação de células de fluxos que utilizaram espessuras de espuma de poliuretano próximas às da etapa anterior. Esses pequenos reatores foram desenhados especificadamente para simular o biofilme desenvolvido nos reatores em escala da bancada e permitir a utilização de microeletrodos para a medição dos gradientes de concentração de oxigênio, amônia, nitrito e nitrato. Um modelo unidimensional de múltiplas espécies foi desenvolvido usando o software Aquasim 2.1 (Reichert, 1994), visando simular os processos no FABR. Além disso, foram obtidas imagens de OCT e feitas análises de FISH dos biofilmes obtidos para avaliar sua estrutura.

4.2.1 Células de fluxo

Três células de fluxo foram construídas em acrílico, com volume útil de aproximadamente 360 mL (Figura 4.3). Cada célula de fluxo possuía uma lâmina de espuma de poliuretano (3 x 15 cm) que servia como material suporte para biomassa. Espumas com espessuras de 9, 4,5 e 2 mm foram testadas, denominados reatores R9, R4.5 e R2, respectivamente. A lâmina de espuma dividia a célula de fluxo pela metade no sentido horizontal, criando um compartimento superior e outro inferior. Uma bomba peristáltica com vazão de 15 mL.h⁻¹ alimentava cada reator pelo compartimento inferior. Uma linha de recirculação no compartimento inferior garantia a mistura do líquido nesse compartimento (razão de recirculação igual a 3). No compartimento superior, era realizada a aeração através de duas pedras porosas acopladas a um compressor de ar. No topo das células de fluxo, havia aberturas nas quais os microeletrodos foram posicionados para a análise dos gradientes dos substratos.

Figura 4.3 – Célula de fluxo. 1 afluente, 2 entrada da recirculação, 3 efluente, 4 saída da recirculação, 5 pedras porosas, 6 espuma de poliuretano, 7 compartimento inferior 8 compartimento superior. 9 nível de água.



4.2.2 Água residuária

Foi utilizada água residuária sintética com composição similar à da Etapa 1, com relação DQO/N igual a 5 e concentração de nitrogênio amoniacal igual a 40 mg.L^{-1} . Os principais constituintes da água residuária feita a partir de água da torneira foram: acetato de sódio ($200 \text{ mg DQO.L}^{-1}$); cloreto de amônia (40 mg.N.L^{-1}); e bicarbonato de sódio ($300 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$). Além desses componentes, foram adicionados 2.5 mL.L^{-1} da seguinte solução de sais: NaCl (100 g.L^{-1}), $\text{CaCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$ (2.8 g.L^{-1}), e $\text{MgCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (1.8 g.L^{-1}).

4.2.3 Análises Físico-químicas

Amostras do afluente e do efluente foram coletadas para análise de DQO solúvel (Método de digestão do reator de dicromato, CHEMetrics No.: K-7355), nitrogênio amoniacal (Eletrodo seletivo de íon de amônia), nitrato (Método espectrofotométrico ultravioleta), e nitrito (NitriVer® 3 método de diazotização). As amostras foram previamente filtradas em filtros de membrana de $0.45 \mu\text{m}$. Ao final da operação, foram realizadas análise de sólidos voláteis totais fixos à espuma. Para isso, um volume conhecido de cada espuma foi lavado com água destilada e os sólidos totais e voláteis resultantes da lavagem foram determinados por método gravimétrico.

4.2.4 Microeletrodos

Para medir as concentrações de oxigênio dissolvido no biofilme, foram usados microeletrodos de oxigênio tipo Clark, com diâmetro de ponta de $10\text{-}30 \mu\text{m}$. Para medir as concentrações de amônio, nitrato e nitrito, foram usados microeletrodos de troca iônica líquida (LIX). Todos os microeletrodos foram construídos em laboratório, seguindo as instruções descritas por Lewandowski and Beyenal (2013). Os sensores foram posicionados no biofilme

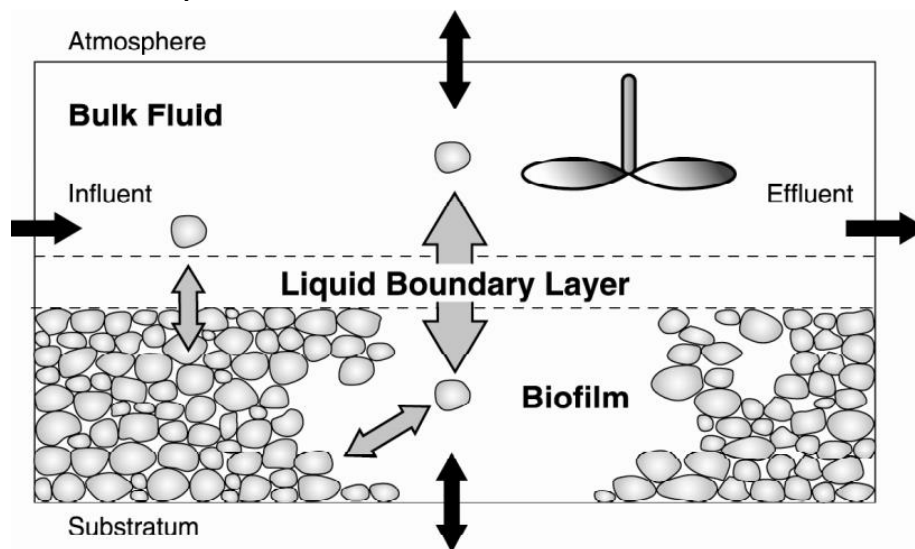
com um micromanipulador modelo MM33-2, Unisense A/S, Aarhus, Dinamarca. Todas as medições foram realizadas em intervalos espaciais de 50-200 μm através do biofilme. Os perfis de microsensar foram feitos nos dias 60, 82 e 115 de operação das células de fluxo. Foram tomados, no mínimo, três perfis de microsensar para cada substrato em diferentes posições da espuma.

4.2.5 Modelo Aquasim

O Aquasim é um software gratuito feito para simulação e análise de dados de sistemas aquáticos. O manual, o tutorial e o download do software são encontrados no site: www.eawag.ch/en/department/siam/software/

O software Aquasim oferece um compartimento de reator de biofilme que consiste em três “zonas”: “bulk liquid”, “biofilm matrix e “biofilm pore water” (Figura 4.4). Para as três zonas, o Aquasim calcula a concentração de espécies microbianas e substratos, bem como a espessura do biofilme ao longo do tempo. No biofilme, são calculados os gradientes espaciais, de substratos e de biomassa, perpendiculares ao meio suporte. Admite-se que o meio líquido esteja completamente misturado. A camada limite líquida entre o biofilme e o meio líquido pode ser considerada. As setas sólidas, na Figura 4.4, indicam possíveis fluxos de massa através dos limites do compartimento. As setas sombreadas indicam fluxos de massa entre as várias zonas do compartimento. Esses fluxos são responsáveis pelo desprendimento e fixação de células no biofilme e difusão de compostos solúveis.

Figura 4.4 – Compartimento do reator de biofilme Aquasim. Setas sólidas indicam possíveis fluxos de massa através dos limites do compartimento e setas sombreadas indicam fluxos de massa dentro do compartimento



Fonte: Wanner e Morgenroth (2004)

No programa, dois compartimentos foram adicionados, um compartimento de biofilme, que corresponde ao compartimento aerado, e um compartimento de mistura completa, que corresponde ao compartimento anóxico que recebe o efluente. Foi criado um “diffusive link” para conectar os compartimentos pela base do biofilme. O desprendimento de microrganismos na superfície do biofilme foi descrito pela Equação 4.8:

$$v_d = v_f \left(\frac{L_F}{L_{max}} \right)^{10} \quad \text{Equação 4.8}$$

Na qual, v_d é a velocidade de desprendimento, v_f é a velocidade de crescimento do biofilme, L_F é a espessura do biofilme, e L_{max} é a espessura máxima do biofilme, que foi considerada como correspondente à espessura da espuma de poliuretano utilizada. O processo de aeração foi adicionado no compartimento superior e descrito pela Equação 4.9:

$$Kla (C_s - C_b) \quad \text{Equação 4.9}$$

Na qual, Kla é o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio, C_s é a concentração de saturação de oxigênio a 30°C, C_b é a concentração de oxigênio no meio líquido. O valor de Kla foi colocado como 10^5 para garantir concentração de oxigênio no meio líquido do compartimento superior próximo à saturação, o que foi observado experimentalmente. Os processos e os parâmetros inseridos no modelo foram baseado no trabalho de Matsumoto et al. (2007). A Tabela 4.4 mostra todas as equações do processo e a Tabela 4.5 apresenta todos os parâmetros do modelo. A matriz dos coeficientes estequiométricos e as equações de taxa de cada processo são mostradas na Tabela 4.6.

Vale ressaltar que foram feitas algumas considerações para adaptar o modelo utilizados por Matsumoto et al. (2007) para o FABR. Essas considerações são o ponto central da diferença entre esses dois tipos de reatores. A primeira consideração é que a espessura máxima do biofilme é a espessura da lâmina de espuma de poliuretano. Isso significa que o biofilme cresce dentro dos poros da espuma protegido das forças de cisalhamento do fluxo, sendo que o biofilme que se desenvolve além dos limites da espuma, está sujeito a essas forças e se desprende. A segunda é que a camada limite foi considerada desprezível uma vez que a espessura da espuma de poliuretano é uma ordem de magnitude maior.

A análise de sensibilidade dos parâmetros é uma ferramenta disponível no software que mostra os principais parâmetros que influenciam as variáveis de interesse (concentrações de substratos no biofilme e no efluente, por exemplo). Os gráficos obtidos do resultado desta análise se encontram no Apêndice B. A análise de sensibilidade mostrou que os dois parâmetros principais que influenciam nas concentrações dos substratos no biofilme são o fator de difusividade efetiva e a porosidade do biofilme.

Tabela 4.4 – Expressões cinéticas dos processos considerados no modelo

Process	Rate expression
Ammonia-oxidizing bacteria (AOB)	
Crescimento	$\mu_{AOB} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^{AOB}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2}^{AOB}} X_{AOB}$
Decaimento	$b_{AOB} X_{AOB}$
Nitrite oxidizing bacteria (NOB)	
Crescimento	$\mu_{NOB} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^{NOB}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2}^{NOB}} X_{NOB}$
Decaimento	$b_{NOB} X_{NOB}$
Heterotrophs (H)	
Crescimento aeróbio	$\mu_h \frac{S_{O_2}}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{COD}}{S_{COD} + K_{COD}^H} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^H} X_H$
Crescimento anóxico (NO_2^-)	$\mu_h \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{COD}}{S_{COD} + K_{COD}^H} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^H} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^H} X_H$
Crescimento anóxico (NO_3^-)	$\mu_h \eta_d \frac{K_{O_2}^H}{K_{O_2}^H + S_{O_2}} \frac{S_{COD}}{S_{COD} + K_{COD}^H} \frac{S_{NH_4}}{S_{NH_4} + K_{NH_4}^H} \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{NO_2}^H} X_H$
Decaimento	$b_H X_H$

Tabela 4.5 - Parâmetros e constantes do modelo

Var.	Descrição	Valor	Unidade	Referência
Bactérias oxidadoras de amônia (AOB)				
μ_{AOB}	Velocidade máxima específica de crescimento	2.05	d ⁻¹	Wiesmann (1994)
$K_{NH_4}^{AOB}$	Constante de meia saturação de amônia	2.4	gN.m ⁻³	Wiesmann (1994)
$K_{NO_2}^{AOB}$	Constante de meia saturação de nitrito	5.5	gN.m ⁻³	Matsumoto et al. (2007)
$K_{NO_3}^{AOB}$	Constante de meia saturação de nitrato	0.1	gN.m ⁻³	Matsumoto et al. (2007)
$K_{O_2}^{AOB}$	Constante de meia saturação de oxigênio	0.6	gDQO.m ⁻³	Wiesmann (1994)
b_{AOB}	Constante de decaimento endógeno	0.048	d ⁻¹	Wiesmann (1994)
Bactérias oxidadoras de nitrito (NOB)				
μ_{NOB}	Velocidade específica máxima de crescimento	1.45	d ⁻¹	Wiesmann (1994)
$K_{NH_4}^{NOB}$	Constante de meia saturação de amônia	0.01	gN.m ⁻³	Matsumoto et al. (2007)
$K_{NO_2}^{NOB}$	Constante de meia saturação de nitrito	5.5	gN.m ⁻³	Wiesmann (1994)
$K_{NO_3}^{NOB}$	Constante de meia saturação de nitrato	0.1	gN.m ⁻³	Matsumoto et al. (2007)
$K_{O_2}^{NOB}$	Constante de meia saturação de oxigênio	2.2	gDQO.m ⁻³	Wiesmann (1994)
b_{NOB}	Constante de decaimento endógeno	0.048	d ⁻¹	Wiesmann (1994)
Heterotróficos (H)				
μ_h	Velocidade específica máxima de crescimento	6.0	d ⁻¹	Henze et al. (2000)
η_d	Fator de redução anóxico	0.8		Henze et al. (2000)
$K_{O_2}^H$	Constante de meia saturação de oxigênio	0.2	gDQO.m ⁻³	Henze et al. (2000)
$K_{NO_2}^H$	Constante de meia saturação de nitrito	0.5	gN.m ⁻³	Henze et al. (2000)
$K_{NO_3}^H$	Constante de meia saturação de nitrato	0.5	gN.m ⁻³	Henze et al. (2000)
K_{COD}^H	Constante de meia saturação de DQO	4	gDQO.m ⁻³	Henze et al. (2000)
$K_{NH_4}^H$	Constante de meio saturação de amônia	0.05	gN.m ⁻³	Henze et al. (2000)
b_H	Constante de decaimento endógeno	0.4	d ⁻¹	Henze et al. (2000)
Parâmetros estequiométricos				
Y_{AOB}	Rendimento celular AOB	0.15	gDQO.gN ⁻¹	Wiesmann (1994)
Y_{NOB}	Rendimento celular NOB	0.041	gDQO.gN ⁻¹	Wiesmann (1994)
Y_H	Rendimento celular Heterotróficos	0.63	gDQO.gDQO ⁻¹	Henze et al. (2000)
$i_{content}$	Conteúdo de nitrogênio na biomassa	0.07	gNgDQO ⁻¹	Henze et al. (2000)
Physical parameters				
ρ	Densidade das células	900000	gDQO.m ³	(Maurer et al., 1999)
ϕ	Porosidade	0.7-0.9		Este estudo
D_{NH_4}	Difusividade da amônia	1.7 x10 ⁻⁴	m ² .d ⁻¹	(Picioreanu et al., 2004)
D_{NO_2}	Difusividade do nitrito	1.6 x10 ⁻⁴	m ² .d ⁻¹	(Picioreanu et al., 2004)
D_{NO_3}	Difusividade do nitrato	1.6 x10 ⁻⁴	m ² .d ⁻¹	(Picioreanu et al., 2004)
D_{O_2}	Difusividade do oxigênio	2.0 x10 ⁻⁴	m ² .d ⁻¹	(Picioreanu et al., 2004)
D_{COD}	Difusividade da DQO	1.5 x10 ⁻⁴	m ² .d ⁻¹	(Matsumoto et al., 2007)

4.2.6 Teste de determinação do fator de difusividade efetiva (EDF)

Este teste foi realizado com o objetivo de determinar o fator de difusividade efetiva (Effective diffusivity factor - EDF) da amônia, definido como a relação entre a difusividade efetiva e a difusividade em diluição infinita em água. Resumidamente, se o EDF for menor que 1, significa que o transporte de massa é mais lento que o transporte difusivo em uma camada líquida estagnada com o mesmo comprimento. Isso pode ocorrer por razões como: a espessura da camada é maior que a espessura considerada ou o meio de difusão oferece maior resistência devido à presença de células microbianas, polímeros extracelulares ou bolhas de gás que ficam presas no biofilme (Stewart, 1998). Por outro lado, quando o valor de EDF é maior que 1, significa que o transporte de massa é mais rápido. Isso pode significar que a espessura da camada líquida real é menor do que a camada líquida considerada ou há um componente de transporte advectivo que auxilia o transporte.

O teste para a determinação do EDF consistiu em substituir o ar atmosférico do sistema de aeração por gás nitrogênio, garantindo a condição anaeróbia e de mistura no compartimento superior. Sem a presença de oxigênio, qualquer reação que use amônia como substrato foi considerada desprezível. A amônia presente no reator é lavada anteriormente, inserindo-se meio livre de amônia por 24 horas. O teste começa com um pulso de 10 mL de uma solução com 1000 mgN.L^{-1} de amônia no compartimento inferior e, em seguida, a bomba de alimentação é ligada fornecendo meio com concentração de amônia de 70 mg.L^{-1} , à vazão de 15 L.h^{-1} . O fluxo de recirculação durante o teste é mantido a 45 L.h^{-1} . Amostras dos compartimentos superior e inferior foram coletadas em intervalos de 30 ou 60 minutos para a análise da concentração de amônia.

O EDF é determinado pela resolução das equações de transporte de massa no biofilme com o auxílio do software Aquasim em um modelo semelhante ao anterior, mas sem as expressões cinéticas. A difusividade de amônia nos poros foi correspondente à difusividade de amônia em diluição infinita em água multiplicada pelo EDF. Os outros parâmetros incluídos no programa estão listados na Tabela 4.7. O EDF é, então, estimado pelo programa para obter a menor diferença entre os valores medidos no compartimento superior e os calculados pelo modelo.

O teste foi realizado em triplicata ao final da operação das células de fluxo com o biofilme completamente formado. Vale ressaltar que as células de fluxo foram projetadas especificadamente para a obtenção de perfis de concentração por meio de microeletrodos e, por isso, o ensaio para a determinação do EDF está sujeito a algumas imprecisões, como por

exemplo, o grau de mistura dos compartimentos e a exata concentração inicial de amônia no ensaio.

Tabela 4.7 - Parâmetros incluídos do software Aquasim para estimar o fator de efetividade

Parâmetro	Valor	Unidade
Área do biofilme	15	cm ²
Volume compartimento superior	Medido no ensaio	mL
Volume compartimento inferior	180	mL
Espessura do biofilme	0,2; 0,5 ou 1	cm
Concentração de amônia afluenta	Medida no ensaio	mg.L ⁻¹
Concentração inicial de amônia no compartimento superior	Medida no ensaio	mg.L ⁻¹
Concentração inicial de amônia no compartimento inferior	Medida no ensaio	mg.L ⁻¹
Vazão de entrada compartimento inferior	19,8	mL.h ⁻¹
Difusividade da amônia em água	0.0617	cm.h ⁻¹
Fator de difusividade efetiva (EDF)	Valor estimado pelo programa	-

4.2.7 Imagens de OCT e estimativa da porosidade

Após o período de operação das células de fluxo, a espuma de poliuretano foi removida em pedaços de 3 cm x 1 cm, utilizando uma lâmina afiada, mantendo intacta a maior parte do biofilme. Estas amostras foram submergidas em água limpa e utilizadas para se obter imagens por Tomografia Ótica de Coerência (OCT) para criar seções de verticais 2D e imagens 3D (Sistema OCT de Domínio Espectral Ganymede II, THORLABS, Inc.). O software de coleta de imagens foi o ThorImage OCT, versão 4.3, THORLABS Inc. (www.thorlabs.com).

Dez imagens que compõem a seção transversal obtida das imagens 3D para os reatores R4.5 e R2 foram divididas em trechos de 0,5 mm (Apêndice A). Para cada trecho, a porosidade foi calculada a partir da contagem de pixels das imagens. A porosidade de cada seção foi estimada como a relação entre o número de pixels de sinais positivos e o número total de pixels. Lewandowski (2000) buscou estimar a porosidade do biofilme a partir de imagens de microscopia confocal. Segundo o autor, há limitações para determinar a porosidade a partir de imagem. Entre as principais limitações citadas, está a adoção de um

limite para determinar que sinal deve ou não ser considerado como biomassa. Outra questão é o efeito que o campo de visão tem sobre a porosidade do biofilme. As mesmas limitações acerca das imagens de microscópios confocais podem ser aplicadas às imagens OCT.

4.2.8 Análise FISH

As análises de hibridação fluorescente *in situ* (FISH) foram realizadas após o final da operação das células de fluxo. A espuma de poliuretano foi removida do reator usando uma lâmina afiada e, então, fixada em paraformaldeído recém-preparado e lavada em solução salina tamponada com fosfato. Pedacos da espuma de poliuretano foram incorporados ao composto O.C.T. (Optimal Cutting Temperature compound) e refrigerados a -20 ° C. Estes pedacos foram então crioseccionados com 20 µm de espessura. As seções foram desidratadas em banhos sequenciais de etanol, durante 3 min, nas concentrações de 50%, 80% e 100% (v/v), seguidos de secagem a 46°C em fluxo de ar leve. Três sondas FISH foram implementadas: Nso190, que tem como alvo a maioria dos AOB (Mobarry et al., 1996); NIT3, o qual atinge *Nitrobacter* spp., uma das generos dominantes de NOB (Wagner et al., 1996); NSR1156, que atinge *Nitrospira* spp., outra espécie dominantes de NOB (Schramm et al., 1998). DAPI foi usado como um contra corante. As sondas, as condições de hibridação e as condições de lavagem seguiram técnicas procedimentos descritos anteriormente (Amann et al., 1990; Mobarry et al., 1996; Schramm et al., 1998; Wagner et al., 1996). As imagens foram examinadas em um microscópio de epifluorescência (Nikon Eclipse 90i).

4.2.9 Efeito dos parâmetros de porosidade e difusividade na modelagem

Para avaliar os impactos dos valores encontrados para EDF e porosidade nos experimentos anteriores foram elaboradas 4 variações do modelo no software Aquasim (Tabela 4.8).

Tabela 4.8 – Valores utilizados de porosidade e fator de difusividade efetiva utilizadas em cada modelo.

Parâmetro	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4
Porosidade	0,9	0,9	0,7 - 0,9	0,7 – 0,9
Fator de difusividade efetiva (EDF)	1	2	1	2

Para os modelos 3 e 4, a porosidade do biofilme variou entre os valores de 70 e 90%, de acordo com a profundidade do biofilme e a concentração de oxigênio. Para isso, foi adicionada uma expressão que correlaciona a variação da porosidade (*rate porosity*) à concentração de oxigênio na respectiva posição (Equação 4.10). Esta equação descreve que, quando há presença de oxigênio no biofilme ($S_{O_2} > 0$), a porosidade tende ao valor de 70%, enquanto que, na zona anóxica ($S_{O_2} < 0$), a porosidade aproxima-se de 90%.

$$rate\ porosity = if \begin{cases} S_{O_2}(z) > 0, & a(0,7 - wf) \\ S_{O_2}(z) < 0, & b(0,9 - wf) \end{cases} \quad \text{Equação 4.10}$$

Na expressão, S_{O_2} , é a concentração de oxigênio dissolvido, z é a profundidade do biofilme, wf é a fração de água no biofilme (water fraction), variável calculada pelo programa, e 'a' e 'b' são coeficiente que variam de 0,001 a 0,01 para evitar problemas numéricos. Todos os gráficos de cada um dos modelos, que incluem concentrações efluentes, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa se encontram no Apêndice C.

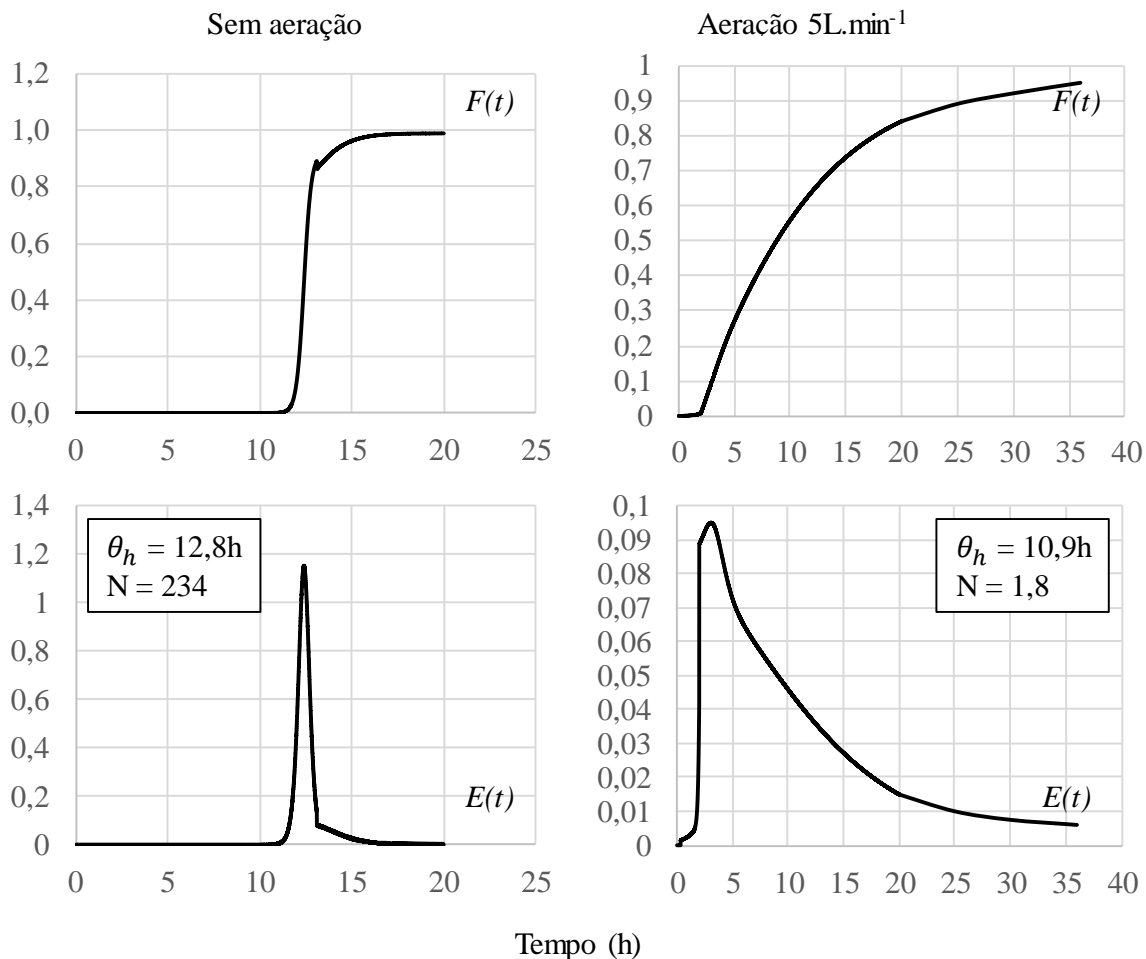
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES – ETAPA 1

5.1 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS E DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO

Foram realizados testes hidrodinâmicos e de transferência de oxigênio para avaliar o impacto da agitação proporcionada pelo sistema de aeração no regime de escoamento do reator e na transferência de massa entre os compartimentos. Estes ensaios foram realizados antes da inoculação do reator, sem recirculação do efluente e com a espuma de poliuretano de 10 mm.

A Figura 5.1 apresenta a curva de concentração normalizada ($F(t)$) e a curva de tempo de distribuição do tempo de residência (DTR) obtidas no ensaio hidrodinâmico sem aeração e com aeração de $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. O TDH teórico (razão entre volume e vazão) foi de 11,9 horas em ambos os ensaios.

Figura 5.1 – Curva de concentração normalizada e curva DTR obtidas no ensaio hidrodinâmico com e sem aeração.



No ensaio sem aeração, o número de tanques de mistura completa em série foi de 234 e TDH real de 12,8 horas. O alto número de tanques de mistura em série significa que o escoamento nessa condição foi próximo ao pistonado. A curva DTR apresentou um único pico indicando que não houve caminhos preferenciais ou zonas mortas significantes no reator. O pico ocorreu próximo ao TDH teórico (12,4 horas). O TDH obtido a partir da curva DTR foi maior que o teórico e se deve à pequena “cauda” registrada após o pico. O resultado desse ensaio indica que espuma de poliuretano de 10 mm de espessura não ofereceu resistência significativa à difusão do traçador para o compartimento interno. Caso houvesse resistência significativa era esperado TDH real menor que o teórico, pois o volume do compartimento interno se comportaria como uma zona morta.

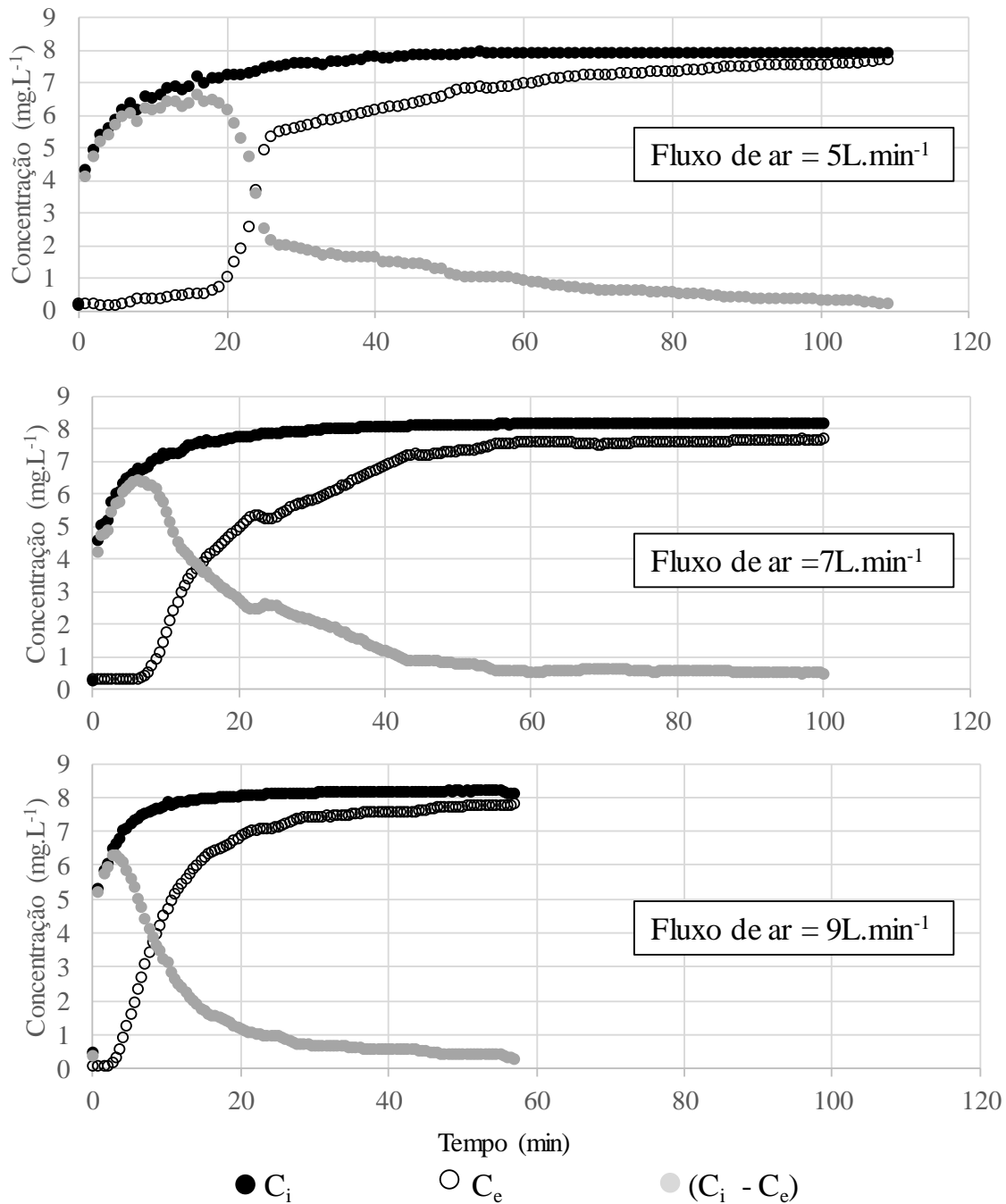
Por outro lado, o ensaio hidrodinâmico realizado com aeração de $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ mostrou uma alta condição de mistura no reator. O número de tanques de mistura em série foi de 1,8. Não foi detectado o traçador no efluente nas primeiras duas horas. Esse tempo corresponde ao enchimento do reator até o nível da pedra porosa. A curva DTR indica que a aeração foi capaz de agitar completamente o reator, mais uma vez, sem interferência da espuma de 10 mm. O TDH menor do que o teórico, neste caso, se deve ao tempo de ensaio que não foi suficiente para se atingir a concentração máxima de traçador no efluente (curva $F(t) < 1$).

Em ambos casos a espuma de poliuretano de 10 mm de espessura não ofereceu resistência à transferência de massa significativa entre os compartimentos. Nesta condição, o desenvolvimento do biofilme no interior dos poros da espuma se torna fundamental para que haja resistência à transferência de massa suficiente para criar, no reator, zonas aeróbias e anóxicas.

O traçador utilizado pode interferir significativamente no resultado do ensaio hidrodinâmico em reatores com material suporte poroso (Nardi et al., 1999). Por isso, foi realizado o ensaio de transferência de oxigênio. O objetivo desse ensaio foi verificar a possibilidade de se obterem diferentes concentrações de oxigênio entre os compartimentos, mesmo com a espuma sem biomassa.

Os ensaios de transferência de oxigênio foram realizados com vazões de ar de 5, 7 e $9 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Foi fluxionado nitrogênio gasoso no reator para remover todo o oxigênio em seu interior. A aeração foi então ligada e as concentrações de oxigênio no compartimento interior e no exterior foram monitoradas. A Figura 5.2 mostra a variação das concentrações de oxigênio em cada compartimento e a diferença de concentração entre os compartimentos, após o início da aeração.

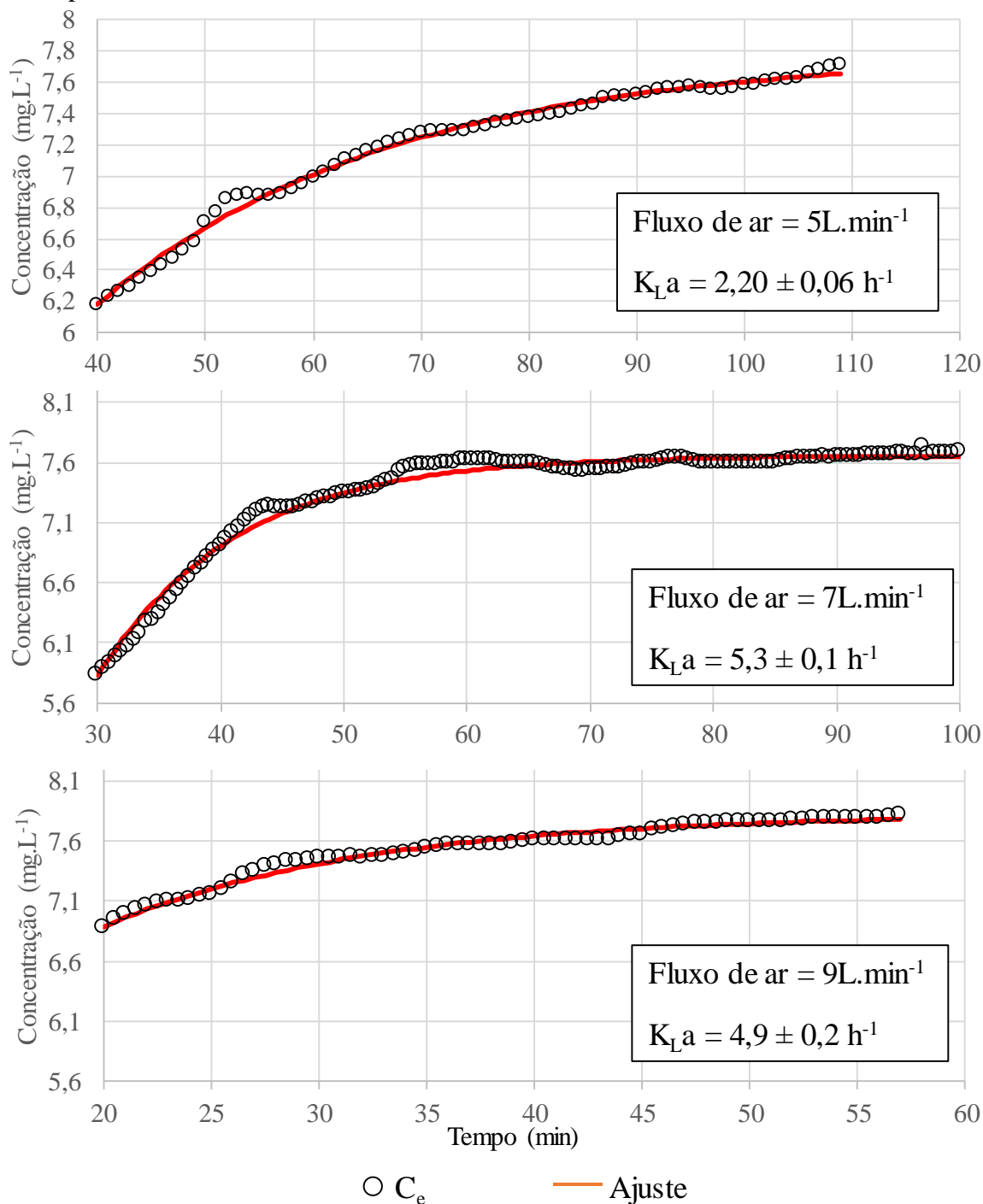
Figura 5.2 – Perfis de oxigênio dissolvido no compartimento interno e externo durante o ensaio de transferência de oxigênio. C_i – Concentração no compartimento interno; C_e concentração no comportamento externo.



O coeficiente global volumétrico de transferência de massa (K_La) entre os compartimentos pode ser avaliado, pois o compartimento interno atingiu a concentração de saturação antes do compartimento externo. Uma vez que o compartimento interno atinge a saturação, todo oxigênio que se acumula no compartimento externo advém do compartimento interno e o fluxo de oxigênio é proporcional às diferenças de concentrações

(Equação 4.1). A Figura 5.3 mostra o resultado do modelo, em comparação aos resultados medidos.

Figura 5.3 – Valores experimentais e calculados para a concentração de oxigênio dissolvido no compartimento interno e K_{La} obtido.



Os valores de K_{La} foram de 2,20, 5,3 e $4,9 \text{ h}^{-1}$ para fluxos de ar de 5, 7 e 9 L.min^{-1} , respectivamente. O aumento do valor de K_{La} , em função do fluxo de ar, sugere que há aumento de transporte convectivo ocasionado pela turbulência resultante do aumento na vazão de aeração de 5 para 7 L.min^{-1} . Entretanto, constatou-se que a espuma, mesmo sem

biofilme, é capaz de criar gradiente de oxigênio entre os compartimentos. Esses resultados contradizem os resultados do ensaio hidrodinâmico, que demonstrou não ter havido qualquer interferência da espuma de poliuretano na difusão do traçador. Tal fato se atribui às altas concentrações do traçador (10g.L^{-1}), que tornam o processo difusivo rápido, além de tornar difícil a detecção de pequenas variações na concentração.

Devido às incertezas relacionadas ao escoamento no reator, optou-se por submeter o compartimento externo à recirculação do efluente e aumentar o TDH para 24 horas. A razão de recirculação adotada foi de três vezes a vazão afluente. Essa razão de recirculação foi considerada suficiente para garantir condições de mistura em reator de leito estruturado no trabalho de Moura (2014). Assim, garante-se que haja mistura em ambos compartimentos e que ocorra gradientes de concentração apenas na direção perpendicular à espessura do biofilme, proporcionando um biofilme homogêneo ao longo do perfil longitudinal do reator. Além disso, a adição de biogás no compartimento externo, em um possível tratamento para remoção de sulfeto, ocasionaria essa mesma condição. O fluxo de ar adotado durante as etapas seguintes foi de 5 L.min^{-1}

5.2 EFEITOS DA ESPESSURA DA ESPUMA E DA RELAÇÃO DQO/N

Três FABR com espessuras de espuma de poliuretano de 10, 5 e 2 mm, foram operados em modo contínuo, com TDH de 24 horas e alimentados com água residuária sintética com relação DQO/N próximas a 5. Os reatores com 10 e 5 mm também foram posteriormente alimentados com água residuária com relação DQO/N de 2.5 e mesma concentração de nitrogênio amoniacal (aproximadamente 40mg.L^{-1}). As eficiências de remoção de N-total e DQO foram similares, independentemente da espessura da espuma e da relação DQO/N (Figura 5.4), à exceção do R2, que não apresentou eficiência de remoção devido a problemas com a adesão da biomassa à espuma. A Tabela 5.1 apresenta a média dos parâmetros monitorados em cada uma dessas operações.

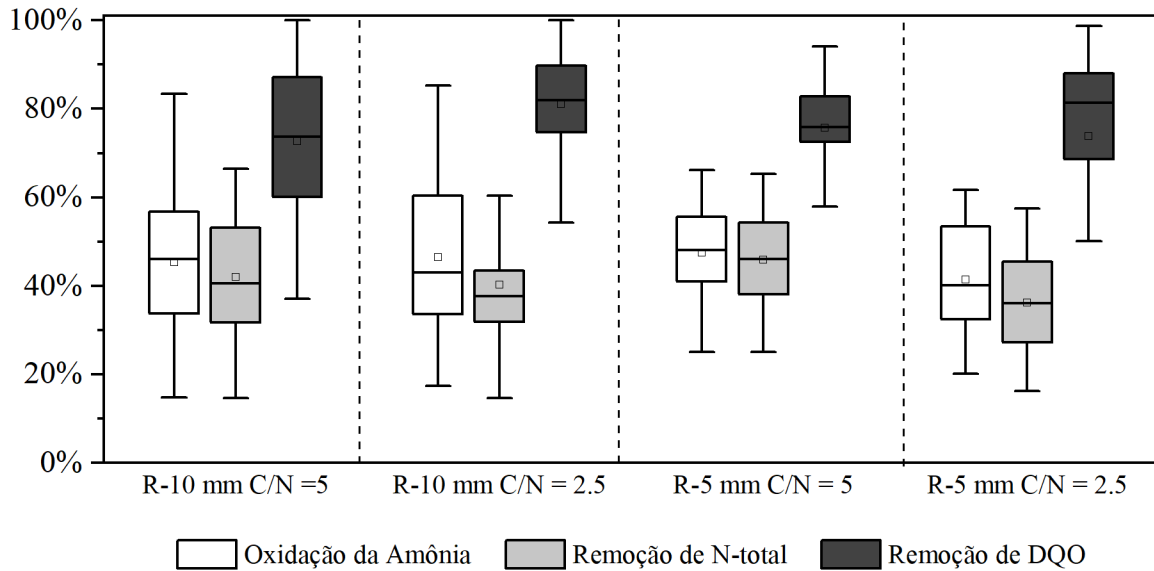
Tabela 5.1 – Parâmetros monitorados durante a operação dos reatores em escala de bancada

Parâmetro		R10 DQO/N = 5		R10 DQO/N = 2.5		R5 DQO/N = 5		R5 DQO/N = 2.5	
		Período: 189 dias		Período: 127 dias		Período: 70 dias		Período: 125 dias	
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	Afluente	206 ± 25	(30)	218 ± 12	(26)	226 ± 14	(24)	223 ± 16	(30)
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	Efluente	218 ± 21	(30)	223 ± 29	(26)	251 ± 14	(24)	221 ± 25	(30)
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	Interno	191 ± 18	(30)	153 ± 29	(26)	211 ± 37	(24)	134 ± 28	(30)
DQO (mg/L)	Afluente	186 ± 63	(58)	99 ± 15	(35)	207 ± 17	(26)	94 ± 20	(37)
DQO (mg/L)	Efluente	53 ± 42	(58)	19 ± 14	(35)	51 ± 22	(26)	24 ± 20	(37)
DQO (mg/L)	Interno	7 ± 14	(56)	11 ± 12	(34)	11 ± 10	(26)	9 ± 12	(37)
N - Amoniacal (mg/L)	Afluente	40 ± 4	(58)	42 ± 4	(35)	40 ± 4	(26)	40 ± 3	(38)
N - Amoniacal (mg/L)	Efluente	21 ± 6	(58)	22 ± 7	(35)	21 ± 4	(26)	23 ± 5	(38)
N - Amoniacal (mg/L)	Interno	1 ± 2	(56)	4 ± 6	(35)	4 ± 7	(26)	2 ± 5	(38)
N - NO ₂ (mg N/L)	Afluente	ND	(58)	ND	(35)	ND	(26)	ND	(38)
N - NO ₂ (mg N/L)	Efluente	ND	(57)	ND	(35)	ND	(26)	ND	(38)
N - NO ₂ (mg N/L)	Interno	ND	(56)	ND	(35)	ND	(26)	ND	(38)
N - NO ₃ (mg N/L)	Afluente	ND	(58)	ND	(35)	ND	(26)	ND	(38)
N - NO ₃ (mg N/L)	Efluente	1 ± 3	(58)	3 ± 5	(34)	1 ± 1	(26)	2 ± 3	(37)
N - NO ₃ (mg N/L)	Interno	14 ± 6	(56)	19 ± 7	(34)	11 ± 3	(26)	20 ± 6	(37)
N- Total (mgN/L)	Afluente	39 ± 4	(58)	42 ± 4	(35)	40 ± 4	(26)	40 ± 3	(38)
N - Total (mgN/L)	Efluente	23 ± 5	(58)	25 ± 4	(35)	22 ± 4	(26)	25 ± 4	(38)
N - Total (mgN/L)	Interno	15 ± 6	(58)	22 ± 6	(35)	15 ± 5	(26)	22 ± 5	(38)
pH	Afluente	7.9 ± 0.2	(51)	7.9 ± 0.1	(26)	7.9 ± 0.1	(24)	7.9 ± 0.1	(29)
pH	Efluente	8.2 ± 0.2	(52)	8.2 ± 0.1	(26)	8.3 ± 0.2	(24)	8.2 ± 0.1	(29)
pH	Interno	8.6 ± 0.2	(49)	8.4 ± 0.1	(26)	8.5 ± 0.2	(24)	8.4 ± 0.2	(29)
OD (mg/L)	Externo	0.0 ± 0.1	(57)	0.3 ± 0.2	(19)	0.3 ± 0.2	(26)	0.4 ± 1.0	(25)
OD (mg/L)	Interno	6.6 ± 0.2	(54)	7.2 ± 0.2	(19)	7.4 ± 0.2	(26)	7.1 ± 0.2	(25)
Oxidação da Amônia		46% ± 15%	(58)	46% ± 17%	(35)	48% ± 10%	(26)	41% ± 13%	(38)
Remoção de DQO		73% ± 17%	(57)	81% ± 13%	(35)	76% ± 10%	(26)	74% ± 22%	(37)
Remoção de Nitrogênio total		42% ± 13%	(58)	40% ± 12%	(35)	46% ± 10%	(26)	36% ± 11%	(38)

Os valores representam a média ± o desvio padrão (n° de amostras), ND (não detectado)

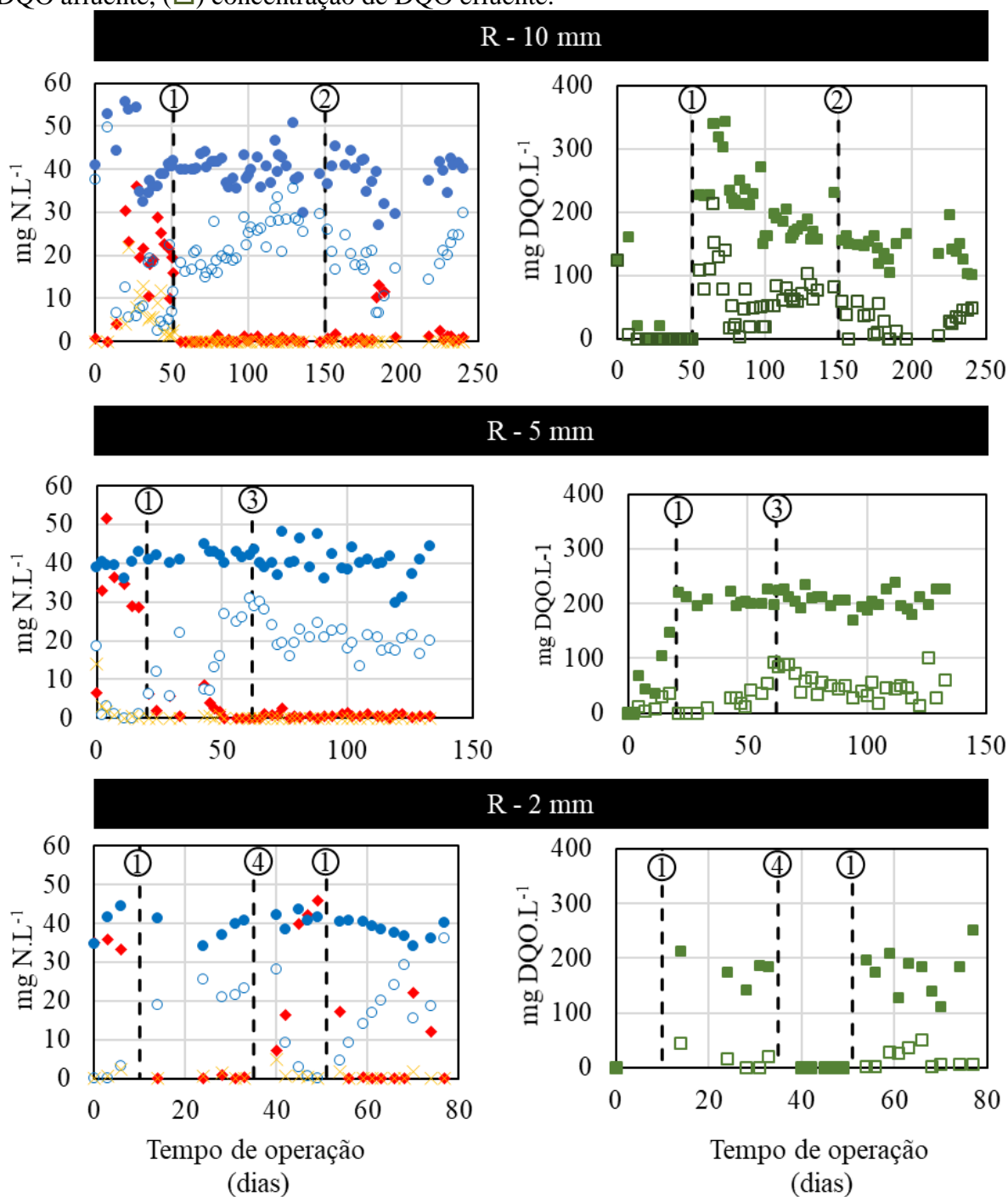
Embora uma breve análise das médias permita concluir que não houve diferença significativa entre as condições testadas, é necessário fazer a análise do acompanhamento dos parâmetros ao longo do tempo. Observou-se que a concentração dos compostos nitrogenados, no compartimento interno e no efluente do R10, aumentou continuamente durante a operação. Este acompanhamento permitiu a elaboração de novas hipóteses sobre o sistema, que foram testadas a partir de intervenções na operação do reator.

Figura 5.4 – Eficiências de oxidação de amônia, remoção de N-total e remoção de DQO dos reatores com 10 e 5 mm de espessura de poliretano alimentados com água residuária com relação DQO/N igual a 5 e 2,5.



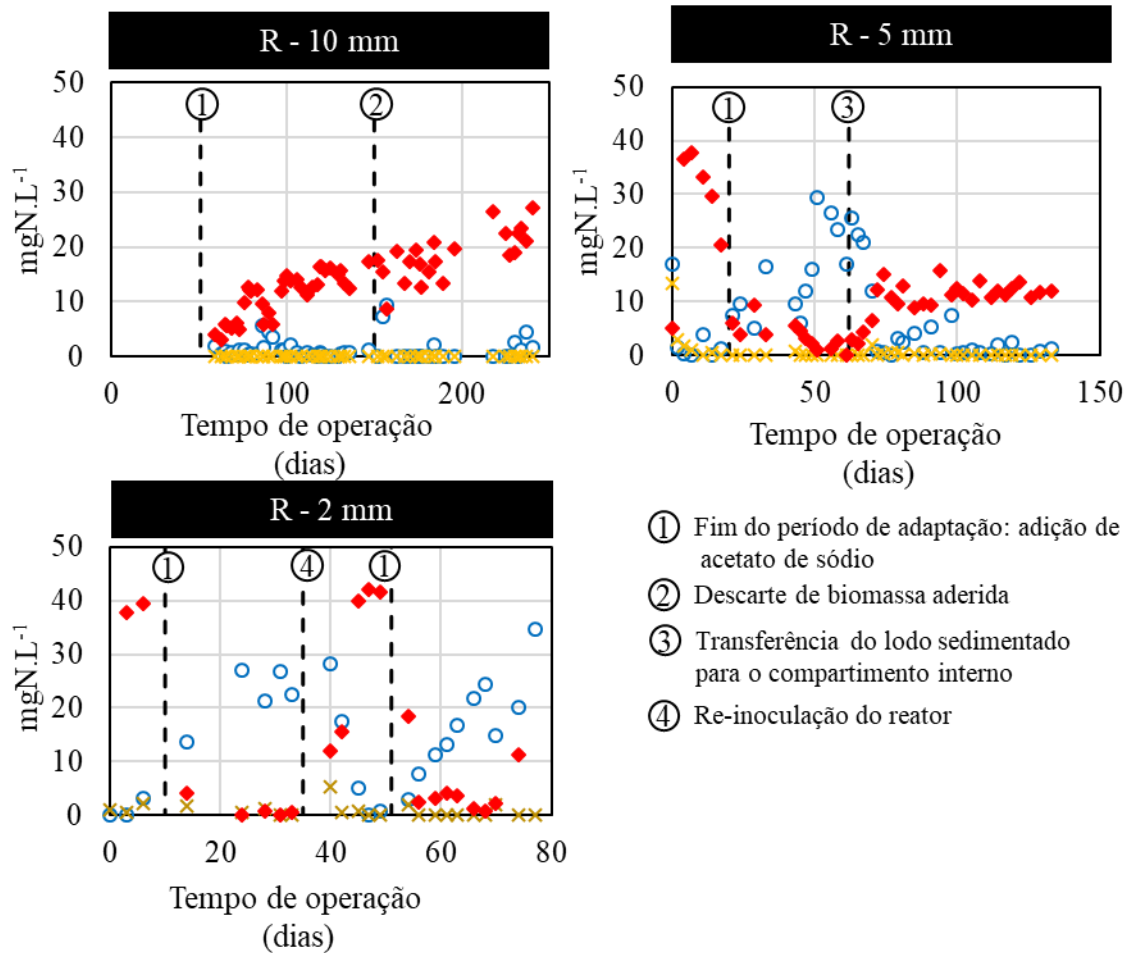
Após a inoculação dos reatores, houve um período no qual não foi adicionado acetato à água residuária para que houvesse o estabelecimento da nitrificação, evitando-se a competição por oxigênio entre as bactérias nitrificantes (AOB) e heterotróficas aeróbias (HB). Este período não foi considerado para o cálculo das médias. Após obter taxas de nitrificação significantes, iniciou-se a adição de acetato de sódio como fonte de matéria orgânica e doadores de elétrons para a desnitrificação (evento de operação 1). A adição de acetato proporcionou queda imediata das concentrações de nitrato no efluente em todos os reatores. A Figura 5.5 apresenta as concentrações dos compostos monitorados no afluente e efluente.

Figura 5.5 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente (DQO/N=5) e efluente; (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia efluente, (◆) concentração de nitrato efluente, (X) concentração de nitrito efluente, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.



- ① Fim do período de adaptação: adição de acetato de sódio
- ② Descarte de biomassa aderida
- ③ Transferência do lodo sedimentado para o compartimento interno
- ④ Re-inoculação do reator

Figura 5.6. Concentrações de compostos nitrogenados no compartimento interno aerado (DQO/N=5), (○) concentração de amônia, (◆) concentração de nitrato, (X) concentração de nitrito.

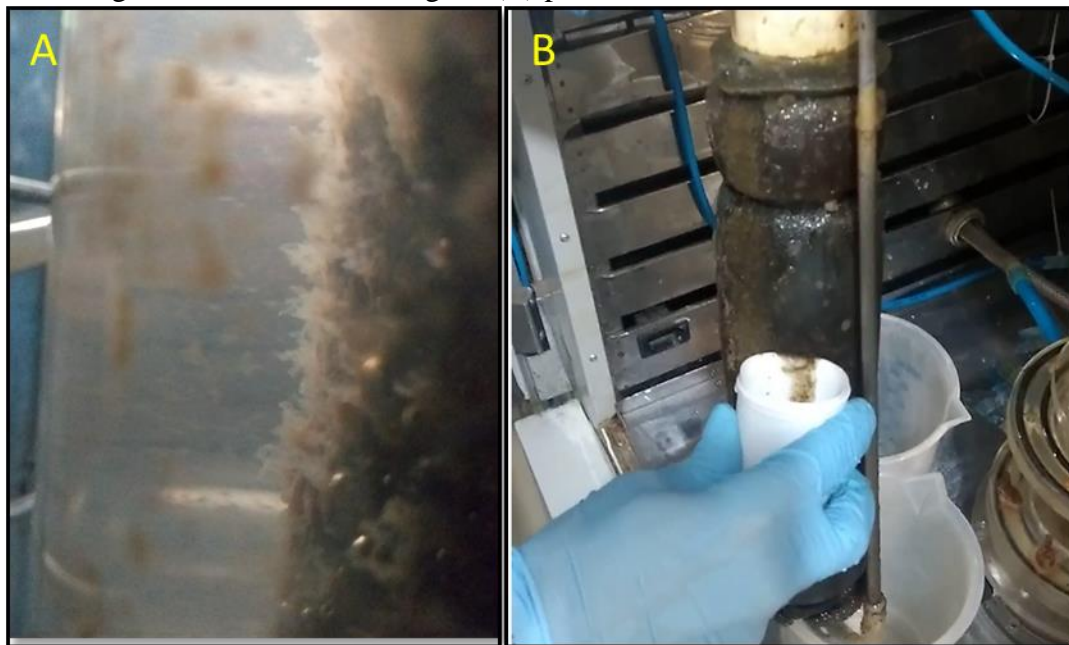


No R10, após a adição de acetato, a eficiência de remoção de N-total passou a decrescer. No início do período, a eficiência de remoção de N-total era de 60% (70º dia) e caiu para 40% no 100º dia, indicando que a amônia afluenta, presente na zona anóxica, não era completamente transferida para a zona aeróbia. Observou-se, também, tendência de aumento da concentração de nitrato no compartimento interno (Figura 5.6), indicando o aumento da atividade nitrificante. A amônia afluenta, presente na zona anóxica, não era completamente transferida para a zona aeróbia. Por outro lado, todo nitrato formado na camada aeróbia era desnitrificado no biofilme, de maneira a não haver forma oxidada de N na zona anóxica. Ou seja, nem toda amônia atingia a zona aeróbia, devido à resistência à transferência de massa na espuma.

O aumento da resistência à transferência de massa foi atribuído à colmatação dos poros da espuma pelo crescimento do biofilme. Para testar essa hipótese, foi realizado um descarte de biomassa (Evento de operação 2). O descarte consistiu na raspagem manual do

biofilme aderido à parte externa da espuma de poliuretano (Figura 5.7). Após o descarte, a eficiência de remoção de N-total voltou a aumentar, atingindo cerca de 60%. Porém, novamente, após 50 dias, a eficiência voltou a decrescer. Este procedimento operacional permitiu, portanto, verificar uma correlação entre o crescimento do biofilme e a eficiência de remoção de N-total.

Figura 5.7 – (A) Biofilme externo a espuma de poliuretano antes do descarte de biomassa R 10 mm alimentado com água residuária de relação DQO/N igual a 5 e concentração de nitrogênio amoniacal de 40mg.L^{-1} (B) procedimento de descarte de biomassa.



No R5, após a adição de acetato, a eficiência de remoção de N-total chegou próxima a 70%. Porém, a partir do 50º dia, caiu para patamares de 30 a 40% e altas concentrações de amônia foram detectadas no compartimento interno (aproximadamente 30mg.L^{-1}). Portanto, houve queda na taxa de nitrificação no compartimento, apesar das elevadas concentrações de oxigênio dissolvido (aproximadamente $6,8\text{mg.L}^{-1}$) e alcalinidade (aproximadamente 220mg.L^{-1}). Atribui-se esse fato, então, a uma limitação da própria biomassa, tendo a comunidade nitrificante se tornado incapaz de consumir toda a amônia disponível. No dia 62º, foi realizada uma recirculação pontual da biomassa depositada no fundo do reator para o compartimento interno (evento de operação 3). Esta operação teve por objetivo aumentar a concentração de biomassa, mais especificadamente, da comunidade nitrificante, no compartimento interno. O procedimento de re-inoculação da câmara aeróbia mostrou-se adequado, reduzindo a concentração de amônia para valores menores do que 10mg.L^{-1} e aumentando as concentrações de nitrato, que ficou entre 10 e 18mg N.L^{-1} (Figura 5.6). A eficiência de remoção de N-total manteve-se próxima a 50% pelos 70 dias seguintes.

Após o estabelecimento da nitrificação em R2, quando houve a adição de acetato, a nitrificação no compartimento interno também foi prejudicada (Figure 4c). A falha no processo, mais um vez, foi atribuída à falta de biomassa ativa no compartimento interno, uma vez que as condições de oxigênio dissolvido ($6,5 \text{ mg.L}^{-1}$) e alcalinidade (200 mg.L^{-1}) se mantiveram adequadas ao processo. Por isso, no dia 34º, houve uma re-inoculação do reator (evento de operação 4). A re-inoculação se difere da transferência de biomassa realizada no R5 pelo fato de a espuma de poliuretano ter sido submergida e deixada por 24 horas em uma nova mistura de lodo aeróbio e anaeróbio, e não simplesmente transferida para o compartimento interno.

Apesar de a re-inoculação ter elevado as taxas de nitrificação e a eficiência de remoção de N-total para 80%, as concentrações de amônia, tanto no efluente quanto no compartimento interno, foram consistentemente aumentando até o 70º dia de operação. Nesse dia, observou-se desprendimento da biomassa aderida à espuma de poliuretano, evidenciado, também, pela turbidez do meio líquido no compartimento externo. Houve aumento da concentração de oxigênio dissolvido no mesmo, que foi de 0 mg.L^{-1} para $5,8 \text{ mg.L}^{-1}$, indicando baixa resistência à transferência de oxigênio entre os compartimentos. A Figura 5.8 mostra a foto da espuma ao final da operação. Nela, é possível observar a baixa adesão de biomassa.

Figura 5.8 – Espuma de poliuretano com baixa adesão de sólidos ao final da operação do R – 2 mm alimentado com água residuária 1.



Apesar do aumento na eficiência de nitrificação, após o 70º dia, houve acúmulo de nitrato no sistema. O reator se tornou aeróbio em ambos os compartimentos e a desnitrificação tornou-se a etapa limitante. Tem sido relatado que as bactérias heterotróficas tendem a permanecer suspensas por terem mais contato com carbono orgânico e oxigênio em flocos suspensos do que no biofilme (Shao et al., 2017). A espuma de poliuretano pode proteger o biofilme contra cisalhamento, fornecendo pontos de ancoragem protegidos por

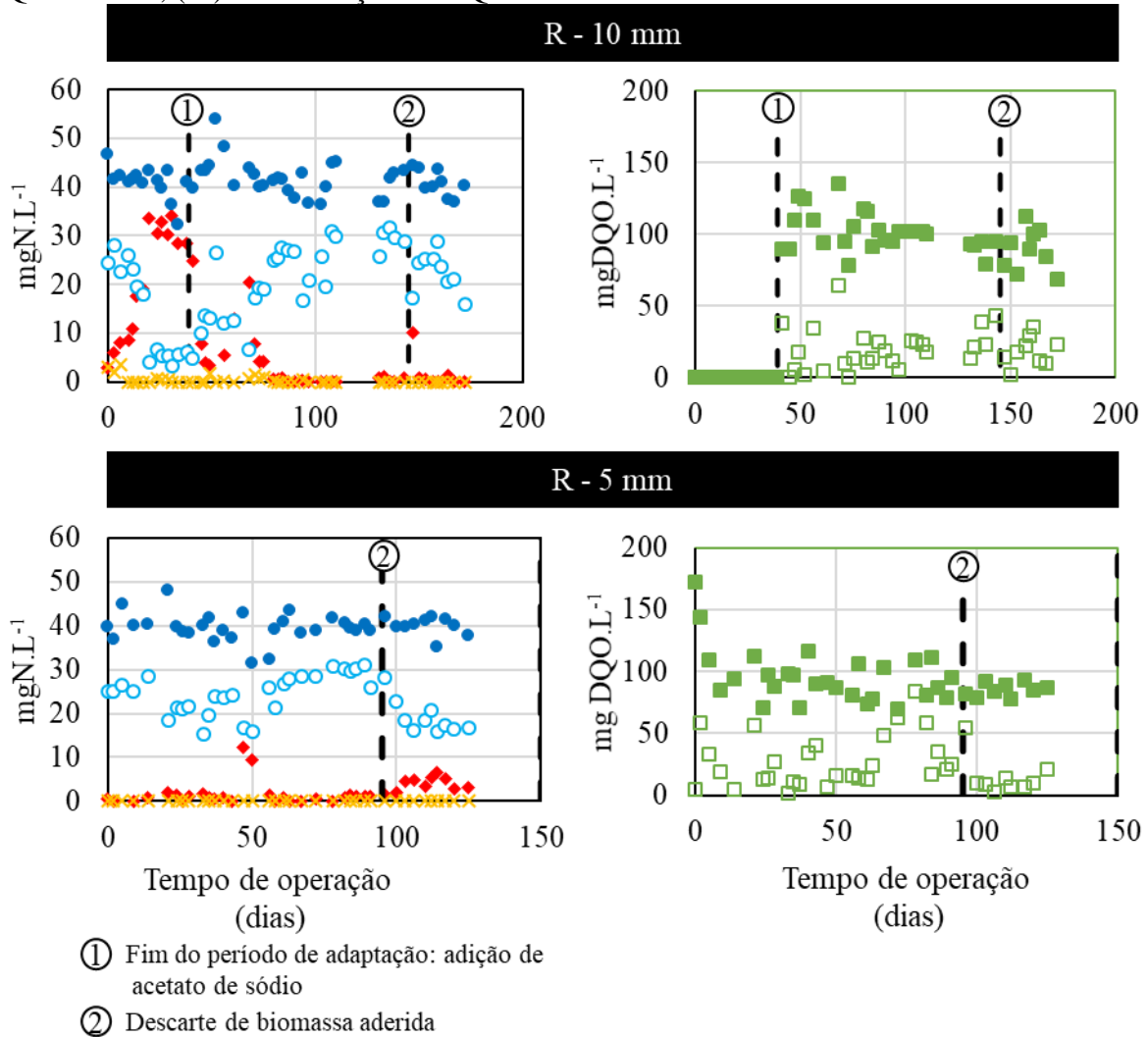
apresentar elevado volume de poros por unidade de volume de espuma. A hipótese para o insucesso no R2 é que a espessura da espuma não foi suficiente para proteger o biofilme contra cisalhamento e fornecer pontos de ancoragem protegidos nos poros. Sem a formação do biofilme, que oferecesse resistência ao transporte de massa suficiente, não foram estabelecidas as zonas óxica e anóxica para permitir o estabelecimento da contra-difusão.

Os reatores R10 e R5 também foram alimentados com água residuária de relação DQO/N igual a 2,5, a fim de se verificar o efeito da menor disponibilidade de doadores de elétrons sobre a nitrificação. A Figura 5.9 apresenta as concentrações de DQO e compostos nitrogenados no afluente e efluente. O R5 não passou por período de estabilização pois, nessa operação, foi utilizada a espuma de poliuretano já inoculada anteriormente.

O R10 apresentou comportamento semelhante ao da operação anterior, no entanto, com a remoção de TN máxima aumentou para 60%, no início do período 1 (Figura 5.9). Entretanto, nesse período, as concentrações de amônia no efluente aumentaram constantemente até o dia 150º, quando foi realizado o descarte de biomassa. Novamente, o descarte de biomassa proporcionou recuperação da eficiência do sistema. As concentrações de DQO no efluente também se mantiveram similares à da operação anterior. A transferência de massa limitou a oxidação da amônia, que continuou sendo a etapa limitante, mesmo com a diminuição da carga orgânica aplicada, sendo que a desnitrificação permaneceu com eficiências acima de 90%.

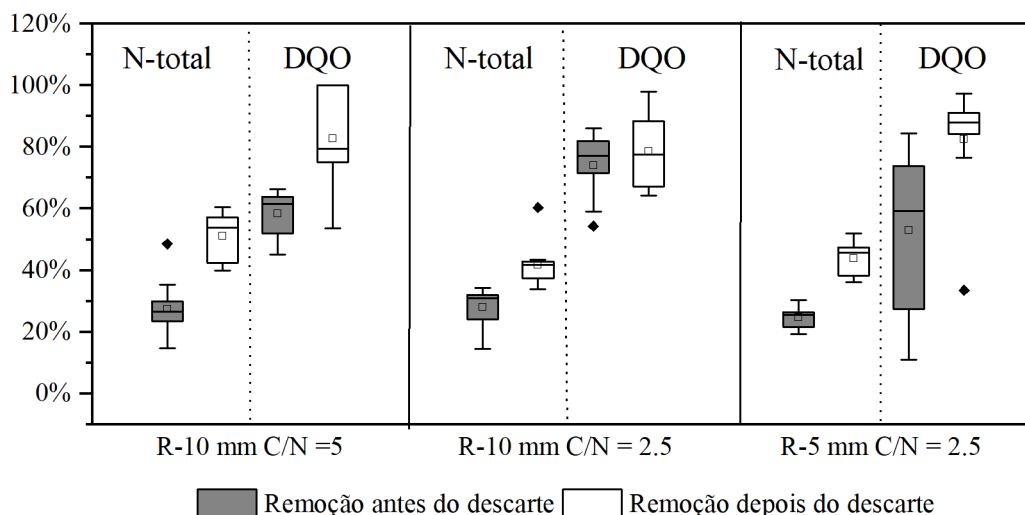
Diferentemente do obtido no presente estudo, em que a redução da relação DQO/N não impactou a taxa de nitrificação, Downing e Nerenberg, (2008) avaliaram, em MABR, que as taxas de nitrificação subiram de $0.39 \text{ gN.m}^2\text{dia}^{-1}$ para $1.19 \text{ gN.m}^2\text{dia}^{-1}$, quando a concentração de DQO no meio líquido diminuiu de 10 mg.L^{-1} para 1 mg.L^{-1} . Os autores verificaram, por meio de análises FISH, que o aumento da concentração de DQO proporcionou a abundância de bactérias heterotróficas, formando uma camada heterotrófica mais espessa, que aumentou a resistência à transferência de massa e, por conseguinte, diminuiu as taxas de nitrificação. Os autores também compararam, através de modelo no software Aquasim, as diferenças do impacto da concentração de DQO no meio líquido em biofilme submetido à co-difusão e contra-difusão. Com base nos resultados da modelagem, a contra-difusão apresentou taxas de nitrificação significativamente mais altas que a co-difusão, independentemente da DQO no meio líquido. A nitrificação ocorreu na contra-difusão mesmo com concentrações de DQO de efluentes de 20 mg.L^{-1} , enquanto que nenhuma nitrificação ocorreu na co-difusão com concentração de DQO de apenas 10 mg.L^{-1} .

Figura 5.9 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente (DQO/N=2,5) e efluente; (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia efluente, (◆) concentração de nitrato efluente, (X) concentração de nitrito efluente, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.



Segundo os autores *op cit*, na co-difusão, a nitrificação é prejudicada pela competição entre as bactérias autotróficas e heterotróficas pelo oxigênio. Por outro lado, na contra-difusão, o que impacta as taxas de nitrificação é o desenvolvimento do biofilme heterotrófico que proporciona maior resistência à transferência de massa. Fenômeno similar a esse, observado em MABR, pode ter ocorrido também no FABR. A Figura 5.10 mostra a média da remoção de N-total e DQO, 20 dias antes do descarte e 20 dias após o descarte de biofilme, evidenciando o impacto da camada de biofilme externa nas eficiências de remoção de N-total e DQO.

Figura 5.10 - Eficiências de remoção de N-total e de remoção de DQO dos reatores antes e após o descarte de biomassa.



Em todas as situações, quando houve a raspagem da parte externa do biofilme, houve também melhora na eficiência de remoção de N-total e DQO. Estes resultados corroboram com a hipótese de que a resistência à transferência de massa, ocasionada pelo desenvolvimento de bactérias heterotróficas, limitou as taxas de nitrificação. Entretanto, pode-se concluir que este fenômeno em FABR não está diretamente relacionado com a espessura da espuma de poliuretano utilizada. A espessura da espuma se mostrou importante para garantir a formação e estabilidade do biofilme, uma vez que a espessura de 2 mm se mostrou inadequada para a manutenção dos processos. Entretanto, a espessura de 10 mm não apresentou resistência à transferência de massa significativamente maior do que a espuma de 5 mm.

A comparação dos dados obtidos neste estudo, com outros que utilizaram reatores contendo espuma de poliuretano como material suporte (STBR e Moving bed reator) e com MABR, estão apresentados na Tabela 5.2. Apesar de a eficiência de nitrificação neste estudo ser menor que a média de outros estudos, a relação entre a carga de nitrogênio removido e a área superficial de biofilme disponível foi a maior. Isso pode ser atribuído à maior concentração de amônia no meio líquido anóxico, resultando em maiores gradientes de concentração no biofilme e, portanto, maior fluxo de massa. Outras estratégias para melhorar a transferência de massa podem ser estudadas no futuro, como, por exemplo, o aumento da área de biofilme disponível, diminuindo-se, assim, a carga de nitrogênio aplicada por área de biofilme. O desenvolvimento do biofilme no interior dos poros da espuma também

necessita de uma investigação mais detalhada. Estas questões foram exploradas na Etapa 2 desta tese.

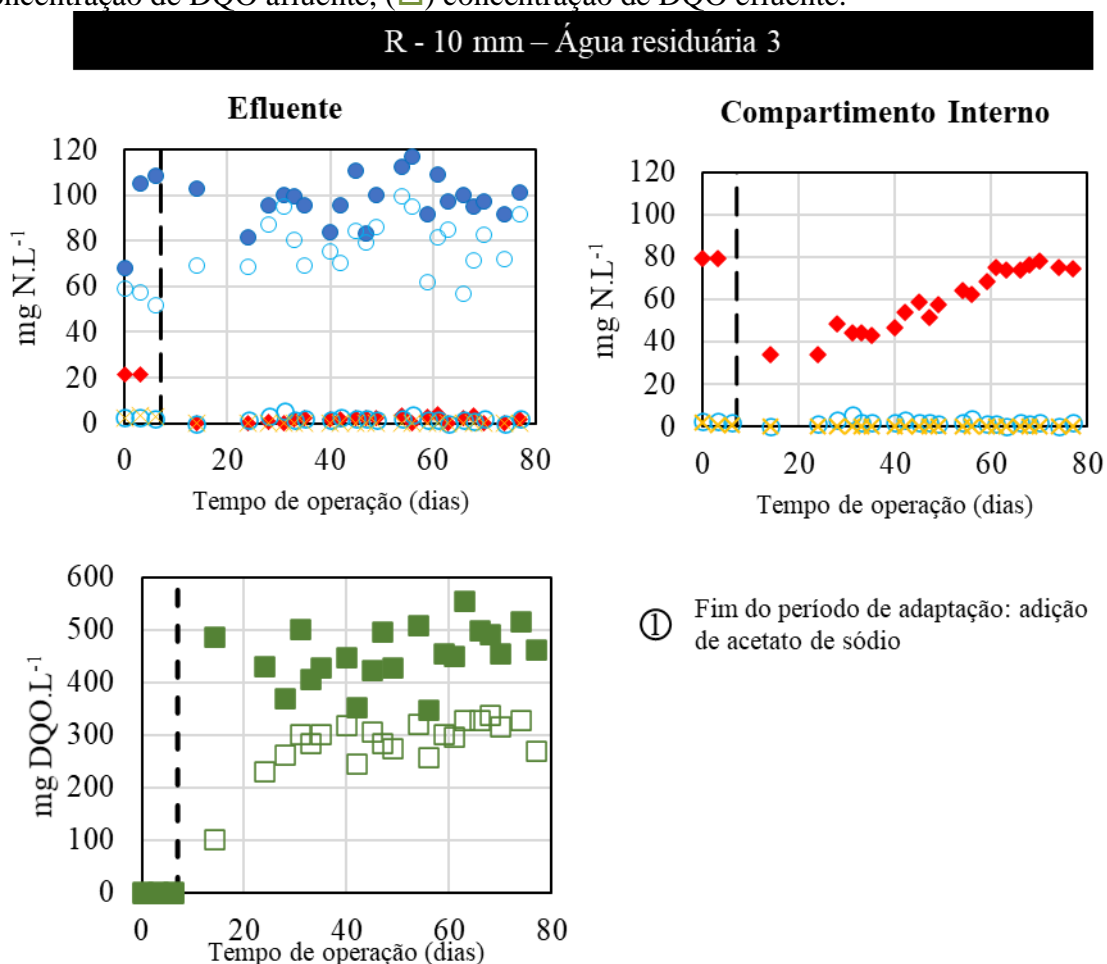
Tabela 5.2 - Carga de nitrogênio aplicada, eficiências de oxidação NTK e remoção de N-total em sistemas de biofilme contínuos de uma única unidade.

Reator	Volume reator (L)	DQO/N	Carga de N superficial (gN/m ² /dia)	Carga de N superficial removido (gN/m ² /dia)	Eficiência de Oxidação de NTK	Eficiência de remoção de N-Total	Referencia
STBR	9.6	3.5	0.76	0.22	82%	29%	(Silva et al., 2018)
STBR	6.1	11.6	0.51	0.45	82%	89%	(Moura et al., 2012)
STBR	5.5	7.7	1.02	0.73	92%	72%	(Santos et al., 2016)
STBR	9.3	7.5	1.30	0.68	90%	53%	(Barana et al., 2013)
Moving Bed	6	4.2	0.61	0.07	62%	11%	(Leick et al., 2017)
Moving Bed	6	8.1	0.64	0.27	64%	42%	(Chu and Wang, 2011)
Moving Bed	6	12.0	1.07	0.57	95%	54%	Chu and Wang, 2011)
Moving Bed	6	12.0	0.71	0.35	95%	49%	(Feng et al., 2012)
Moving Bed	6	12.0	0.54	0.28	95%	52%	(Feng et al., 2012)
Moving Bed	10	2.5	2.40	0.64	80%	27%	(Feng et al., 2012)
Moving Bed	10	5.0	1.20	0.71	95%	59%	(Xing et al., 2000)
Moving Bed	10	7.5	1.20	0.94	88%	78%	(Xing et al., 2000)
Moving Bed	10	10.0	1.20	1.02	95%	85%	(Xing et al., 2000)
Moving Bed	10	7.5	2.40	1.22	70%	51%	(Xing et al., 2000)
MABR	6.0	5.8	1.84	1.45	99%	79%	(Quan et al., 2018)
MABR	6.0	1.1	1.84	0.80	99%	43%	(Quan et al., 2018)
MABR	3.8	10.0	0.42	0.37	90%	88%	(Lin et al., 2016)
MABR	3.8	8.0	0.42	0.35	90%	84%	(Lin et al., 2016)
MABR	3.8	5.0	0.42	0.35	93%	85%	(Lin et al., 2016)
MABR	3.8	3.0	0.42	0.26	85%	62%	(Lin et al., 2016)
MABR	3.8	10.0	0.25	0.24	95%	95%	(Lin et al., 2015)
MABR	3.8	10.0	0.58	0.42	78%	72%	(Lin et al., 2015)
MABR	7.0	4.5	0.82	0.74	90%	90%	(Semmens et al., 2003)
R10	5.0	4.9	5.2	2.18	46%	42%	Este estudo
R10	5.0	2.5	5.3	2.14	46%	40%	Este estudo
R5	5.0	5.2	5.1	2.35	48%	46%	Este estudo
R5	5.0	2.5	5.0	1.81	41%	36%	Este estudo

5.3 EFEITOS DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO

Almeida et al. (2018), Barana et al. (2013) e Santos (2014) observaram a ocorrência de processo Anammox em reatores de leito estruturado e aeração intermitente alimentados com concentrações mais elevadas de amônia. A fim de verificar se o processo Anammox se estabeleceria no FABR, o R10 foi operado com as águas residuária contendo concentração de nitrogênio amoniacal igual 100 mg.L^{-1} e relação DQO/N igual a 5. A Figura 5.11 apresenta as concentrações de DQO e compostos nitrogenados no afluente, efluente e no compartimento interno, durante a operação do R10 com esta água residuária.

Figura 5.11 - Concentrações de compostos nitrogenados e DQO no afluente, efluente e no compartimento interno (Água residuária 3); (●) concentração de amônia afluente, (○) concentração de amônia, (◆) concentração de nitrato, (X) concentração de nitrito, (■) concentração de DQO afluente, (□) concentração de DQO efluente.



No compartimento interno, foram detectadas baixas concentrações de nitrogênio amoniacal e de DQO enquanto houve acúmulo de nitrato. O efluente, no entanto, apresentou altas concentrações de nitrogênio amoniacal e DQO, o que resultou em baixas eficiências de remoção de DQO e N-total, que ficaram, em média, em 36 e 18%, respectivamente. A hipótese a ser testada nesta operação era de que o aumento das concentrações de amônia

poderia favorecer o estabelecimento do processo anammox. Entretanto, o estabelecimento desse processo se tornou pouco provável devido à presença de elevadas concentrações de DQO no compartimento anóxico (externo) e da nitrificação total estabelecida no compartimento interno.

5.4 AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE FILOGENÉTICA

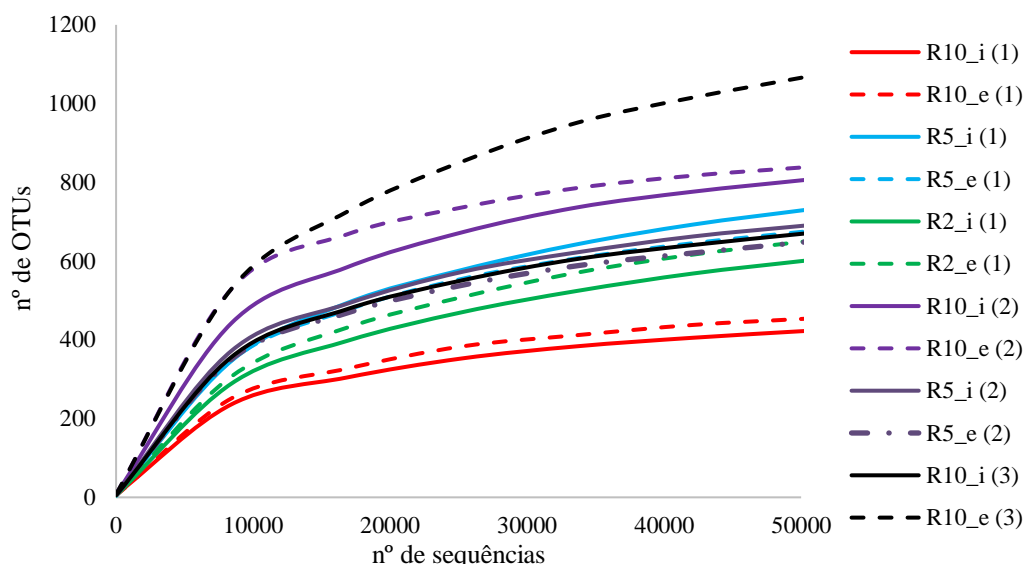
5.4.1 Índices de diversidade

A Tabela 5.3 mostra, para cada amostra, o número de sequências e de OTUs agrupadas com 97% de similaridade e a cobertura (índice de Good's). A curva de rarefação (Figura 5.12) mostra que o número de OTUs cresce com o aumento das sequências analisadas, aproximando-se de um valor máximo. Ademais, os valores de cobertura se situam entre 99,6 e 99,8%. Esses parâmetros indicam que as amostras representam bem a estrutura da comunidade microbiana da amostra. O número de sequências obtidas para cada OTU com 97% de similaridade foi utilizado no cálculo dos índices de diversidade *Shannon* e *Chao 1* (Tabela 5.3). O índice de *Chao 1* é utilizado para avaliar a riqueza da comunidade microbiana, enquanto o índice de *Shannon* estima a diversidade.

Tabela 5.3 - Quantidade de sequências, OTUs, Shannon, Chao-1 e índice de Good's para cada amostra.

Amostras	nº de OTUs	nº de sequências	Shannon	Chao 1	Cobertura (%)
R10_i (1)	423	81316	3.377	609 ± 29	99.8
R10_e (1)	454	74424	2.545	625 ± 21	99.7
R5_i (1)	731	113952	2.107	1140 ± 41	99.8
R5_e (1)	676	76646	2.234	1048 ± 41	99.8
R2_i (1)	602	85225	2.263	996 ± 41	99.9
R2_e (1)	651	81596	2.392	1105 ± 46	99.7
R10_i (2)	807	74760	3.808	1130 ± 33	99.7
R10_e (2)	839	87731	4.462	1118 ± 31	99.7
R5_i (2)	691	83377	2.929	1160 ± 54	99.7
R5_e (2)	649	79138	3.552	947 ± 30	99.7
R10_i (3)	671	55989	2.675	1005 ± 36	99.6
R10_e (3)	1069	90230	3.710	1174 ± 23	99.7

Figura 5.12 – Curva de rarefação



Observou-se pouca variação do índice de riqueza (Chao-1), com exceção das amostras R10_i(1) e R10_e(1) que se destacaram por um índice inferior. Uma possível explicação é que estes reatores tiveram maior tempo de operação (180 dias), o que pode ter causado maior seleção das populações presentes no inóculo, i.e. algumas populações pouco adaptadas foram eliminadas.

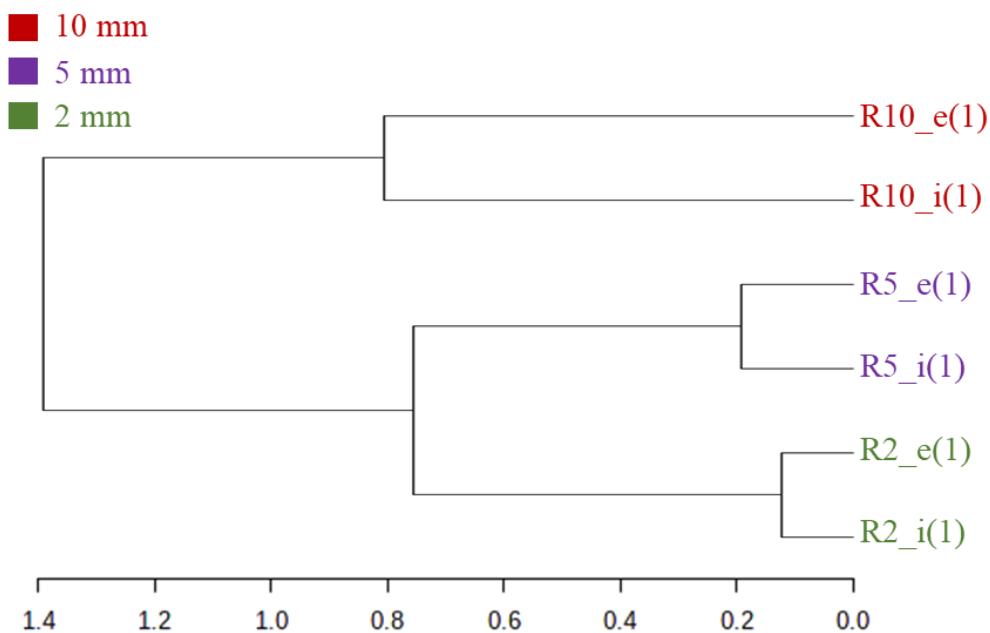
Comparando-se as amostras dos diferentes compartimentos de um mesmo reator, houve pouca variação no índice de Chao1. Por outro lado, na maior parte dos casos, o índice de Shannon foi ligeiramente maior nas amostras do compartimento externo. Moura (2014) também obteve, a partir de amostras de biofilme de reatores de leito estruturado com espuma de PU como material suporte (co-difusão), valores para índice Shannon ligeiramente maiores para amostras da parte interna da espuma (ambiente anóxico). Isso indica maior diversidade de microrganismos capazes de se adaptar às condições anóxicas nesses sistemas de NDS.

A Figura 5.13 apresenta o dendograma baseado no índice Bray-Curtis, no qual é possível observar a dissimilaridade entre as amostras. A similaridade entre as amostras do compartimento interno e externo do reator R10 (amostras R10_i(1) e R10_e(1)) foi menor quando comparadas às similaridades entre as amostras do compartimento interno e externo dos demais reatores. O reator R10, além de promover o maior distanciamento entre os compartimentos, foi operado por mais tempo. As amostras foram retiradas quando a eficiência do reator estava prejudicada pela alta resistência à transferência de massa no biofilme. A elevada resistência à transferência de massa, proporcionada pela formação do biofilme, permitiu a criação de ambientes ainda mais distintos entre os compartimentos, pois nem todos os substratos penetram completamente no biofilme. A falta de doadores de

elétrons no compartimento interno e de aceptores no compartimento externo pode ter levado a uma maior especialização da comunidade microbiana, também evidenciada pelo índice *Chao 1*. A maior especialização em ambientes distintos e isolados, por sua vez, também acarretou na menor similaridade.

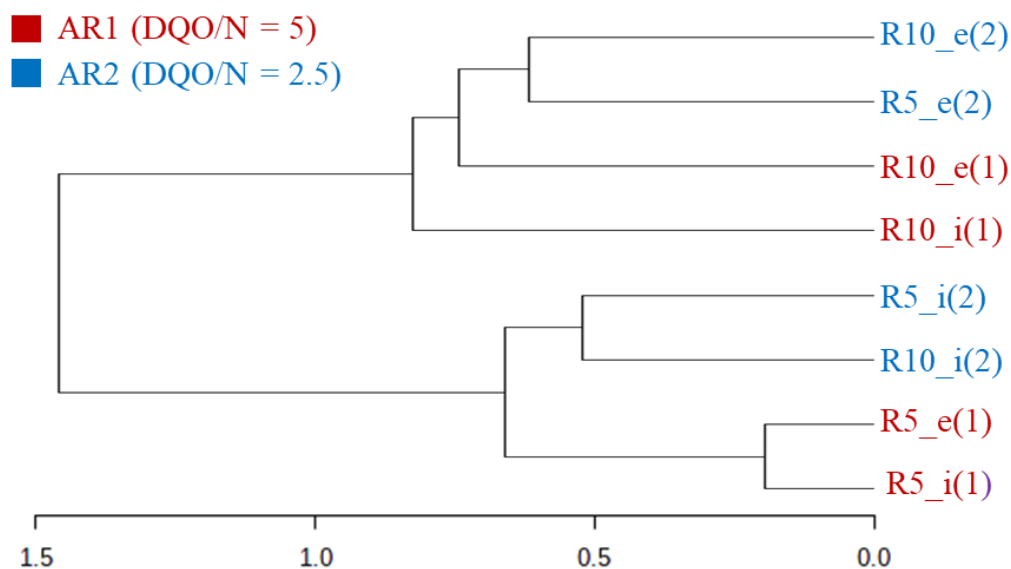
A maior similaridade foi observada entre as amostras dos compartimentos interno e externo de R2. Isso possivelmente se deve à baixa fixação da biomassa à espuma, que proporcionou baixa resistência à transferência de massa e produziu condições ambientais parecidas em ambos os compartimentos. A menor similaridade pode não estar associada diretamente à espessura da espuma e sim à resistência à transferência de massa.

Figura 5.13 - Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis. As diferentes espessuras de espuma de poliuretano (2, 5 e 10 mm) estão destacadas com cores diferentes.



A menor relação DQO/N e o tempo de operação pode ter favorecido a maior especialização entre as comunidades do compartimento interno e externo dos reatores alimentados com a AR2 (Figura 5.14). Além do maior tempo de operação, a menor concentração de acetato na água residuária pode ter colaborado para isso. Possivelmente, devido à menor concentração de acetato nessa AR, houve baixa penetração de matéria orgânica no biofilme, o que pode ter levado à maior especialização dos microrganismos no compartimento interno.

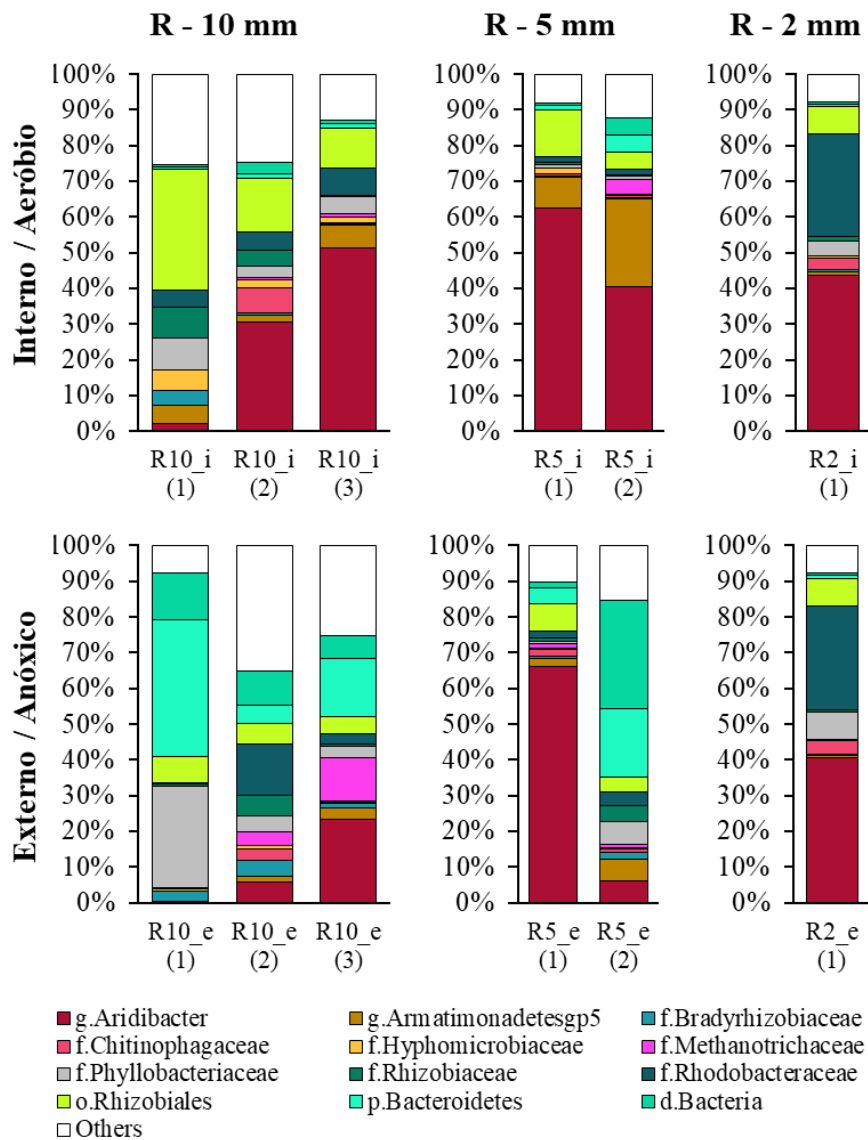
Figura 5.14 - Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis. Diferentes valores de relação DQO/N da água residuária estão destacados com cores diferentes.



5.4.2 Caracterização filogenética

Os resultados do sequenciamento metabarcoding do gene 16S rRNA revelaram a predominância de gênero *Aridibacter*, na maioria das amostras (Figura 5.15). Esses microrganismos são quimioheterotróficos, crescem em temperatura mesofílica e são capazes de utilizar o nitrato como aceptor final de elétrons na ausência de oxigênio (Huber et al., 2017, 2014). Esses fatores explicam sua presença em ambos os compartimentos dos reatores. Na amostra R10_e(1), houve predominância da família *Phyllobacteriaceae*. Pertencem a esta família bactérias aeróbias heterotróficas e algumas espécies, como a *Aquamicrobium*, que podem usar nitrato como um aceptor final elétrons alternativo (Willems, 2014).

Figura 5.15 - Abundância relativa das 12 principais OTU



A abundância relativa do gênero *Armatimonadetesgp5* foi maior em amostras do compartimento interno (aeróbios) do que nas amostras do compartimento externo (anóxico) (Tabela 5.4). O filo *Armatimonadetes*, do qual este gênero faz parte, é frequentemente encontrado em sistemas CANON (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) e SNAD (simultaneous nitrification anammox and denitrification) (Mi et al., 2017; Xin et al., 2020; Zhang and Liu, 2014; Zhao et al., 2018). O papel que este grupo desempenha no consorcio microbiano não é claro, mas há evidências de que essas bactérias são capazes de consumir amônia (Zhang and Liu, 2014). Mi et al. (2017) observaram que o gênero *Armatimonadetesgp5* se tornou o mais abundante durante o tratamento de águas residuárias com concentração de amônia de 30 mgN.L⁻¹ pelo processo CANON.

A família *Hyphomicrobiaceae* também obteve maior abundância em amostras do compartimento interno (Tabela 5.4). A maioria dos microrganismos pertencentes a esta família são quimioheterotróficos aeróbios, e crescem apenas na presença de baixas concentrações de fonte de carbono (Oren and Xu, 2014). A presença de oxigênio e a menor concentração de matéria orgânica neste compartimento podem ter sido favoráveis ao desenvolvimento dessas populações. No entanto, alguns representantes desta família podem crescer em condições anaeróbias, realizando desnitrificação ou fermentação (Oren and Xu, 2014).

A família *Bradyrhizobiaceae* obteve baixa abundância relativa em todas as amostras, porém está presente em ambos os compartimentos. O gênero *Nitrobacter*, cujas espécies são conhecidas como bactérias oxidadoras de nitrito (NOB), está incluso nessa família (Cydzik-Kwiatkowska, 2015). A família *Chitinophagaceae*, também encontrada em ambos os compartimentos, é frequentemente encontrada em sistemas de remoção de nitrogênio (Cydzik-Kwiatkowska, 2015; Gomez-Alvarez et al., 2013; Pliego-Arreaga et al., 2013; Wu et al., 2019; Zeng et al., 2018). Entretanto, não há um consenso na literatura quanto à sua função nesses sistemas. Segundo Gomez-Alvarez et al., (2013), uma possibilidade é que essas bactérias utilizam metabólitos orgânicos liberados por bactérias nitrificantes.

A abundancia relativa do filo *Bacteroidetes* foi significativamente maior nas amostras do compartimento externo. O filo *Bacteroidetes* é encontrados frequentemente em sistemas de tratamento de águas residuárias (Chen et al., 2014; Feng et al., 2012; Li et al., 2016; Lin et al., 2016; Wu et al., 2019). Esses microrganismos estão envolvidos na hidrólise anaeróbia e fermentação de compostos orgânicos e em sua conversão em compostos mais simples (Chen et al., 2014; Zhang, 2012). Isso explica sua maior abundancia no compartimento externo, que tem maior concentração de matéria orgânica.

A abundância relativa da família *Methanotrichaceae* foi de 12,28% na amostra R10_e(3). A família *Methanosaetaceae* consiste em um único gênero: *Methanothrix*. Trata-se de arqueas metanogênicas, de crescimento lento e que utilizam apenas o acetato como substrato para metanogênese (Oren, 2014). O desenvolvimento desta família deve estar relacionado à maior concentração de acetato advindo do afluente. Era esperado que maiores concentrações de amônia privilegiassem microrganismos da família *Planctomycetales*, conhecida por compreender gêneros de bactérias anammox. Entretanto, devido às baixas taxas de conversão de amônia a nitrito e nitrato no reator, houve baixo consumo de acetato. Como consequência, houve a proliferação de membros da família *Methanotrichaceae* (Leal et al., 2016).

Tabela 5.4 - Abundância relativa das 12 principais OTU

	R10_i (1)	R10_e (1)	R5_i (1)	R5_e (1)	R2_i (1)	R2_e (1)	R10_i (2)	R10_e (2)	R5_i (2)	R5_e (2)	R10_i (3)	R10_e (3)
Others	25.50%	7.81%	8.15%	10.34%	7.80%	7.81%	24.71%	35.12%	12.39%	15.36%	12.78%	25.13%
d.Bacteria	0.67%	12.91%	0.69%	1.43%	0.54%	0.62%	3.33%	9.55%	4.76%	30.45%	1.15%	6.45%
p.Bacteroidetes	0.39%	38.53%	1.10%	4.52%	0.64%	0.91%	1.28%	5.20%	4.79%	18.89%	1.11%	16.21%
o.Rhizobiales	33.91%	7.20%	13.31%	7.72%	7.71%	7.47%	14.97%	5.62%	4.81%	4.30%	11.20%	4.97%
f.Bradyrhizobiaceae	3.95%	2.74%	0.24%	0.72%	0.41%	0.45%	0.80%	4.37%	0.17%	1.69%	0.28%	1.18%
f.Chitinophagaceae	0.02%	0.03%	0.63%	1.79%	3.34%	3.65%	6.84%	3.35%	0.72%	1.10%	0.51%	0.21%
f.Hyphomicrobiaceae	5.94%	0.84%	1.59%	0.33%	0.53%	0.42%	2.36%	0.75%	0.29%	0.34%	1.59%	0.45%
f.Methanotrichaceae	0.00%	0.13%	0.01%	1.37%	0.01%	0.00%	0.52%	3.79%	3.98%	0.79%	1.00%	12.28%
f.Phyllobacteriaceae	8.83%	28.59%	1.07%	0.79%	4.31%	7.65%	3.29%	4.70%	1.10%	6.58%	4.61%	3.17%
f.Rhizobiaceae	8.63%	0.41%	0.50%	0.82%	1.24%	0.56%	4.41%	5.62%	0.44%	4.36%	0.43%	0.57%
f.Rhodobacteraceae	4.84%	0.40%	1.50%	1.90%	28.69%	29.33%	5.10%	14.47%	1.35%	3.85%	7.67%	2.75%
g.Aridibacter	2.18%	0.05%	62.53%	66.12%	43.69%	40.58%	30.60%	5.79%	40.55%	5.95%	51.33%	23.34%
g.Armatimonadetesgp5	5.14%	0.37%	8.70%	2.15%	1.08%	0.55%	1.80%	1.69%	24.64%	6.34%	6.32%	3.27%

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES – ETAPA 2

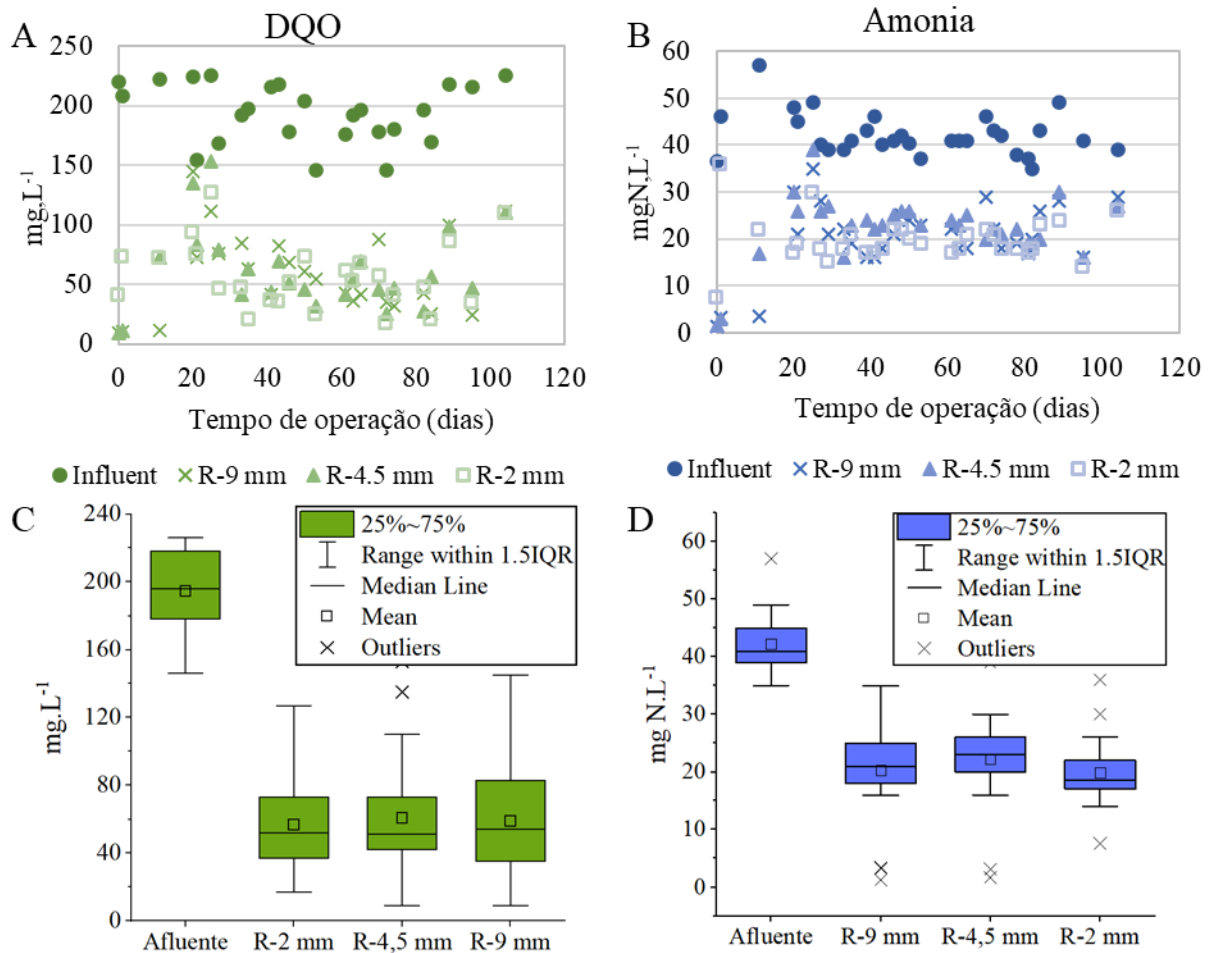
6.1 OPERAÇÃO DAS CÉLULAS DE FLUXO

A etapa anterior mostrou que a espessura da espuma de poliuretano testadas não influenciaram significativamente na eficiência de remoção de nitrogênio e DQO. Para avaliar os principais fatores associados à transferência de massa, foram elaboradas as células de fluxos. As células de fluxo simulam o FABR, ao mesmo tempo em que permitem a realização da medição dos gradientes de concentração dos substratos no interior da espuma através de microeletrodos.

As células de fluxos foram operadas com espessuras de espuma de 9 mm, 4,5 mm e 2 mm. A água residuária e as condições ambientais foram semelhantes às da etapa anterior para verificar a reprodutibilidade dos resultados. As células de fluxo foram operadas paralelamente e, portanto, o afluente foi proveniente do mesmo reservatório. A Figura 6.1'A' e 'B' mostram, respectivamente, as concentrações de DQO e do nitrogênio amoniacal ao longo do tempo. A Figura 6.1'A' 'C' e 'D' mostram o gráfico com os valores médios. Não foram detectados nitrato e nitrito no afluente e no efluente (concentrações menores do que $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$).

As células de fluxo atingiram valores médios de eficiência de remoção de nitrogênio total de 53%, 57% e 47% com 9 mm, 4,5mm e 2 mm de espuma, respectivamente. A falta de nitrito e nitrato no efluente indica que, como na etapa anterior, a nitrificação foi a etapa limitante do processo. Conforme verificado na Etapa 1, a espessura da espuma de poliuretano não afetou substancialmente a qualidade do efluente. Apesar de não ter sido observada a perda de eficiência durante o período de monitoramento, as concentrações de nitrogênio e DQO em cada compartimento foram similares às obtidas com os reatores em escala de bancada. Estes resultados permitem inferir que os gradientes de concentrações obtidos nas células de fluxo devem ser próximos e representativos daqueles que ocorreram no reator em escala de bancada. Como já mencionado anteriormente, esperava-se que uma maior espessura da espuma de poliuretano representasse uma maior resistência à transferência de massa, por isso ensaios específicos para avaliar a transferência de massa foram realizados.

Figura 6.1 – Concentrações de amônia e DQO no afluente e efluente durante a operação das células de fluxo



6.2 FATOR DE DIFUSIVIDADE EFETIVA (EDF)

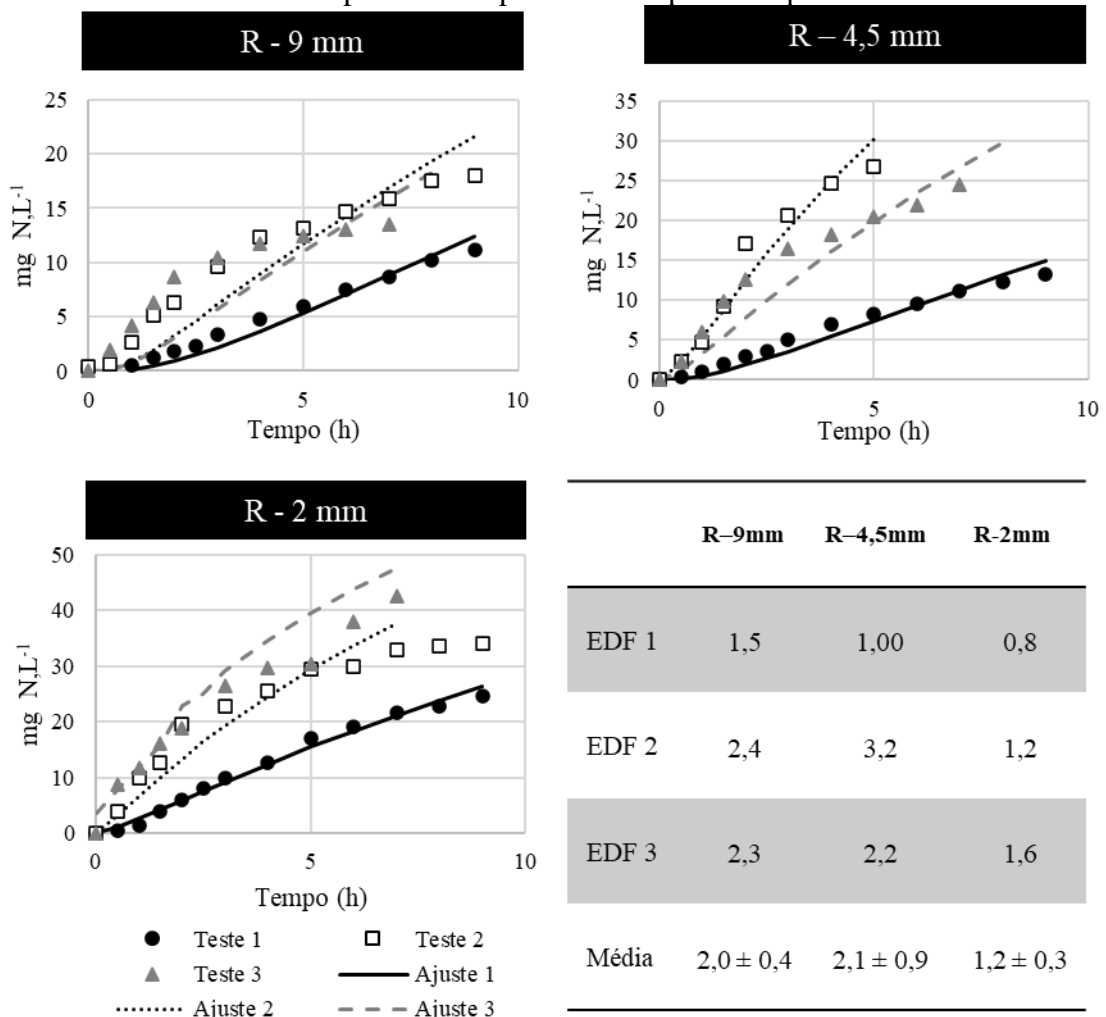
Os substratos solúveis são transportados para o biofilme por advecção e difusão molecular, porém a difusão molecular é geralmente considerada o mecanismo dominante, (Bishop, 1997). Tipicamente, a difusividade de um soluto no interior do biofilme é menor que a da água, devido à tortuosidade dos poros e à permeabilidade do biofilme. Consequentemente, um fator de difusividade efetiva (EDF) pode ser aplicado ao usar um modelo matemático para prever as concentrações no biofilme (Stewart, 1998). Este fator é definido como a relação entre a difusividade efetiva do biofilme e a difusividade do soluto em solução aquosa.

Alguns estudos já demonstraram que estruturas de canais podem fazer com que a advecção seja significativa em biofilmes (Bishop, 1997; Costerton et al., 1994). A incorporação de advecção no modelo de transporte de substrato de biofilme pode ser uma tarefa árdua devido

à sua complexidade. A adoção de EDF eficaz pode ser uma opção viável, além de exigir menor esforço computacional.

Para este estudo, o biofilme é considerado como todo o complexo constituído de fibras da espuma, células e EPS. Por isso, o “biofilme” não se encontra apoiado a nenhum material suporte, uma vez que o próprio material suporte passa a ser considerado constituinte do biofilme. Assim, o biofilme está exposto ao meio líquido por ambos os lados, aumentando a influência das forças de cisalhamento. Além disso, é válido presumir que o tamanho dos vazios desse meio complexo é maior do que a de um biofilme convencional, uma vez que os poros da espuma possuem tamanho médio de 500 μm e nem sempre estão completamente ocupados por biomassa, criando uma estrutura de canais expressiva. A Figura 6.2 apresenta as concentrações de nitrogênio amoniacal no compartimento superior e as estimativas do EDF em cada teste.

Figura 6.2 - Concentrações de nitrogênio amoniacal no compartimento superior e fator de difusividade efetivo estimado para cada espessura de espuma de poliuretano.



Os valores próximos a 2 obtidos para o R9 e R4.5 indicam que a transferência de massa é maior que a difusão em uma camada de líquido estagnada de mesma espessura. A possível

causa para isto é a contribuição de um transporte advectivo pelos canais da espuma. Para o R2, o EDF foi próximo de 1, indicando que, nesse caso, o transporte se dá, principalmente, por difusão.

O fato de o EDF ser diferente para cada espessura da espuma de poliuretano ajuda a explicar por que a espessura não afetou o desempenho de cada reator, uma vez que a maior espessura é, de alguma forma, compensada por um maior valor de EDF. A hipótese formulada foi de que a resistência à transferência de massa, e por consequência o EDF, estaria relacionada ao desenvolvimento e a estrutura do biofilme formado dentro dos poros da espuma.

6.3 ESTRUTURA DO BIOFILME

A análise de sensibilidade do modelo mostrou que a densidade e a porosidade do biofilme são dois parâmetros importantes a serem considerados. Estes parâmetros podem influenciar diretamente na capacidade do biofilme em permitir a advecção ou não e, ao mesmo tempo, influenciam na própria difusão limitando o espaço preenchido por líquido no biofilme. Ao final da operação dos reatores, foram realizadas análise de sólidos suspensos voláteis aderidos a espuma. A concentração de biomassa observada nos reatores R9, R4.5 e R2 foram de 9,6g SSV/m³, 14,8 e 37,3 SSV/m³ respectivamente.

A análise de sólidos não permite obter informações acerca da porosidade do biofilme e nem de sua heterogeneidade. A Figura 6.3 apresenta as imagens obtidas por tomografia de coerência óptica (OCT) em seção transversal da espuma de poliuretano para o reator R9. As imagens foram tiradas em três regiões distintas do biofilme. A Figura 6.3-A é uma seção próxima ao compartimento aerado. A Figura 6.3-B é uma região intermediária da espuma e a Figura 6.3-C é o lado oposto à aeração. A Figura 6.4 e a Figura 6.5 mostram as imagens 3D OCT para os reatores de 4,5 mm e 2 mm, respectivamente. As imagens OCT mostram que a biomassa não se desenvolveu de maneira homogênea no interior dos poros da espuma. A zona aeróbia do biofilme é facilmente identificável devido à sua cor mais clara e também pelo biofilme mais denso desenvolvido.

Os resultados da estimativa da porosidade são apresentados pela Figura 6.6-A, para o R4.5 e Figura 6.6-B, para o R2. Pode-se estimar, então, que há uma camada de aproximadamente 1 mm em que a porosidade é de 70 a 80%, enquanto que, para o resto da espuma, a porosidade é de cerca de 90%.

Na contra-difusão, o biofilme cresce até que ocorra a limitação do acceptor ou do doador de elétrons. A espessura dessa camada densa do biofilme se desenvolveu até que houvesse a

limitação por oxigênio, uma vez que sua espessura coincide com o perfil de penetração do oxigênio, cuja extensão é de 0.8-1.3 mm (item 6.4, Figura 6.8). Imagens FISH das regiões aeróbia e anóxica de cada reator (Figura 6.7) permitem observar que a presença de comunidades AOB e NOB nesta região, próxima ao compartimento aerado, é substancialmente maior.

A estrutura heterogênea da biomassa nos levou a concluir que a resistência à transferência de massa através do perfil do biofilme também não era homogênea. A resistência à transferência de massa pode ser maior na camada aeróbia, que tem uma espessura semelhante entre os reatores. Por apresentar uma porção maior de vazios, a parte anóxica do biofilme permite maior grau de advecção, sendo assim menos impactante na resistência à transferência de massa. Esta afirmação é suportada pelos valores de EDF superiores a 1 para os R9 e R 4.5, que possuem uma porção maior de espuma na região anóxica.

Figura 6.3 - Imagens de OCT para o R9 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica a seção e a direção da imagem da OCT, azul é o plano de fundo. Região central da região 'A' Aerada 'B'; Região anóxica "C"

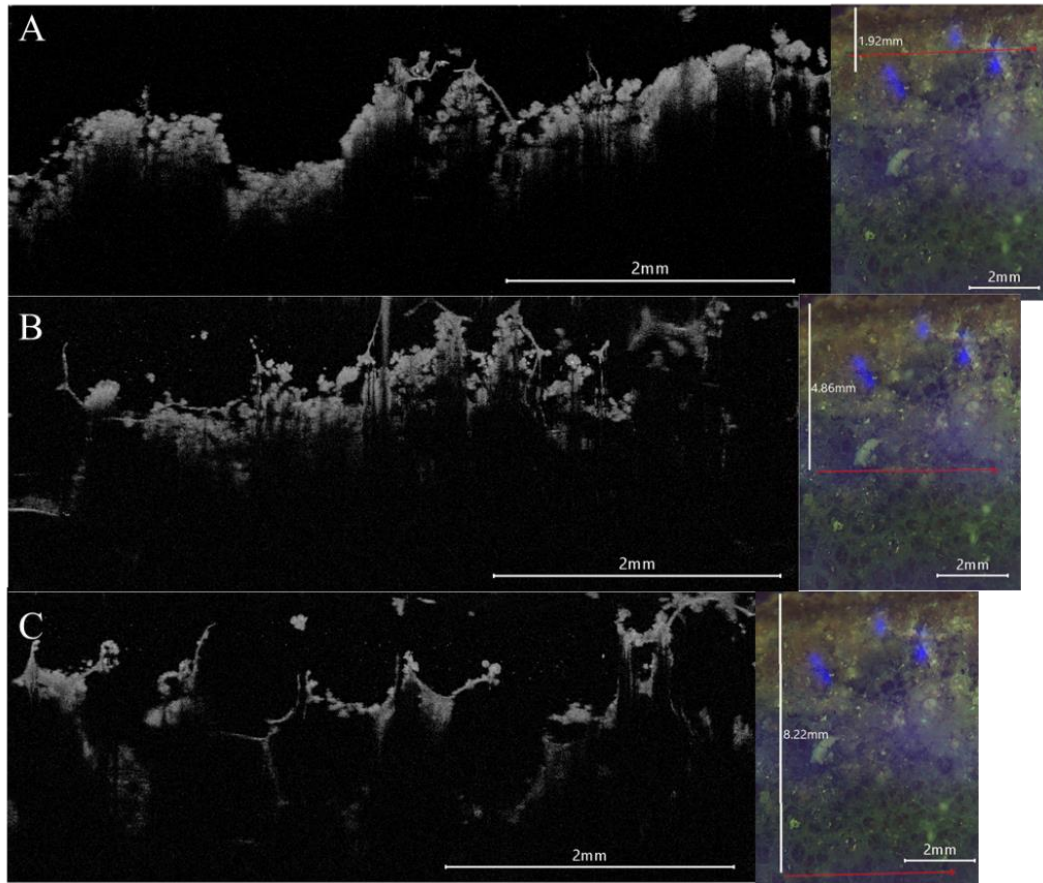


Figura 6.4 – Composição em 3D das imagens de OCT do R4.5 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica os limites da área da imagem da OCT

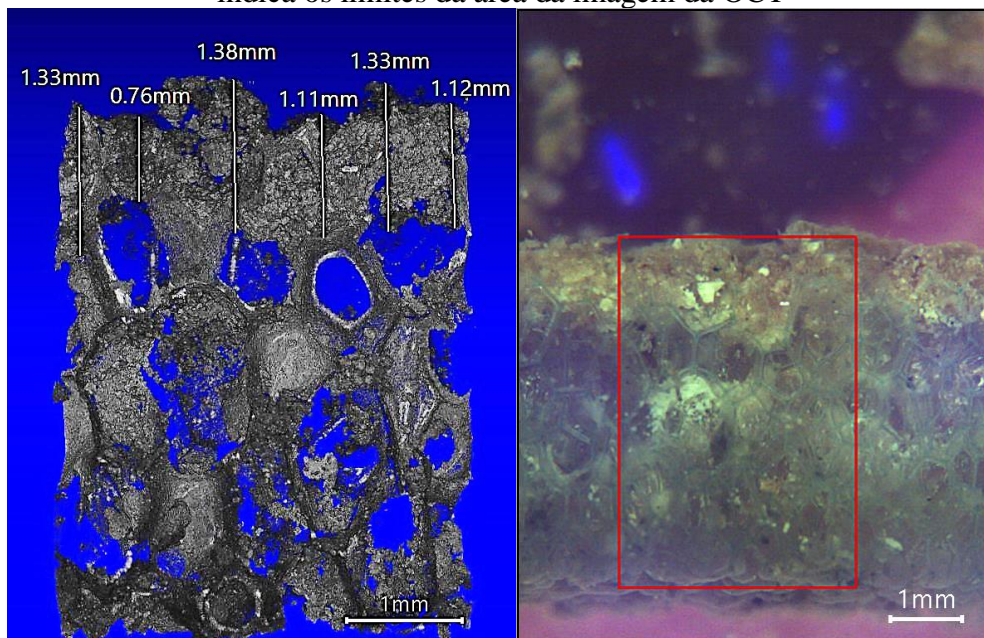


Figura 6.5 - Composição em 3D das imagens de OCT do R2 mm. À esquerda, imagem OCT. Na imagem à direita da seção transversal da amostra de espuma, a linha vermelha indica os limites da área da imagem da OCT

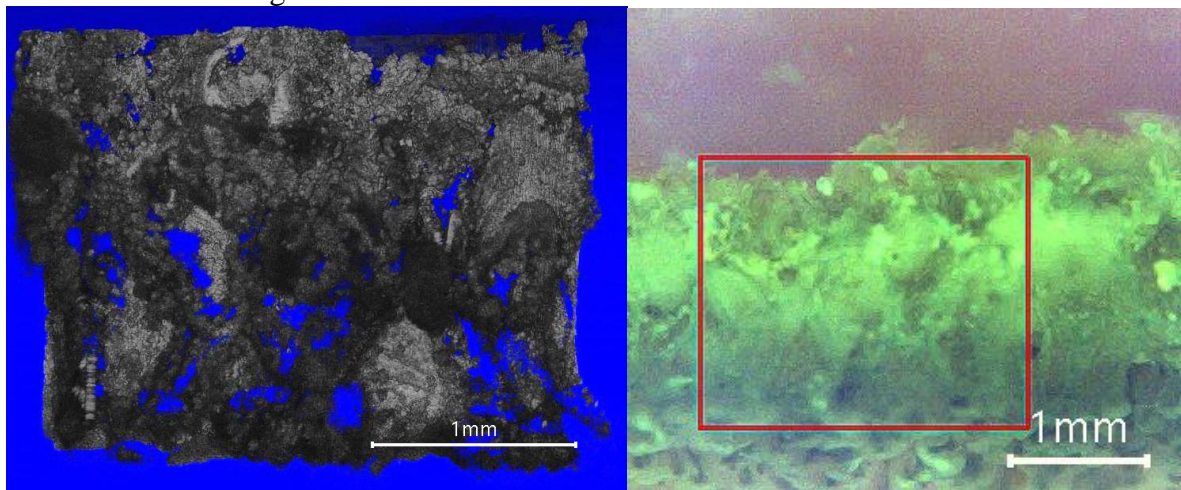


Figura 6.6 - Perfil de porosidade, calculado a partir dos resultados das imagem OCT para o R4.5 mm e R 2

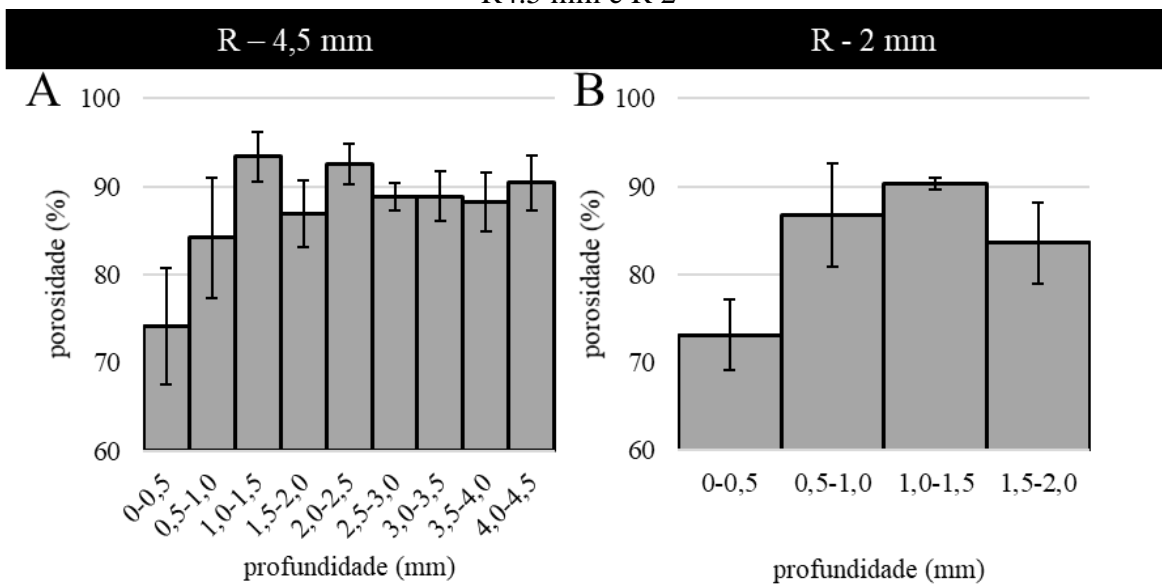
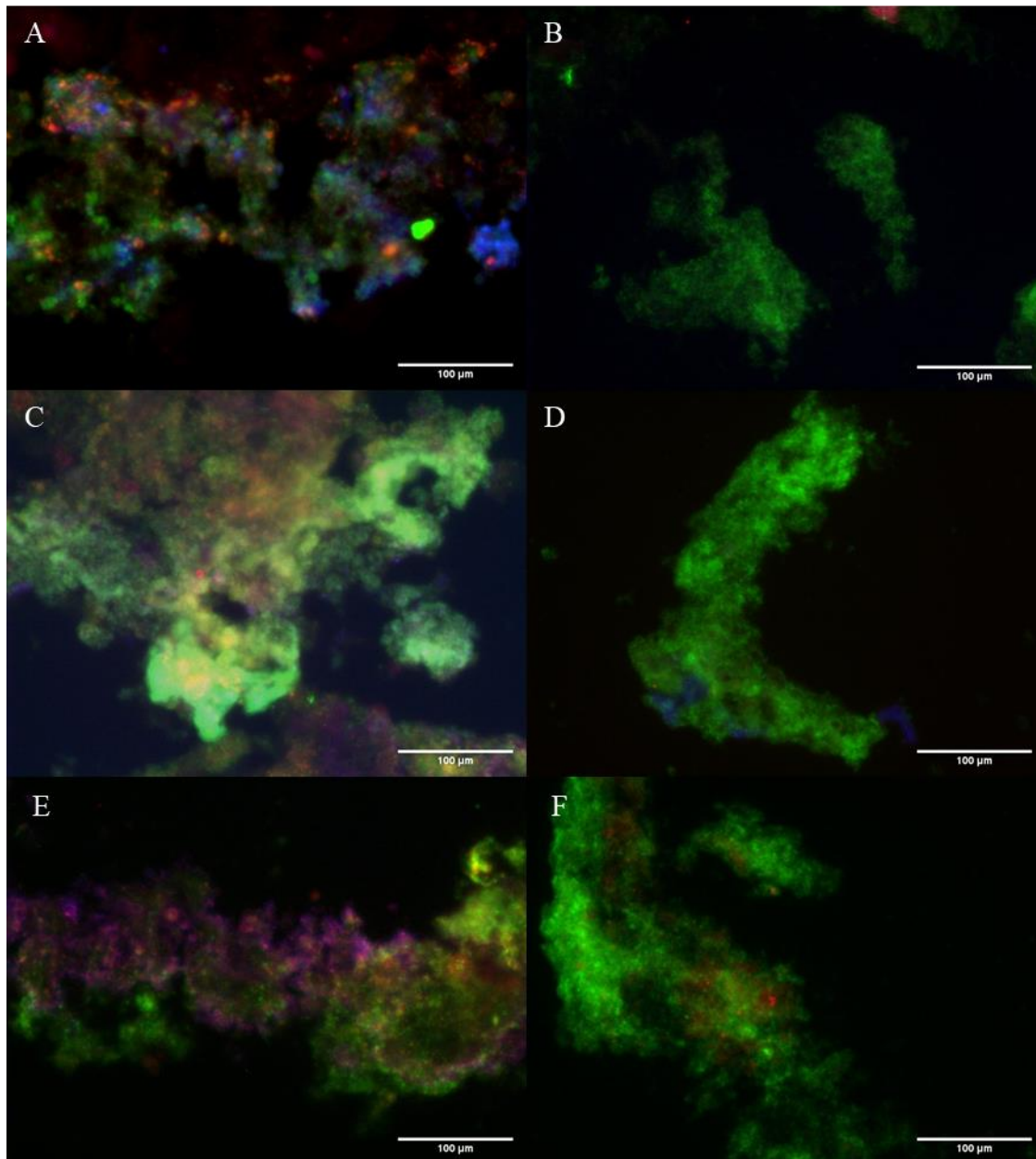


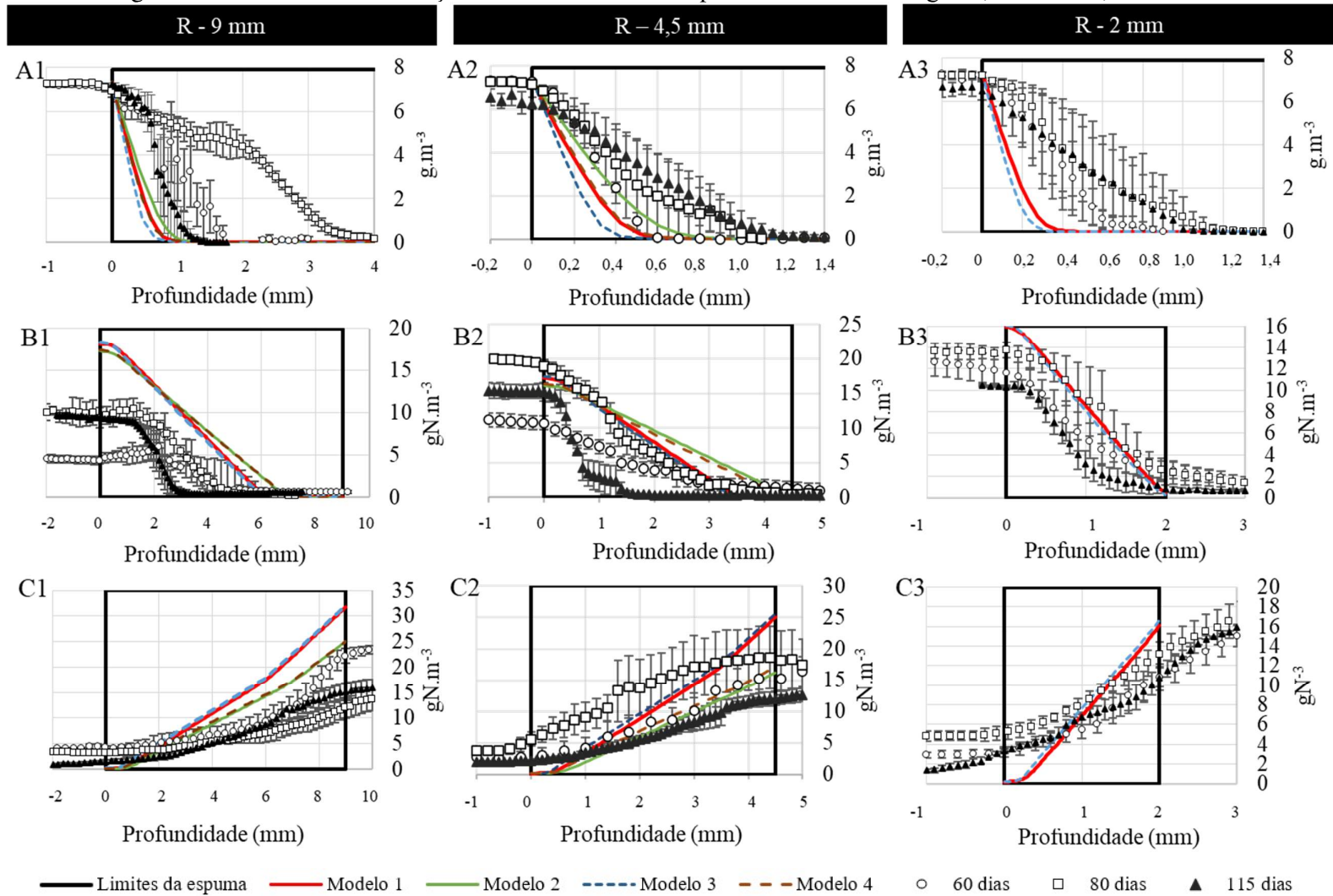
Figura 6.7 - Imagens de FISH. Região aerada 'A' do R 9 mm; Região anóxica 'B' do R9; Região aerada 'C' do R4.5; Região anóxica 'D' do R4.5. Região aerada 'E' do R2; Região anóxica 'F' do R2. AOB são mostrados em vermelho; NOB são mostrados em azul; DAPI são mostrados em verde.



6.4 PERFIS DE CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATOS E MODELO AQUASIM

Foram obtidos perfis de concentração de oxigênio, amônia, nitrato e nitrito, para diferentes posições da espuma de poliuretano, nos dias 60, 80 e 115 de operação, para verificar a reprodutibilidade dos resultados. Os valores apresentados na Figura 6.8 são as médias entre os perfis de cada dia. Não são apresentados os perfis de nitrito, pois as concentrações estiveram sempre abaixo do limite de detecção (0.1 mg.L^{-1}).

Figura 6.8 – Perfis de concentração medidos e calculados pelos modelos 'A' oxigênio, 'B' nitrato, C' amônia.



Na maioria dos casos, os perfis realizados, em diferentes dias, apresentaram comportamentos similares, atestando a reprodutibilidade dos resultados. Uma exceção foi o perfil de oxigênio do dia 80, no R9. Este perfil mostra uma situação em que há uma penetração muito maior do oxigênio em relação aos outros dias. Além disso, o perfil apresenta um pequeno trecho em que a concentração de oxigênio aumenta no interior do biofilme (aproximadamente a 1 mm de profundidade). Uma possível causa para este fenômeno é o aprisionamento de bolhas de ar no interior dos poros da espuma. Os demais perfis de oxigênio no R9 apresentam penetração entre 1,2 e 1,5 mm, ligeiramente superior às células R4.5 e R2, que ficaram entre 0,8 a 1,2 mm. Os modelos estimam uma maior penetração de oxigênio no R9 e isso pode estar relacionado a dois fatos. O primeiro é que menores concentrações de doadores de elétrons atingem a zona aeróbia devido à maior trajetória a ser percorrida. A menor concentração de matéria orgânica, por sua vez, diminui a velocidade de consumo do oxigênio, permitindo uma maior penetração. O segundo fato está relacionado ao EDF que, quanto maior, maior a penetração.

O perfil de nitrato no dia 115, na célula R4.5, também é outro caso em que houve diferença significativa com os demais perfis. Nesse caso, a penetração de nitrato foi menor que a dos demais reagentes e o declive foi mais acentuado. Isso indica maior atividade desnitrificante. Os perfis podem variar de acordo com variáveis intrínsecas da operação de qualquer reator. Portanto, é difícil determinar a razão específica para este comportamento. Porém, devido ao grande número de perfis realizados em tempos e localidades diferentes, é possível usá-los como base para a comparação com os modelos que visam prever as concentrações de reagentes e produtos no sistema.

Os modelos 3 e 4, representados pelas linhas tracejadas, são semelhantes aos respectivos modelos que não consideraram a variação da porosidade. A variação da porosidade no modelo não foi tão significativa quanto considerar o EDF. A adoção de um fator de efetividade pode ser uma simplificação razoável para se estimar a qualidade do efluente destes sistemas. Para as concentrações de amônia, o ajuste do modelo foi fundamental para que os valores medidos se aproximassem dos calculados. Vale ressaltar que o fator de efetividade foi medido apenas para a amônia, sendo que esses valores podem variar para cada substrato (Stewart, 1998). Vale ressaltar que métodos mais precisos para a determinação deste parâmetro podem ser elaborados e explorados.

A partir das análises desses perfis e da comparação com os modelos, conclui-se que a adoção do fator de difusividade efetiva pode ser uma simplificação suficiente para estimar o comportamento dos fluxos de substratos e, por fim, a qualidade do efluente.

6.5 SIMULAÇÕES DE PERFORMANCE: IMPACTO DA CARGA DE NITROGÊNIO E DA ÁREA DE BIOFILME

A Etapa 1 demonstrou que o fator de difusividade efetiva pode não ser constante em relação ao tempo de operação do reator, à medida em que o biofilme se desenvolve e os processos de transporte se modificam. Assim, a contribuição de advecção diminui até o ponto em que pode ser necessário o descarte do excesso de biomassa. Utilizando, então, os modelos 1 e 2 para o R4.5, foram avaliados 4 cenários (Tabela 6.1).

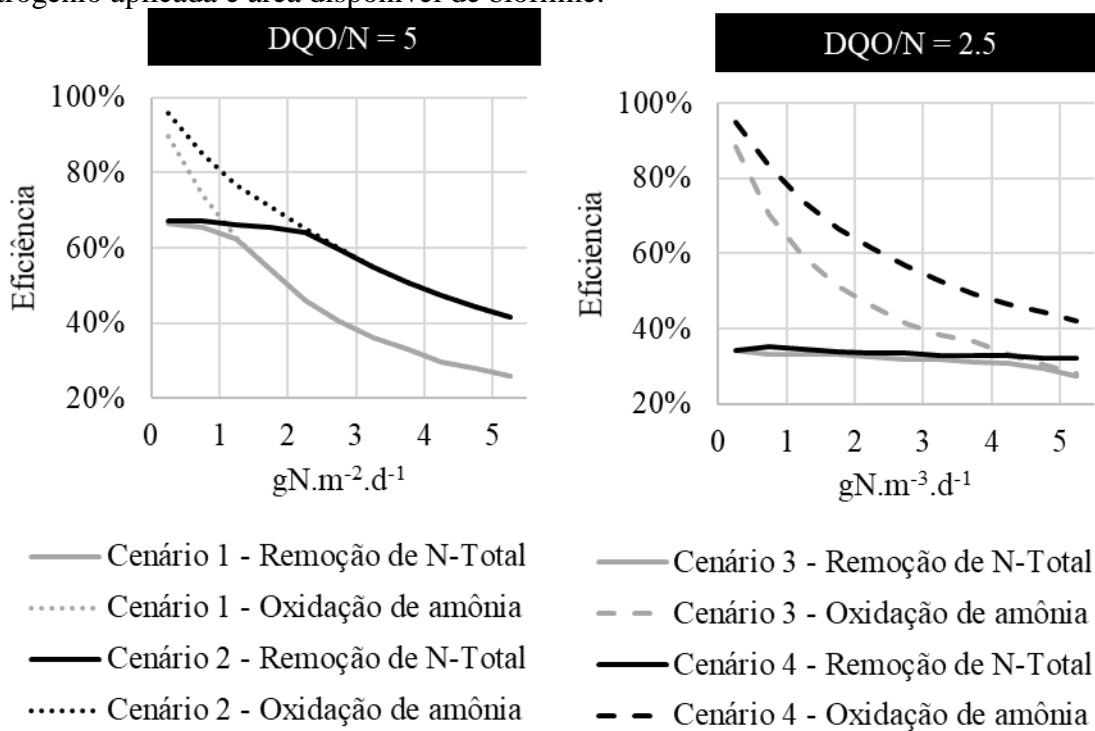
Tabela 6.1 – Parâmetros utilizados para modelo de avaliação

Volume compartimento anóxico	0.5	m ³
Volume compartimento aeróbio	0.5	m ³
Volume Total	1	m ³
Oxigênio dissolvido compartimento aerado	4	mg.L ⁻¹
Vazão	2	m ³ .d ⁻¹
TDH	0,5	d
Espessura da espuma	4,5	mm
Cenário 1		
NH ₄ ⁺ afluyente	40	mg.L ⁻¹
DQO afluyente	200	mg.L ⁻¹
EDF	1	-
Cenário 2		
NH ₄ ⁺ afluyente	40	mg.L ⁻¹
DQO afluyente	200	mg.L ⁻¹
EDF	2	-
Cenário 3		
NH ₄ ⁺ afluyente	40	mg.L ⁻¹
DQO afluyente	100	mg.L ⁻¹
EDF	1	-
Cenário 4		
NH ₄ ⁺ afluyente	40	mg.L ⁻¹
DQO afluyente	100	mg.L ⁻¹
EDF	2	-

Em cada cenário, foi determinada a relação entre a carga de nitrogênio afluyente e a área superficial de biofilme disponível com a eficiência do sistema (Figura 6.9). Estes cenários mostram que a remoção máxima de N-Total é cerca de 70%, e que a carga de nitrogênio

aplicada deve ser cerca de $1,25 \text{ gN.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Já para os cenários com água residuária com DQO/N igual a 2,5, a limitação ocorrerá pela baixa disponibilidade de doadores de elétrons para a desnitrificação, ficando em cerca de 35% para ambos os cenários. Como demonstrado na Etapa 1, o EDF pode variar durante a operação de um sistema FABR. Portanto, pode-se esperar que eficiência de sistema FABR esteja entre os cenários de EDF de valor 1 e 2, sendo necessário o descarte de biomassa quando os níveis de eficiência forem menores do que os destes cenários.

Figura 6.9 – Estimativa da remoção de N-total e oxidação da amônia em relação a carga de nitrogênio aplicada e área disponível de biofilme.



7 CONCLUSÕES

Avaliou-se o desempenho de FABR em escala de bancada, submetidos às relações DQO/N de 2,5 e 5,0 e com diferentes espessuras de lâminas de espuma de poliuretano. A contra-difusão foi essencial para garantir a desnitrificação no sistema, que foi próxima a 100% para todas as condições operacionais.

Esperava-se que maiores taxas de nitrificação pudessem ser obtidas com menores espessuras de lâminas de espuma, o que não ocorreu. Nos reatores em escala de bancada, a lâmina de espuma de 2 mm não permitiu o desenvolvimento de biofilme estável, capaz de realizar a NDS, como com as espumas com espessuras de 5 e 10 mm. Esses dois reatores apresentaram desempenho similar em todas as condições ensaiadas, atingindo cargas de remoção de nitrogênio, em relação à área de biofilme, entre 1.8 e 2.35 gN.m².d⁻¹ e eficiência máxima de remoção de N-total de 60%. Verificou-se que o desenvolvimento do biofilme, ao longo do tempo, teve impacto negativo na eficiência de remoção de nitrogênio, sendo que o descarte de biomassa se mostrou efetivo para a recuperação do desempenho do reator. A espessura de 5 mm de espuma mostrou-se a mais adequada dentre as testadas, por ter apresentado maior estabilidade.

O modelo matemático de simulação proposto mostrou que o parâmetro mais significativo para a estimativa da concentração de substratos no biofilme é o fator de difusividade efetiva (EDF).

Os experimentos realizados para determinar o valor de EDF indicaram a existência de transporte advectivo nas espumas de espessuras maiores que 2 mm.

Atribuiu-se a ocorrência de transporte de massa à alta porosidade e à quantidade de vazios do conjunto espuma e biofilme. O crescimento do biofilme ao longo do tempo preenche os espaços vazios da espuma e afeta negativamente a performance do reator, pois diminui o transporte advectivo. Por isso, a performance do reator é recuperada após o descarte de biomassa.

O modelo proposto pôde estimar o comportamento dos fluxos de substrato e a qualidade do efluente em FABR, quando considerado o EDF determinado. As simulações efetuadas mostraram que o FABR pode atingir remoção máxima de nitrogênio total de 70%, para carga de nitrogênio aplicada em relação ao biofilme de 1,25 gN.m⁻³.d⁻¹ e água residuária com relação DQO/N igual a 5.

A especialização da comunidade microbiana, em cada compartimento, foi mais relevante quanto maior a resistência à transferência de massa no biofilme. Houve

predominância do gênero *Aridibacter*, e da família *Phyllobacteriaceae* em ambos compartimentos dos sistemas. Estes microrganismos podem se desenvolver tanto em ambiente anóxico, quanto aeróbio. No compartimento externo, predominaram microrganismos envolvidos na hidrólise anaeróbia e fermentação de compostos orgânicos. No compartimento interno, houve predominância de microrganismos associados à remoção de nitrogênio em sistemas CANON e SNAD e de bactérias aeróbias que crescem em ambientes com baixas concentrações de matéria orgânica.

Arqueias metanogênicas proliferaram no compartimento externo quando o reator foi alimentado com água residuária com concentração de acetato de 500 mg.L^{-1} e relação DQO/N igual a 5, o que tornou improvável o desenvolvimento de bactérias anammox.

A partir destas conclusões foram pensadas sugestões para trabalhos futuros, apresentadas a seguir.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados e conclusões desta tese, sugere-se para trabalhos futuros:

- Avaliar a performance de FABR no tratamento de esgoto real pré-tratado anaerobiamente. O efluente real pode apresentar compostos resistentes a biodegradação e influenciar na velocidade de crescimento do biofilme.
- Aprimorar o desenho do FABR para que haja maior área superficial de biofilme por volume de reator e avaliar a previsibilidade do modelo proposto nesta tese.
- Verificar, a partir dos modelos, a faixa em que há acúmulo de nitrito ou nitrato no compartimento anóxico e avaliar a possibilidade de tratamento do biogás gerado em reatores anaeróbios.
- Comparar o desempenho do FABR com o de MABR composto por membranas de baixo custo, como, por exemplo, membranas de silicone.
- Estudos envolvendo modelagem e obtenção dos parâmetros de transferência de massa dos diversos substratos para o interior do biofilme formado em espuma de poliuretano tanto em co-difusão quanto em contra-difusão.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahn, Y.-H., 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochem.* 41, 1709–1721. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.033>
- Almeida, R.G.B. de, Santos, C.E.D. dos, Lüders, T.C., Del Nery, V., Leal, C.D., Pereira, A.D., Araújo, J.C., Davenport, R.J., Barana, A.C., Lopes, D.D., Damianovic, M.H.R.Z., 2018. Nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a structured-bed reactor treating animal feed processing wastewater: Inhibitory effects and bacterial community. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 133, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.019>
- Amann, R.I., Krumholz, L., Stahl, D.A., 1990. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *J. Bacteriol.* 172, 762–770. <https://doi.org/10.1128/jb.172.2.762-770.1990>
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation.
- Barana, A.C., Lopes, D.D., Martins, T.H., Pozzi, E., Damianovic, M.H.R.Z., Del Nery, V., Foresti, E., 2013. Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for post-treatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant. *J. Environ. Chem. Eng.* 1, 453–459. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.06.015>
- Bassin, J.P., Kleerebezem, R., Rosado, A.S., Van Loosdrecht, M.C.M., Dezotti, M., 2012. Effect of different operational conditions on biofilm development, nitrification, and nitrifying microbial population in moving-bed biofilm reactors. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1546–1555. <https://doi.org/10.1021/es203356z>
- Bates, R.G., Pinching, G.D., 1949. Acidic dissociation constant of ammonium ion at 0 to 50 C, and the base strength of ammonia. *J. Res. Natl. Bur. Stand. (1934)*. 42, 419–430. <https://doi.org/10.6028/jres.042.037>
- Bishop, P.L., 1997. Biofilm structure and kinetics. *Water Sci. Technol.* 36, 287–294. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00355-7](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00355-7)
- Boltz, J.P., Smets, B.F., Rittmann, B.E., Van Loosdrecht, M.C.M., Morgenroth, E., Daigger, G.T., 2017. From biofilm ecology to reactors: a focused review. *Water Sci. Technol.* 75, 1753–1760. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.061>
- Bonmatí, A., Flotats, X., 2003. Air stripping of ammonia from pig slurry: Characterisation and

- feasibility as a pre- or post-treatment to mesophilic anaerobic digestion. *Waste Manag.* 23, 261–272. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(02\)00144-7](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(02)00144-7)
- Campos, J.L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A., Méndez, R., 2008. Kinetics of denitrification using sulphur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. *Bioresour. Technol.* 99, 1293–1299. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.007>
- Canto, C.S.A., Rodrigues, J.A.D., Ratusznei, S.M., Zaiat, M., Foresti, E., 2008. Feasibility of nitrification/denitrification in a sequencing batch biofilm reactor with liquid circulation applied to post-treatment. *Bioresour. Technol.* 99, 644–654. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.040>
- Chen, C., Guo, W.S., Ngo, H.H., Chang, S.W., Nguyen, D.D., Zhang, J., Liang, S., Guo, J.B., Zhang, X.B., 2018. Effects of C/N ratio on the performance of a hybrid sponge-assisted aerobic moving bed-anaerobic granular membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 247, 340–346. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.062>
- Chen, X., Liu, Y., Peng, L., Yuan, Z., Ni, B.-J., 2016. Model-Based Feasibility Assessment of Membrane Biofilm Reactor to Achieve Simultaneous Ammonium, Dissolved Methane, and Sulfide Removal from Anaerobic Digestion Liquor. *Sci. Rep.* 6, 25114. <https://doi.org/10.1038/srep25114>
- Chen, Y., Wang, L., Ma, F., Yang, J., Qiu, S., 2014. Tracking composition of microbial communities for simultaneous nitrification and denitrification in polyurethane foam. *Water Sci. Technol.* 69, 1788. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.002>
- Chernicharo, C.A.L., 2006. Post-Treatment Options for the Anaerobic Treatment of Domestic Wastewater. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 5, 73–92. <https://doi.org/10.1007/s11157-005-5683-5>
- Chiu, Y.C., Lee, L.L., Chang, C.N., Chao, A.C., 2007. Control of carbon and ammonium ratio for simultaneous nitrification and denitrification in a sequencing batch bioreactor. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 59, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.08.001>
- Chu, L., Wang, J., 2011. Comparison of polyurethane foam and biodegradable polymer as carriers in moving bed biofilm reactor for treating wastewater with a low C/N ratio. *Chemosphere* 83, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.077>
- Claus, G., Kutzner, H.J., 1985. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22, 283–288. <https://doi.org/10.1007/BF00252031>

- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., James, G., 1994. Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.* 176, 2137–2142. <https://doi.org/10.1128/jb.176.8.2137-2142.1994>
- Cydzik-Kwiatkowska, A., 2015. Bacterial structure of aerobic granules is determined by aeration mode and nitrogen load in the reactor cycle. *Bioresour. Technol.* 181, 312–320. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.101>
- Deguchi, H., Kashiwaya, M., 1994. Study on nitrified liquor recycling process operations using polyurethane foam sponge cubes as a biomass support medium, in: *Water Science and Technology*. pp. 143–149. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0261>
- Dilallo, R., Albertson, O.E., 1961. Volatile acids by direct titration. *J. WATER Pollut. Control Fed.* 33, 356–365.
- Downing, L.S., Nerenberg, R., 2008. Effect of bulk liquid BOD concentration on activity and microbial community structure of a nitrifying, membrane-aerated biofilm. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81, 153–162. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1705-x>
- Edgar, R., 2016. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences. *bioRxiv* 074161. <https://doi.org/10.1101/074161>
- Edgar, R.C., 2018. Accuracy of taxonomy prediction for 16S rRNA and fungal ITS sequences. *PeerJ* 2018, 1–29. <https://doi.org/10.7717/peerj.4652>
- Edgar, R.C., 2013. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat. Methods* 10, 996–998. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>
- Edgar, R.C., Flyvbjerg, H., 2015. Error filtering, pair assembly and error correction for next-generation sequencing reads. *Bioinformatics* 31, 3476–3482. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv401>
- Feng, Q., Wang, Y., Wang, T., Zheng, H., Chu, L., Zhang, C., Chen, H., Kong, X., Xing, X.H., 2012. Effects of packing rates of cubic-shaped polyurethane foam carriers on the microbial community and the removal of organics and nitrogen in moving bed biofilm reactors. *Bioresour. Technol.* 117, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.076>
- Filho, J.L.R.P., Sader, L.T., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., Silva, E.L., 2010. Performance evaluation of packing materials in the removal of hydrogen sulphide in gas-phase biofilters: Polyurethane foam, sugarcane bagasse, and coconut fibre. *Chem. Eng. J.* 158, 441–450. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.01.014>
- Fu, Z., Yang, F., Zhou, F., Xue, Y., 2009. Control of COD/N ratio for nutrient removal in a modified membrane bioreactor (MBR) treating high strength wastewater. *Bioresour.*

- Technol. 100, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.006>
- Gomez-Alvarez, V., Schrantz, K.A., Pressman, J.G., Speitel, G.E., Wahman, D.G., 2013. Pyrosequencing analysis of bench-scale nitrifying biofilters removing trihalomethanes. *Environ. Eng. Sci.* 30, 582–588. <https://doi.org/10.1089/ees.2013.0043>
- Griffiths, R.I., Whiteley, a S., O'Donnell, a G., Bailey, M.J., 2000. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5488–5491.
- Guerrero, R.B.S., Zaiat, M., 2018. Wastewater post-treatment for simultaneous ammonium removal and elemental sulfur recovery using a novel horizontal mixed aerobic-anoxic fixed-bed reactor configuration. *J. Environ. Manage.* 215, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.074>
- Guo, W., Ngo, H.H., Dharmawan, F., Palmer, C.G., 2010. Roles of polyurethane foam in aerobic moving and fixed bed bioreactors. *Bioresour. Technol.* 101, 1435–1439. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.062>
- Hao, X., Heijnen, J.J., Van Loosdrecht, M.C.M., 2001. Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process. *Biotechnol. Bioeng.* 77, 266–277. <https://doi.org/10.1002/bit.10105>
- He, S., Xue, G., Wang, B., 2009. Factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND) and its kinetics model in membrane bioreactor. *J. Hazard. Mater.* 168, 704–710. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.099>
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M., 2000. Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IWA Publ. 121. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Henze, M., Van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A., Brdjanovic, D., 2008. Biological wastewater treatment: principles, modelling and design, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.
- Huber, K.J., Geppert, A.M., Groß, U., Luckner, M., Wanner, G., Cooper, P., Abakah, J., Janssen, I., Overmann, J., 2017. *Aridibacter nitratreducens* sp. Nov., a member of the family Blastocatellaceae, class Blastocatellia, isolated from an African soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67, 4487–4493. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002318>
- Huber, K.J., Wüst, P.K., Rohde, M., Overmann, J., Foesel, B.U., 2014. *Aridibacter famidurans* gen. nov., sp. nov. and *Aridibacter kavangonensis* sp. nov., two novel members of subdivision 4 of the Acidobacteria isolated from semiarid savannah soil. *Int. J. Syst. Evol.*

- Microbiol. 64, 1866–1875. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.060236-0>
- Hubert, C., Voordouw, G., Mayer, B., 2009. Elucidating microbial processes in nitrate- and sulfate-reducing systems using sulfur and oxygen isotope ratios: The example of oil reservoir souring control. *Geochim. Cosmochim. Acta* 73, 3864–3879. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2009.03.025>
- Jensen, H.S., Nielsen, A.H., Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J., 2009. Modeling of Hydrogen Sulfide Oxidation in Concrete Corrosion Products from Sewer Pipes. *Water Environ. Res.* 81, 365–373. <https://doi.org/10.2175/106143008x357110>
- Jetten, M.S.M., Wagner, M., Fuerst, J., Van Loosdrecht, M., Kuenen, G., Strous, M., 2001. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12, 283–288. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00211-1](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00211-1)
- Kartal, B., Van Niftrik, L., Rattray, J., Van De Vossenberg, J.L.C.M., Schmid, M.C., Sinnighe Damsté, J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2008. Candidatus "Brocadia fulgida": An autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63, 46–55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00408.x>
- Koch, G., Egli, K., Van Der Meer, J.R., Siegrist, H., 2000. Mathematical modeling of autotrophic denitrification in a nitrifying biofilm of a rotating biological contactor. *Water Sci. Technol.* 41, 191–198. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0444>
- Kondo, M., Hozo, S., Inamori, Y., 1992. Simultaneous removal of BOD and nitrogen with anoxic/oxic porous biomass support systems. *Water Sci. Technol.* 26, 2003–2006.
- Kumar, M., Lin, J.G., 2010. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal-Strategies and issues. *J. Hazard. Mater.* 178, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.077>
- Leal, C.D., Pereira, A.D., Nunes, F.T., Ferreira, L.O., Coelho, A.C.C., Bicalho, S.K., Mac Conell, E.F.A., Ribeiro, T.B., de Lemos Chernicharo, C.A., de Araújo, J.C., 2016. Anammox for nitrogen removal from anaerobically pre-treated municipal wastewater: Effect of COD/N ratios on process performance and bacterial community structure. *Bioresour. Technol.* 211, 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.107>
- Leick, S.A., De Oliveira, J.G.B., Tavares, K.A., Lopes, D.D., Barana, A.C., 2017. Effect of aeration and recirculation in the removal of nitrogen and chemical oxygen demand from sanitary sewage in a structured bed reactor. *Eng. Agric.* 37, 1236–1243. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-eng.agric.v37n6p1236-1243/2017>
- Levenspiel, O., 1999. *Chemical Reaction Engineering*. *Distribution* 38, 4140–4143.

- [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(64\)85017-X](https://doi.org/10.1016/0009-2509(64)85017-X)
- Lewandowski, Z., 2000. Notes on biofilm porosity. *Water Res.* 34, 2620–2624. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00186-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00186-X)
- Lewandowski, Z., Beyenal, H., 2013. *Fundamentals of Biofilm Research*, Fundamentals of Biofilm Research. <https://doi.org/10.1201/b16291>
- Li, B., Qiu, Y., Zhang, C., Chen, L., Shi, H., 2016. Understanding biofilm diffusion profiles and microbial activities to optimize integrated fixed-film activated sludge process. *Chem. Eng. J.* 302, 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.048>
- Lin, J., Zhang, P., Li, G., Yin, J., Li, J., Zhao, X., 2016. Effect of COD/N ratio on nitrogen removal in a membrane-aerated biofilm reactor. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 113, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.01.009>
- Lin, J., Zhang, P., Yin, J., Zhao, X., Li, J., 2015. Nitrogen removal performances of a polyvinylidene fluoride membrane-aerated biofilm reactor. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 102, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.013>
- Liu, Y., Shi, Hanchang, Xia, L., Shi, Huiming, Shen, T., Wang, Z., Wang, G., Wang, Y., 2010. Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 101, 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.015>
- Lochmatter, S., Gonzalez-Gil, G., Holliger, C., 2013. Optimized aeration strategies for nitrogen and phosphorus removal with aerobic granular sludge. *Water Res.* 47, 6187–6197. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.07.030>
- Lotti, T., van der Star, W.R.L., Kleerebezem, R., Lubello, C., van Loosdrecht, M.C.M., 2012. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. *Water Res.* 46, 2559–2569. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.02.011>
- Martin, K.J., Nerenberg, R., 2012. The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments. *Bioresour. Technol.* 122, 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.110>
- Matsumoto, S., Terada, A., Tsuneda, S., 2007. Modeling of membrane-aerated biofilm: Effects of C/N ratio, biofilm thickness and surface loading of oxygen on feasibility of simultaneous nitrification and denitrification. *Biochem. Eng. J.* 37, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.03.013>
- Maurer, M., Fux, C., Lange, D., Siegrist, H., 1999. Modelling denitrification in a moving bed of porous carriers from a low-loaded wastewater treatment plant. *Wat. Sci. Tech* 39, 251–259.

- Metcalf, E., Eddy, H., Tchobanoglous, G., 2003. Wastewater engineering: treatment and reuse, Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse. Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD (eds). Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, 4th edition. New Delhi, India. [https://doi.org/10.1016/0309-1708\(80\)90067-6](https://doi.org/10.1016/0309-1708(80)90067-6)
- Mi, W., Zhao, J., Ding, X., Ge, G., Zhao, R., 2017. Treatment performance, nitrous oxide production and microbial community under low-ammonium wastewater in a CANON process. *Water Sci. Technol.* 76, 3468–3477. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.517>
- Mobarry, B.K., Wagner, M., Urbain, V., Rittmann, B.E., Stahl, D.A., 1996. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2156–2162.
- Moraes, B.S., Orrú, J.G.T., Foresti, E., 2013. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. *J. Biotechnol.* 164, 378–85. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.06.032>
- Moura, R.B., 2014. Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de esgoto sanitário em reator de leito estruturado submetido à aeração intermitente e recirculação do efluente . Tese (Doutorado). Univ. São Paulo.
- Moura, R.B., Damasceno, L.H.S., Damianovic, M.H.R.Z., Zaiat, M., Foresti, E., 2016. Hydrodynamic characteristics of a structured bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). *Brazilian J. Chem. Eng.*
- Moura, R.B., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., 2012. Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration. *J. Environ. Manage.* 98, 163–7. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.01.009>
- Moura, R.B., Santos, C.E.D., Okada, D.Y., Martins, T.H., Ferraz Júnior, A.D.N., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., 2018. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operating conditions and metabolic perspectives. *J. Environ. Manage.* 224, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.014>
- Mulder, A., van de Graaf, A.A., Robertson, L.A., Kuenen, J.G., 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 177–183. [https://doi.org/10.1016/0168-6496\(94\)00081-7](https://doi.org/10.1016/0168-6496(94)00081-7)
- Münch, E. V., Lant, P., Keller, J., 1996. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. *Water Res.* 30, 277–284. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(95\)00174-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(95)00174-3)
- Nardi, I.R., Zaiat, M., Foresti, E., 1999. Influence of the tracer characteristics on

- hydrodynamic models of packed-bed bioreactors. *Bioprocess Engineering* 21, 469–476.
- Nerenberg, R., 2016. The membrane-biofilm reactor (MBfR) as a counter-diffusional biofilm process. *Curr. Opin. Biotechnol.* 38, 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.01.015>
- Nsenga Kumwimba, M., Lotti, T., Şenel, E., Li, X., Suanon, F., 2020. Anammox-based processes: How far have we come and what work remains? A review by bibliometric analysis. *Chemosphere* 238. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124627>
- Oren, A., 2014. The Family Methanotrichaceae, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 297–306. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38954-2_277
- Oren, A., Xu, X.-W., 2014. The Family Hyphomicrobiaceae, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 247–281. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_257
- Pantoja Filho, J.L.R., Damianovic, M.H.R.Z., Fonseca, D.F., Foresti, E., 2015. Nitrogen and residual organic matter removal from anaerobic reactor effluent in a fixed-bed reactor with biogas for denitrification. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 90, 2227–2233. <https://doi.org/10.1002/jctb.4537>
- Pantoja, J.L.R.F., 2011. Remoção de Matéria Orgânica Carbonácea e Nitrogênio em Reator Aeróbio-Anóxico de Leito Fixo (RAALF) Aplicado ao Pós- Tratamento de Efluente de Reator Anaeróbio. Tese (Doutorado). Univ. São Paulo.
- Park, S., Bae, W., Rittmann, B.E., 2010. Operational boundaries for nitrite accumulation in nitrification based on minimum/maximum substrate concentrations that include effects of oxygen limitation, pH, and free ammonia and free nitrous acid inhibition. *Environ. Sci. Technol.* 44, 335–342. <https://doi.org/10.1021/es9024244>
- Picioreanu, C., Kreft, J.U., Van Loosdrecht, M.C.M., 2004. Particle-based multidimensional multispecies biofilm model. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3024–3040. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.3024-3040.2004>
- Pliego-Arreaga, R., Regalado, C., Amaro-Reyes, A., García-Almendárez, B.E., 2013. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. *Rev. Mex. Ing. Química* 12, 505–511.
- Pokorna, D., Zabranska, J., 2015. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnol. Adv.* 33, 1246–1259. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.007>
- Quan, X., Huang, K., Li, M., Lan, M., Li, B., 2018. Nitrogen removal performance of municipal

reverse osmosis concentrate with low C/N ratio by membrane-aerated biofilm reactor. *Front. Environ. Sci. Eng.* 12. <https://doi.org/10.1007/s11783-018-1047-6>

Qureshi, N., Annous, B.A., Ezeji, T.C., Karcher, P., Maddox, I.S., 2005. Biofilm reactors for industrial bioconversion process: Employing potential of enhanced reaction rates. *Microb. Cell Fact.* 4, 1–21. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-4-24>

Reichert, P., 1994. AQUASIM – A TOOL FOR SIMULATION AND DATA ANALYSIS OF AQUATIC SYSTEMS. *Water Sci. Technol.* 30, 21–30. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0025>

Ripley, L.E., Boyle, W.C., Converse, J.C., 1986. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Water* 58, 406–411.

Rittmann, B.E., Langeland, W.E., 1985. Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches. *J. Water Pollut. Control Fed.* 57, 300–308.

Santos, C.E.D., 2014. Influence of the carbon/nitrogen ratio and the carbon source in the simultaneous denitrification nitrification process in a structured bed reactor. São Carlos School of Engineering, University of São Paulo São Carlos, Brazil (in Portuguese).

Santos, C.E.D., Moura, R.B., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., 2016. In fluence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). *J. Environ. Manage.* 166, 519–524. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.10.054>

Schramm, A., De Beer, D., Wagner, M., Amann, R., 1998. Identification and activities in situ of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3480–3485.

Semmens, M.J., Dahm, K., Shanahan, J., Christianson, A., 2003. COD and nitrogen removal by biofilms growing on gas permeable membranes. *Water Res.* 37, 4343–4350. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00416-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00416-0)

Shao, Y., Shi, Y., Mohammed, A., Liu, Y., 2017. Wastewater ammonia removal using an integrated fixed-film activated sludge-sequencing batch biofilm reactor (IFAS-SBR): Comparison of suspended flocs and attached biofilm. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 116, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.026>

Silva, B.G., 2016. Effects of aeration time in structured-bed reactor under intermittent aeration used to remove organic matter and nitrogen of a UASB reactor effluent. São Carlos School of Engineering, University of São Paulo São Carlos, Brazil (in Portuguese).

Silva, B.G., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., 2018. Effects of intermittent aeration periods

- on a structured-bed reactor continuously fed on the post-treatment of sewage anaerobic effluent. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 20, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-1940-1>
- Souza, T.S.O., Foresti, E., 2013. Sulfide-oxidizing autotrophic denitrification: an evaluation for nitrogen removal from anaerobically pretreated domestic sewage. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 170, 1094–103. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0261-8>
- Stewart, P.S., 1998. A review of experimental measurements of effective diffusive permeabilities and effective diffusion coefficients in biofilms. *Biotechnol. Bioeng.* 59, 261–272. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980805\)59:3<261::AID-BIT1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980805)59:3<261::AID-BIT1>3.0.CO;2-9)
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002. Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 187–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Appl. Microbiol. biotechnol* 50, 589–596. <https://doi.org/10.1007/s002530051340>
- Strous, M., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 1999. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 0–3. <https://doi.org/papers2://publication/uuid/E9A1573A-6D62-420E-94D0-CA7C84D0FEB9>
- Villaverde, S., García-Encina, P.A., Fdz-Polanco, F., 1997. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. *Water Res.* 31, 1180–1186. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00376-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00376-4)
- Von Sperling, M., 2007. Volume 5. Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors, Biological wastewater treatment in warm climate regions.
- Wagner, M., Rath, G., Koops, H.P., Flood, J., Amann, R., 1996. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Water Sci. Technol.* 34, 237–244. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00514-8](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00514-8)
- Wang, A., Liu, C., Ren, N., Han, H., Lee, D., 2010. Simultaneous removal of sulfide, nitrate and acetate: Kinetic modeling. *J. Hazard. Mater.* 178, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.039>
- Wang, Y., Bott, C., Nerenberg, R., 2016. Sulfur-based denitrification: Effect of biofilm development on denitrification fluxes. *Water Res.* 100, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.020>

- Wanner, O., Morgenroth, E., 2004. Biofilm modeling with AQUASIM. *Water Sci. Technol.* 49, 137–144. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0824>
- Wiesmann, U., 1994. Biological nitrogen removal from wastewater. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 51, 113–154.
- Willems, A., 2014. The Family Phyllobacteriaceae, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 355–418. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_298
- Wu, L., Shen, M., Li, J., Huang, S., Li, Z., Yan, Z., Peng, Y., 2019. Cooperation between partial-nitrification, complete ammonia oxidation (comammox), and anaerobic ammonia oxidation (anammox) in sludge digestion liquid for nitrogen removal. *Environ. Pollut.* 254, 112965. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.112965>
- Xin, X., Liu, Q., Werner, D., Lu, H., Qin, J., 2020. Start-up strategy and bacterial community analysis of SNAD process for treating anaerobic digester liquor of swine wastewater (ADLSW) in a continuous-flow biofilm reactor. *Water Environ. J.* 1–11. <https://doi.org/10.1111/wej.12568>
- Xing, X.H., Jun, B.H., Yanagida, M., Tanji, Y., Unno, H., 2000. Effect of C/N values on microbial simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous substances in wastewater by single continuous-flow fluidized-bed bioreactor containing porous carrier particles. *Biochem. Eng. J.* 5, 29–37. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(99\)00056-X](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(99)00056-X)
- Xu, X., Chen, C., Wang, A., Guo, W., Zhou, X., Lee, D., Ren, N., Chang, J., 2014. Simultaneous removal of sulfide, nitrate and acetate under denitrifying sulfide removal condition: Modeling and experimental validation. *J. Hazard. Mater.* 264, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.10.056>
- Yang, W., Lu, H., Khanal, S.K., Zhao, Q., Meng, L., Chen, G.H., 2016. Granulation of sulfur-oxidizing bacteria for autotrophic denitrification. *Water Res.* 104, 507–519. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.049>
- Zeng, M., Hu, J., Wang, D., Wang, H., Wang, Y., Wu, N., Zhang, Z., Wang, C., 2018. Improving a compact biofilm reactor to realize efficient nitrogen removal performance: step-feed, intermittent aeration, and immobilization technique. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 6240–6250.
- Zhang, L., 2012. Molecular diversity of bacterial community of dye wastewater in an anaerobic sequencing batch reactor. *African J. Microbiol. Res.* 6.

<https://doi.org/10.5897/AJMR12.718>

Zhang, Z., Liu, S., 2014. Insight into the overconsumption of ammonium by anammox consortia under anaerobic conditions. *J. Appl. Microbiol.* 117, 1830–1838.

<https://doi.org/10.1111/jam.12649>

Zhao, Y., Liu, Shufeng, Jiang, B., Feng, Y., Zhu, T., Tao, H., Tang, X., Liu, Sitong, 2018. Genome-Centered Metagenomics Analysis Reveals the Symbiotic Organisms Possessing Ability to Cross-Feed with Anammox Bacteria in Anammox Consortia, *Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02599>

APÊNDICE A

Figura A 1 – Imagens OCT utilizadas para a estimativa da porosidade para o R2

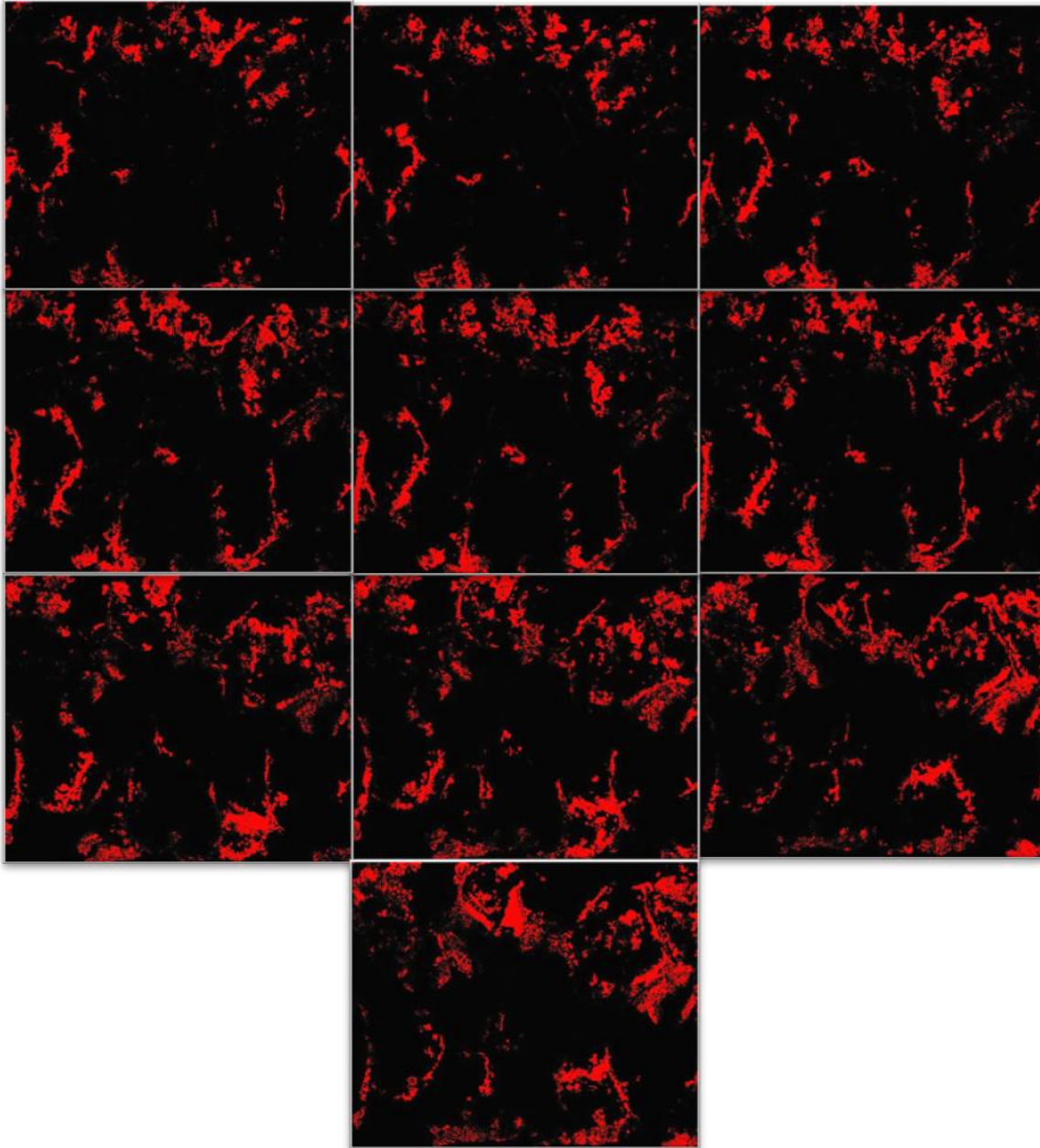
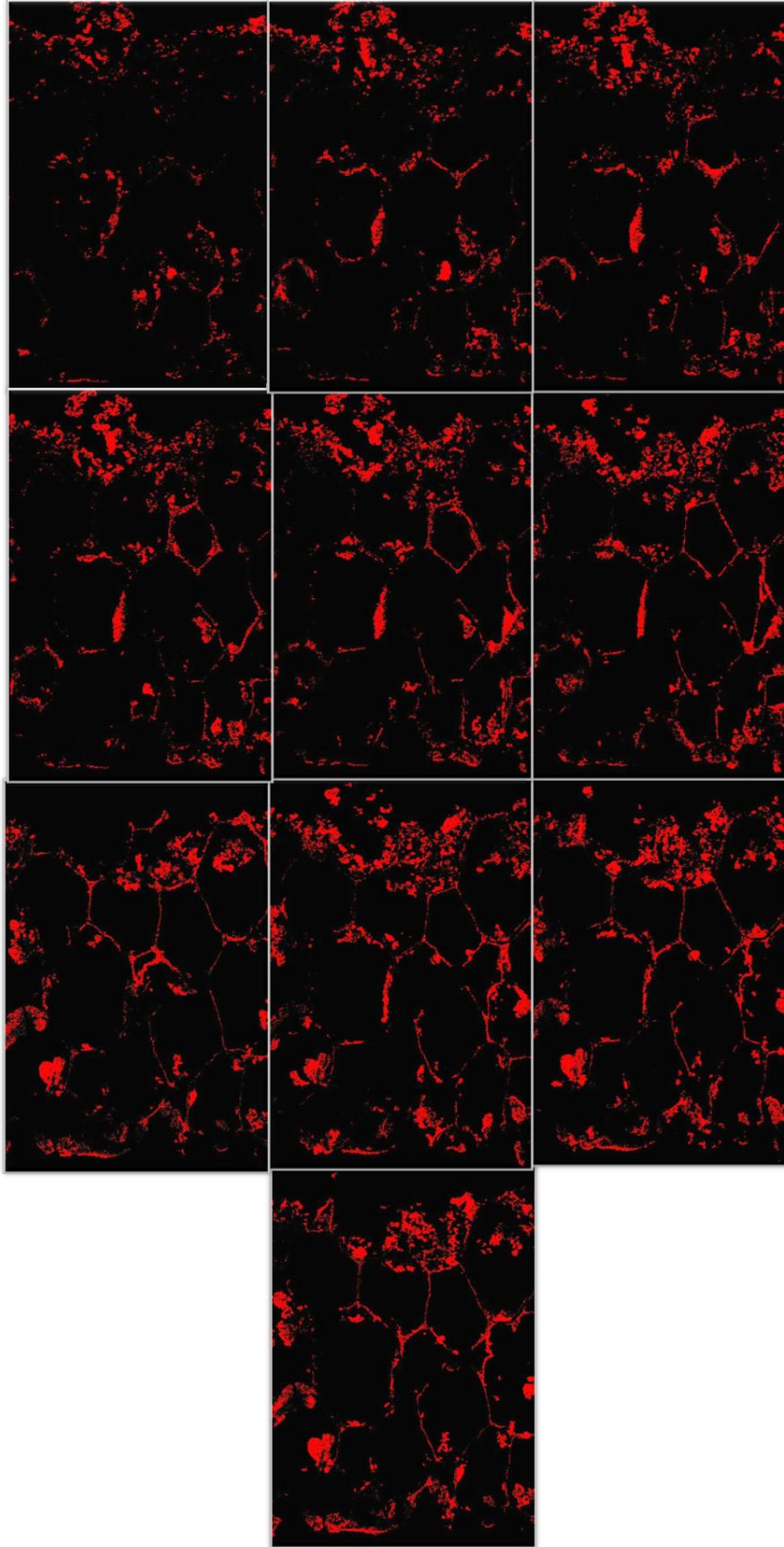


Figura A 2 - Imagens OCT utilizadas para a estimativa da porosidade para o R4.5m



APÊNDICE B

Figura B 1 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the ammonia effluent concentration

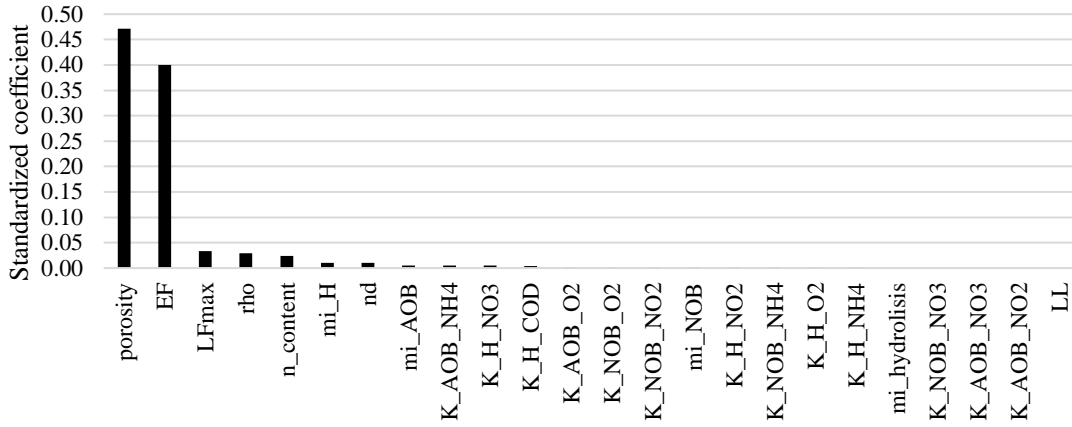


Figura B 2 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the oxygen biofilm concentration

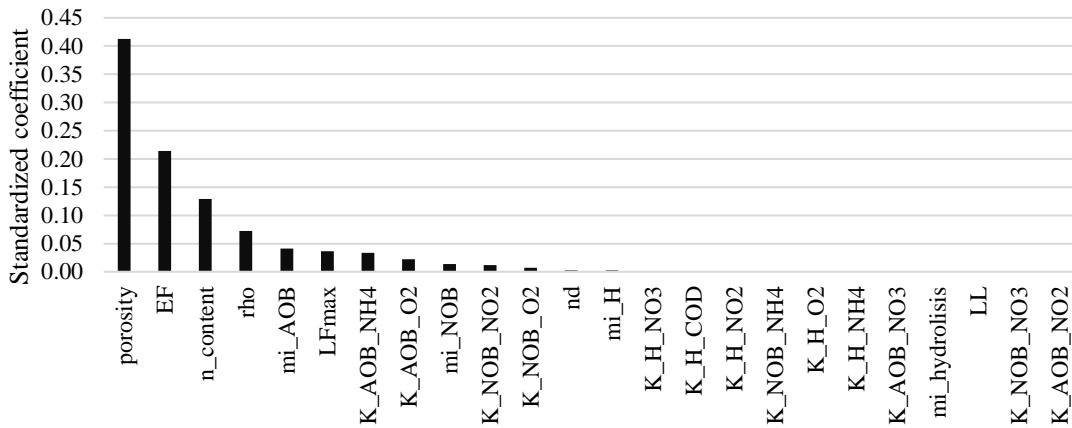


Figura B 3 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the ammonia biofilm concentration

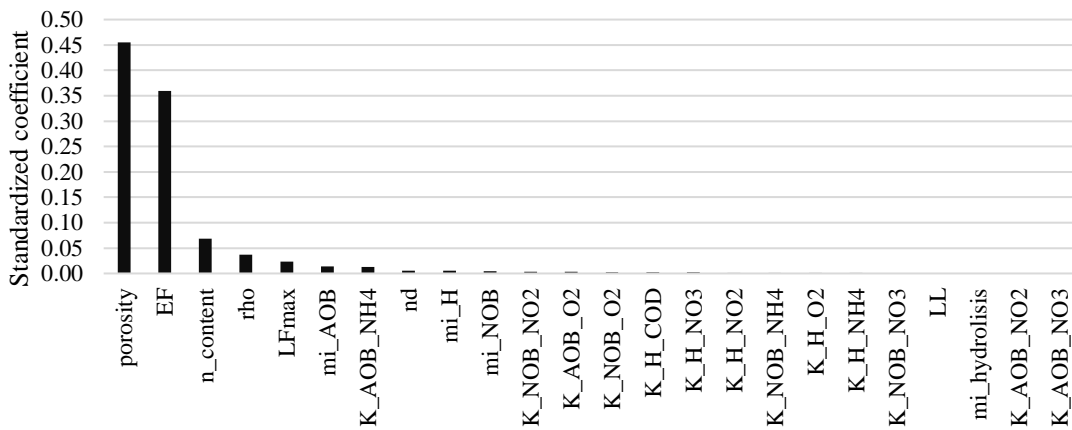
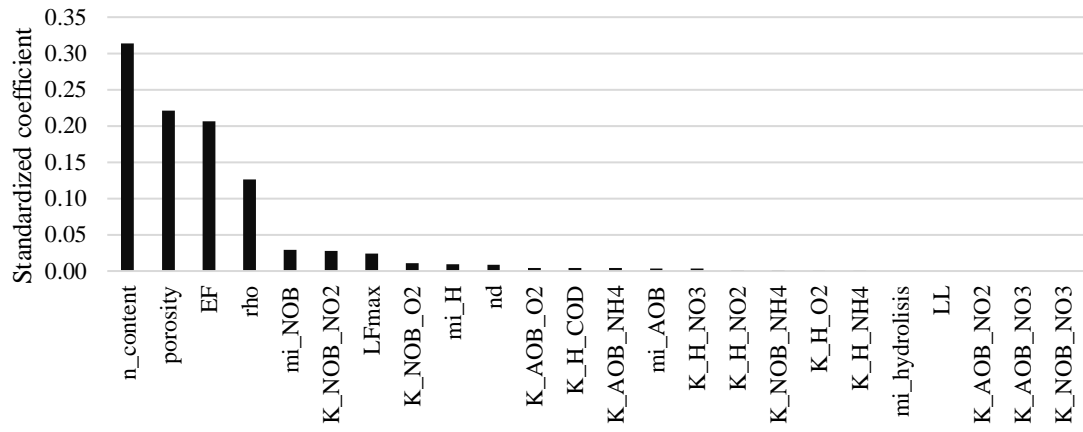


Figura B 4 - Relative Sensitivity of Model Parameters on the nitrate biofilm concentration



APÊNDICE C

Figura C 1 - R9, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.

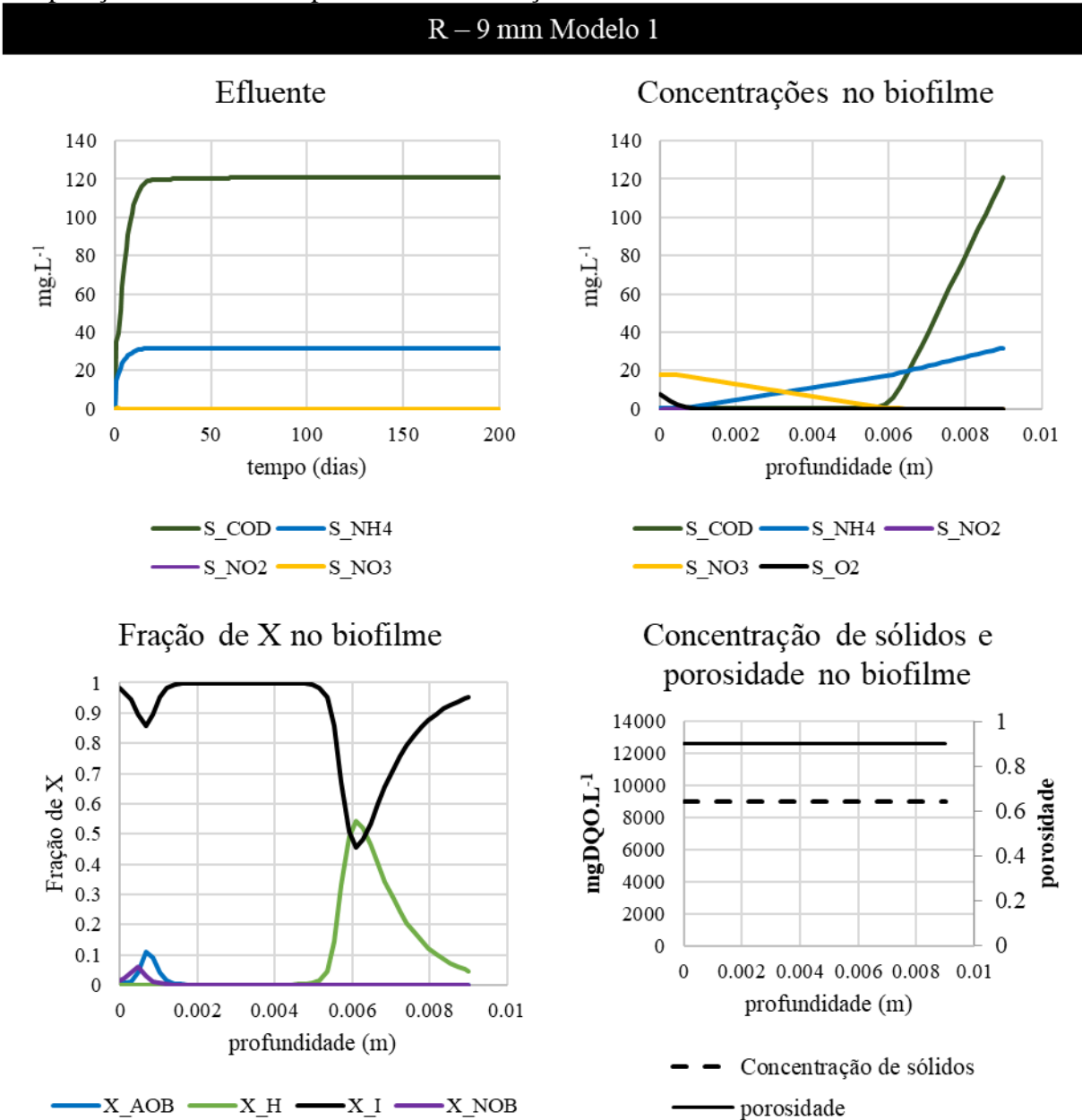


Figura C 2 - R9, modelo 2, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa.

R – 9 mm Modelo 2

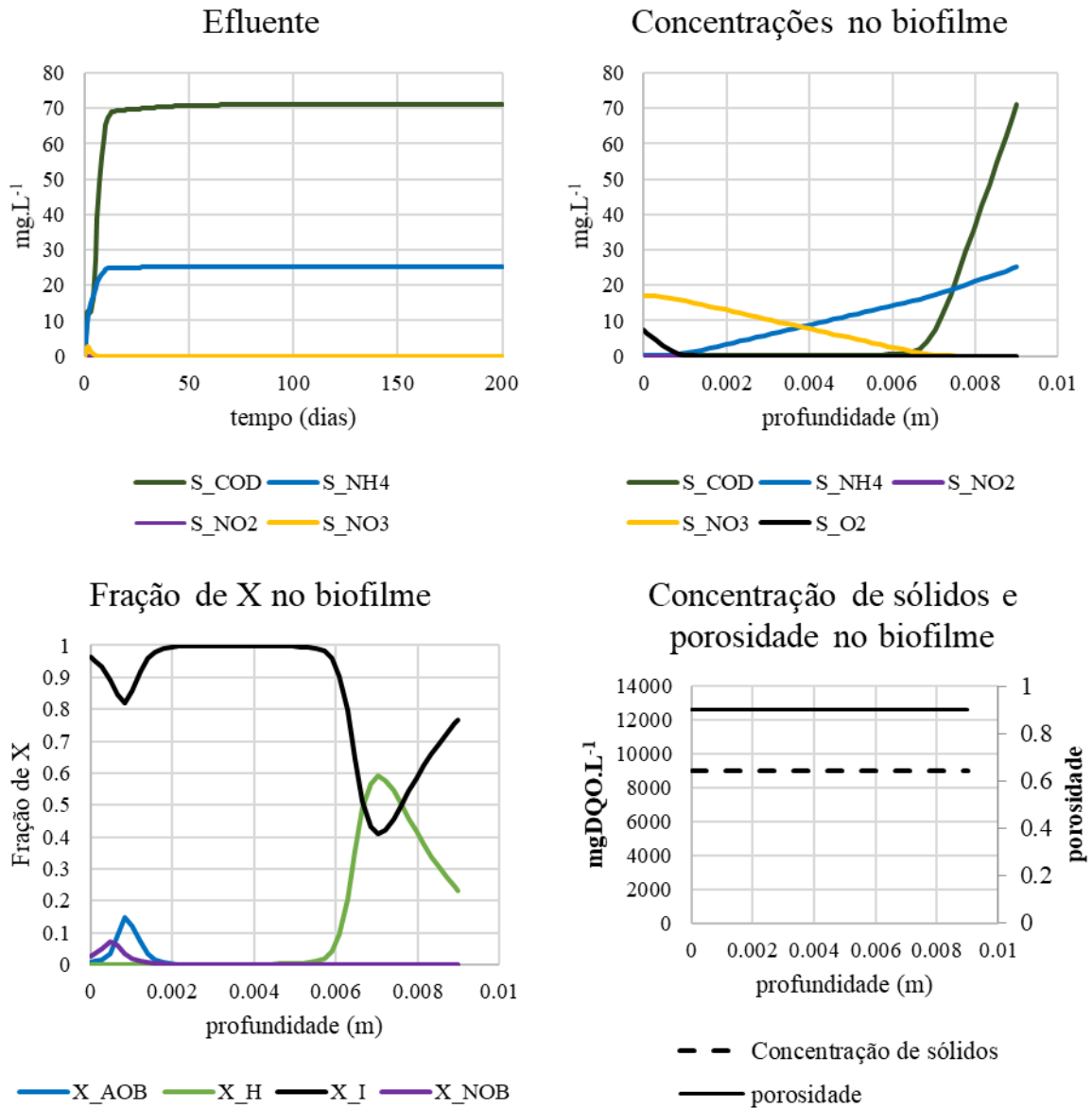


Figura C 3- R9, modelo 3, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 9 mm Modelo 3

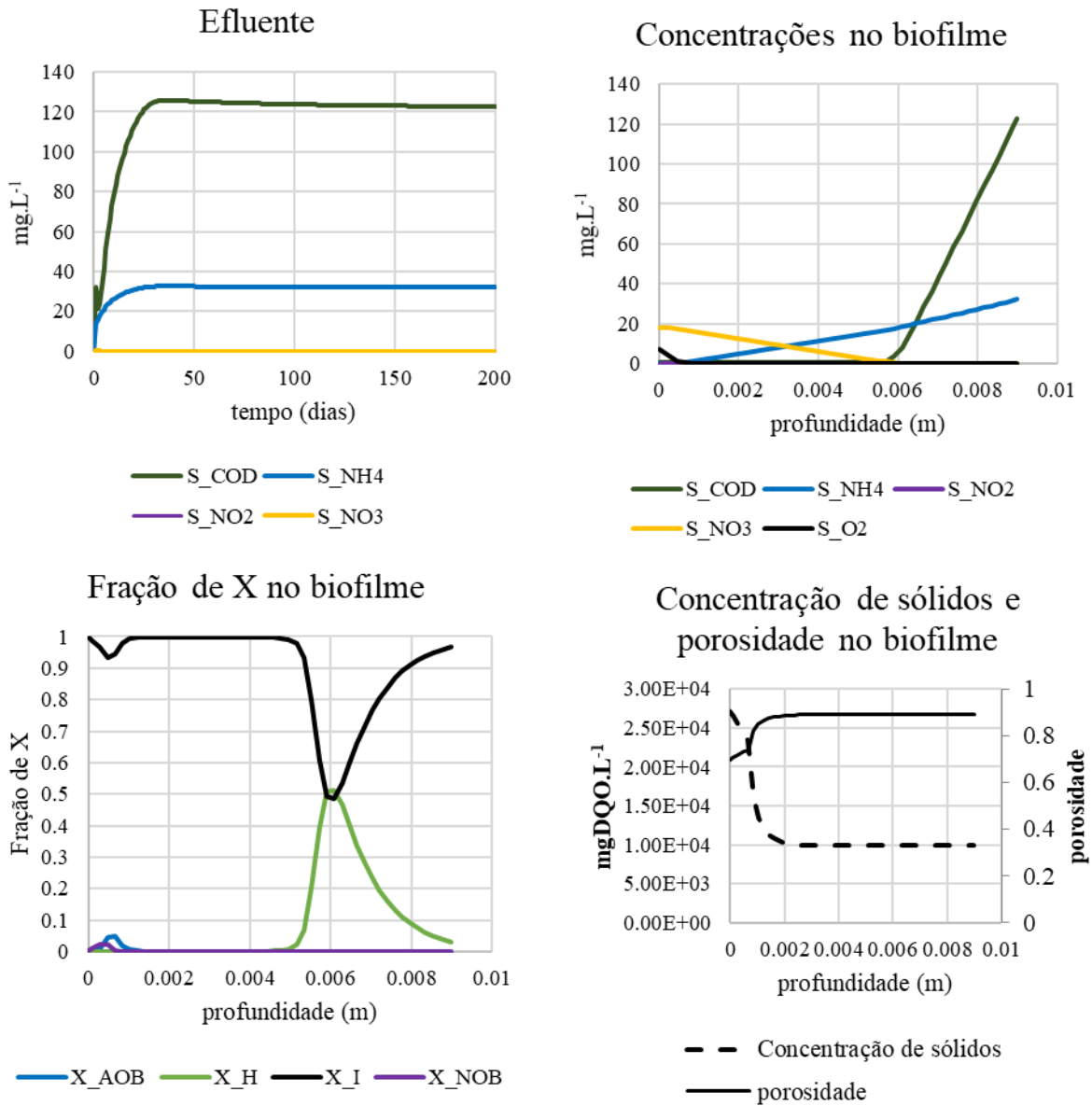


Figura C 4 - R9, modelo 4, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 9 mm Modelo 4

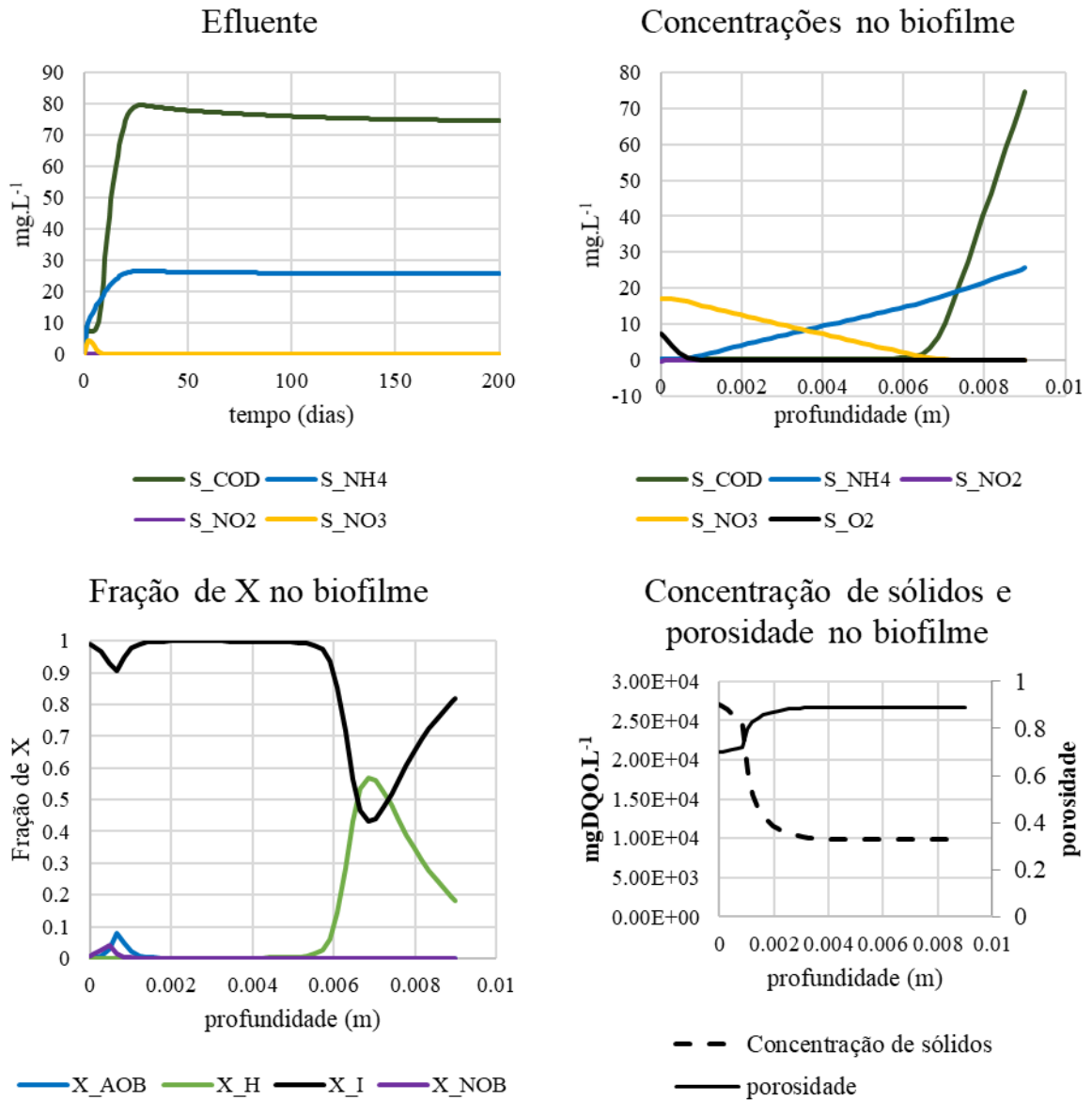


Figura C 5- R4.5 mm, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 4,5 mm Modelo 1

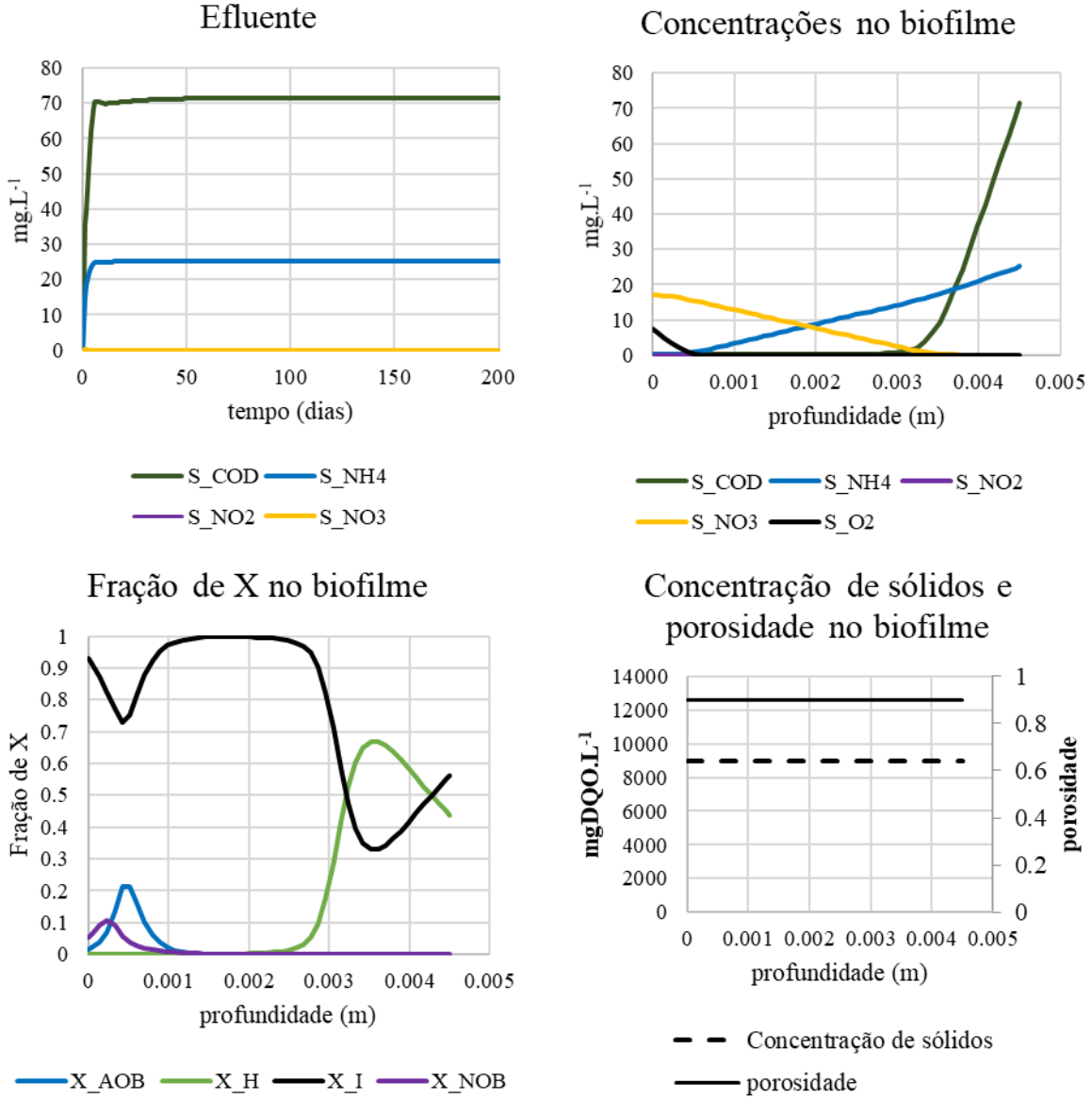


Figura C 6 - R4.5 mm, modelo 2, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 4,5 mm Modelo 2

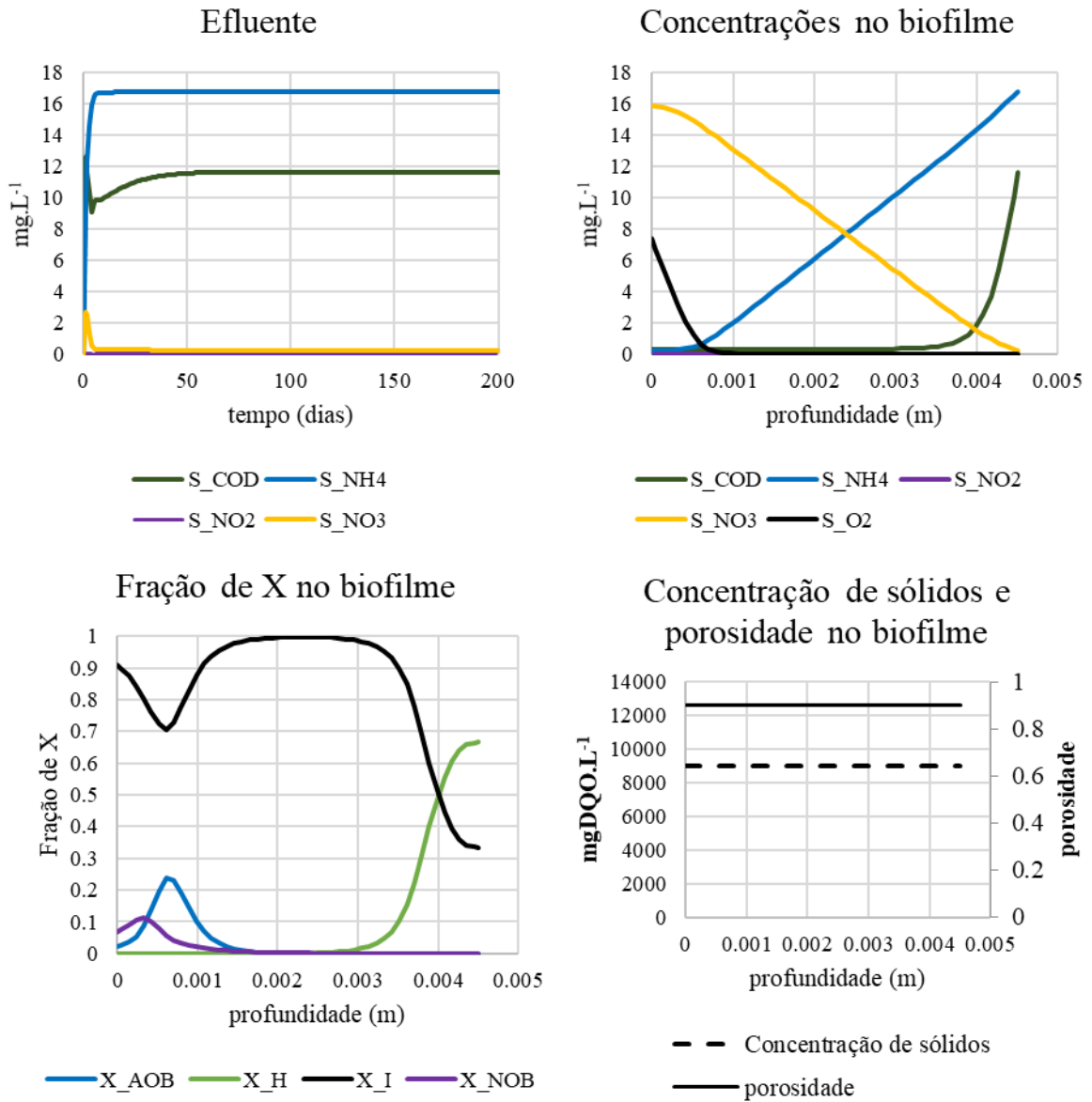


Figura C 7- R4.5 mm, modelo31, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 4,5 mm Modelo 3

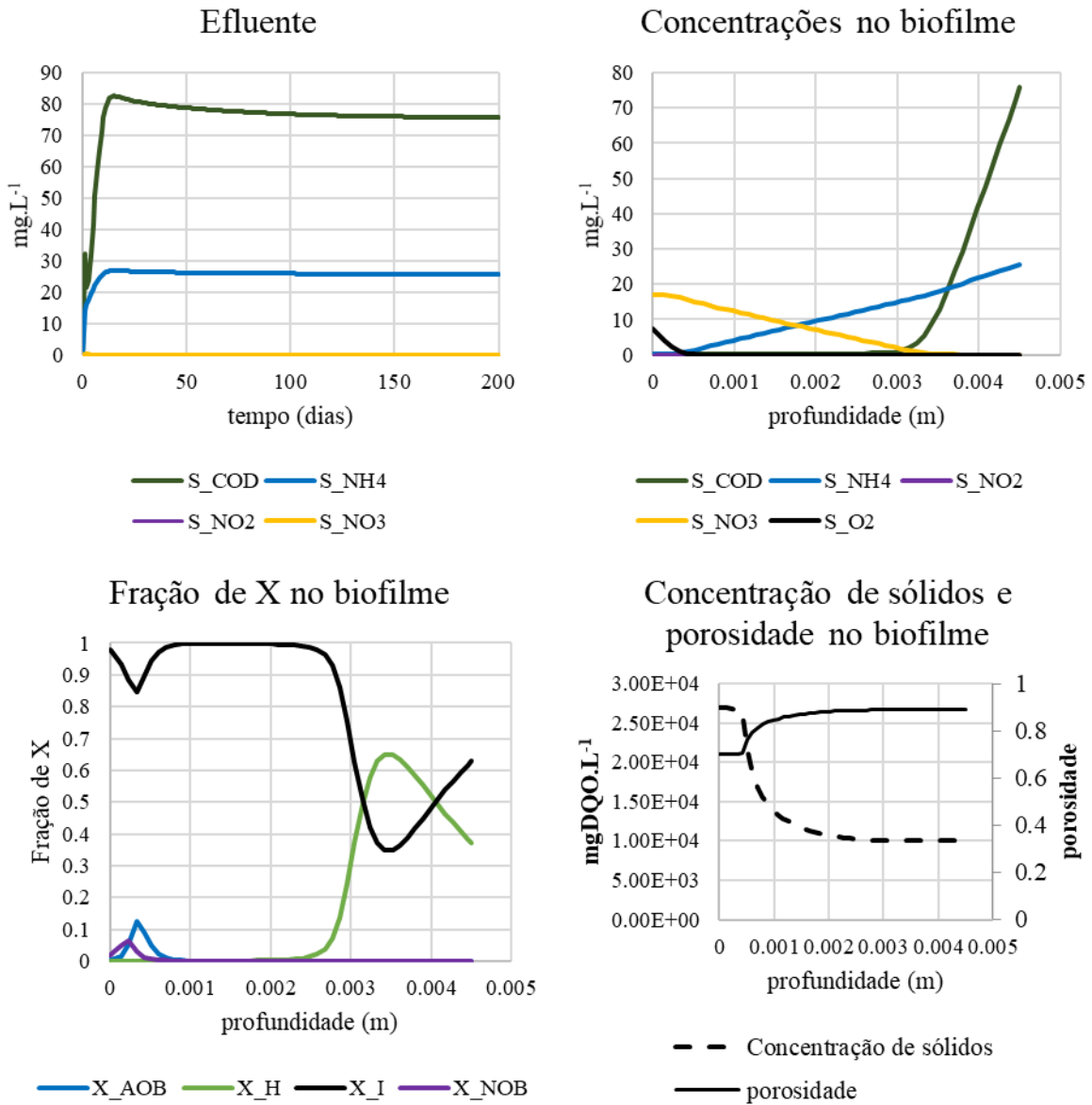


Figura C 8- R4.5 mm, modelo 4, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 4,5 mm Modelo 4

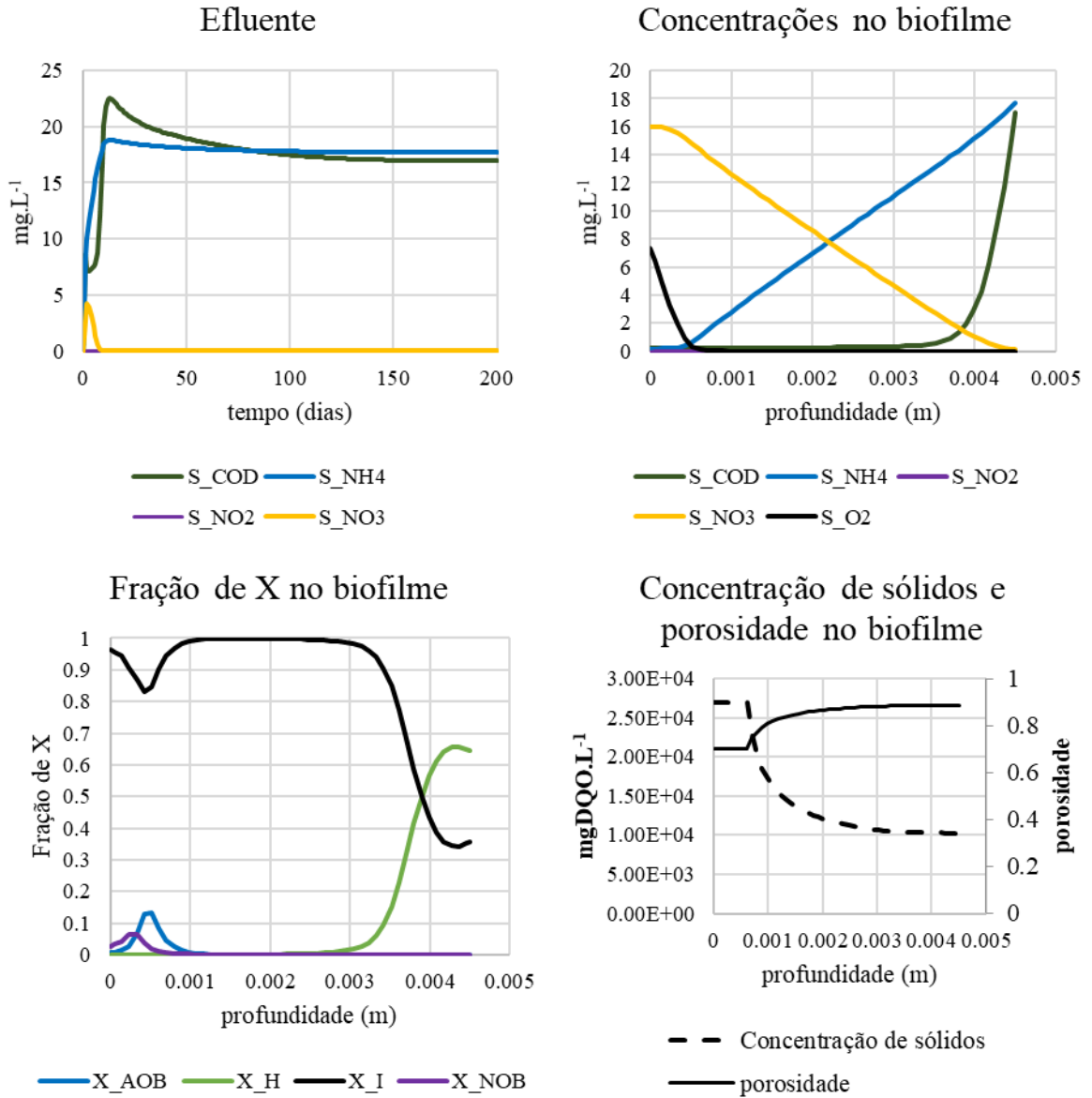


Figura C 9- R2, modelo 1, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 2 mm Modelo 1

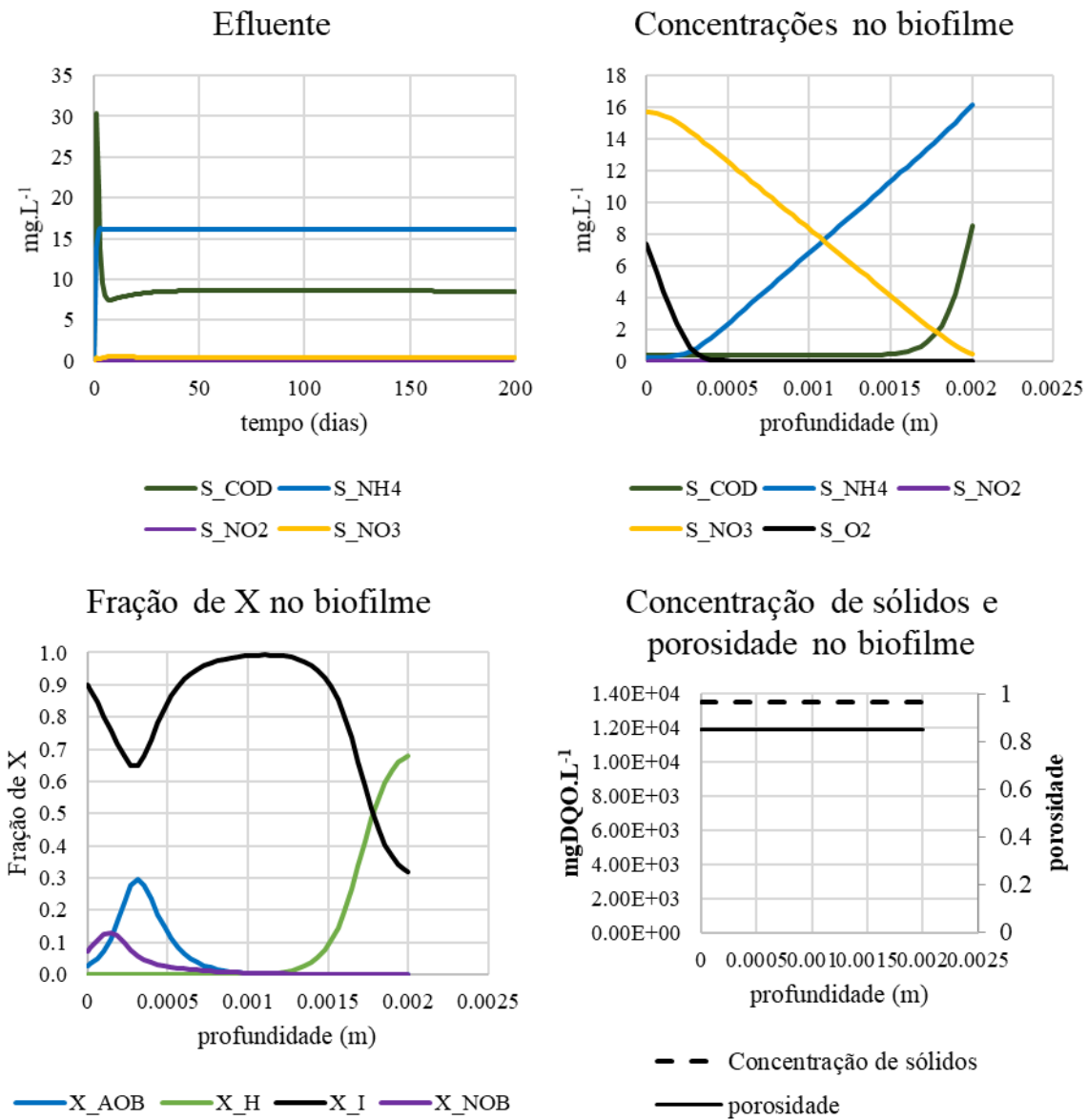


Figura C 10 - R2, modelo 3, concentrações no efluente, perfis de concentração, perfis de composição da biomassa e perfis de concentração de biomassa

R – 2 mm Modelo 3

