

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL
ÁREA DE TECNOLOGIA AMBIENTAL E RECURSOS HÍDRICOS

GABRIELA VALONES RODRIGUES DE ARAÚJO

**Remoção de carbono e nitrogênio de efluente sintético através de reatores em série
anaeróbio, aeróbio e anóxico**

Recife - PE

2015

GABRIELA VALONES RODRIGUES DE ARAÚJO

**Remoção de carbono e nitrogênio de efluente sintético através de reatores em série
anaeróbio, aeróbio e anóxico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia ambiental e Recursos Hídricos.

Orientador: Prof. Dr. Mario Takayuki Kato

Recife - PE

2015

Catálogo na fonte
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

A663r Araújo, Gabriela Valones Rodrigues de.
Remoção de carbono e nitrogênio de efluente sintético através de reatores em
série anaeróbio, aeróbio e anóxico / Gabriela Valones Rodrigues de Araújo. - Recife:
O Autor, 2015.
118 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Mario Takayuki Kato.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2015.

Inclui Referências.

1. Engenharia Civil. 2. Nitrificação. 4. Desnitrificação. 5. Oxigênio
dissolvido. 6. Tempo de detenção hidráulica. 7. Anaeróbio. 8. Aeróbio. 8. Anóxico.
I. Kato, Mario Takayuki. (Orientador). II. Título.

UFPE

624 CDD (22. ed.)

BCTG/2016-18



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

A comissão examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado

**REMOÇÃO DE CARBONO E NITROGÊNIO DE EFLUENTE SINTÉTICO
ATRAVÉS DE REATORES EM SÉRIE ANAERÓBIO, AERÓBIO E ANÓXICO**

defendida por

Gabriela Valones Rodrigues de Araújo

Considera a candidata APROVADA

Recife, 28 de agosto de 2015

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mário Takayuki Kato - UFPE
(orientador)

Prof. Dr. Luciano Matos Queiroz – UFBA
(examinador externo)

Prof.^a Dr.^a Sália Gavazza dos Santos Pessôa - UFPE
(examinadora interna)

A Deus, minha família e amigos

Minha vida, meu tudo.

Meu tripé de sustentação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, amigo, amor, presença fiel e cuidado sem fim na minha vida desde sempre.

Aos meus pais, Jacqueline e Nilton, meus primeiros mestres, por todo amor, carinho e dedicação para formar o ser humano que hoje sou. Sou muito grata e abençoada por ser filha de vocês!

Às minhas irmãs, Camila e Aline, depois dos meus pais, meu maior amor do mundo! Com elas dividi e divido minhas memórias, dificuldades, alegrias e brincadeiras. São o melhor presente que meus pais me deram nessa vida!

Agradeço de modo especial, à Aline, minha Pancho, por tanta dedicação e disciplina nas atividades que realizamos juntas no LSA, não sei nem mensurar o quanto foi bom te ter mais perto nos desafios dessa pesquisa.

Ao meu esposo André, por ter sido meu maior incentivador. Por todo amor, pela cumplicidade, apoio e companheirismo incondicionais.

À Dona Zefinha, Dona Fátima, Carlos Daniel e todos os meus familiares, obrigada por todo cuidado e carinho, todo “puxão de orelha”, toda a ajuda para que esse trabalho fosse possível, obrigada!

À Juliana Moraes, um verdadeiro presente de Deus no meio do meu caminho, agradeço por todo incentivo, auxílio e orientações valiosas para a realização desta pesquisa Ju!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mario Kato, por sua contribuição essencial desde a fase das disciplinas até a conclusão deste trabalho, por seus conselhos para a vida profissional e acadêmica.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil - Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos por todo aprendizado e conhecimento oferecidos através das disciplinas.

À Thorsten e Marcus, por toda ajuda e ensinamento nas técnicas de Biologia Molecular abordadas neste trabalho.

Aos técnicos e amigos Ronaldo e Danúbia, que sempre foram prestativos e disponíveis nas necessidades no laboratório para boa realização do trabalho.

Às amigas que o LSA me presenteou, Idayana, Danúbia, Jucélia, Thaís, Tayane, Talita que estiveram presentes comigo nos cafés, nas conversas, nas atividades e análises realizadas.

Aos meus amigos Rodrigo, Cris, Adams por toda motivação, pelo carinho e pelas dicas.

Aos meus amigos Vida Nova, Mere, Mauro, Eri, Paty, Iohana, Vanessinha, Ari, Deisi, Pri, Karol. À toda minha família Vida Nova, não poderia deixar de agradecer a vocês por toda compreensão nos meus períodos de ausência, pelas orações, pelas palavras, por toda torcida por mim. Amo-os!

Às secretárias do Grupo de Saneamento Ambiental Tamyls, e a Andréia, Claudiana e Cleide secretárias da Pós-Graduação em Engenharia Civil.

À Prof^a. PhD Sávia Gavazza (UFPE) e ao Prof. Dr. Luciano Matos (UFBA) por aceitar o convite para contribuir através das observações em banca com a melhoria dessa pesquisa.

Agradeço a todos que contribuíram para esta conquista. Obrigado de coração!

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela oportunidade e pelo espaço de formação acadêmica e profissional.

Ao órgão de fomento, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa para realização da pesquisa.

*“Quantas maravilhas realizaste, meu Deus! Quantos projetos em nosso favor!
Ninguém se compara a ti! Quero anunciá-los, falar deles, mas ultrapassam qualquer conta.”*
(Salmos 39, 6)

RESUMO

ARAÚJO, G. V. R. **Remoção de carbono e nitrogênio de efluente doméstico sintético através de reatores em série anaeróbio, aeróbio e anóxico**. 2015. 116 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, 2015.

A remoção de carbono e nitrogênio foi avaliada através de um sistema inovador de reatores anaeróbio, aeróbio e anóxico em série de fluxo contínuo. Foram testadas diferentes condições operacionais quanto ao Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) por reator (anaeróbio, aeróbio e anóxico) na Fase 1, Fase 2, Fase 3 e Fase 4 que foi de 7h, 10h, 10h e 5h, respectivamente; e Oxigênio Dissolvido (OD) nas concentrações de 0,5-1,2 mg O₂.L⁻¹, 0,5-1,5 mg O₂.L⁻¹, 1,1-2,1 mg O₂.L⁻¹ e 1,1-2,5 mg O₂.L⁻¹ no reator aeróbio, nas respectivas fases. O reator anaeróbio promoveu uma excelente remoção de matéria orgânica (85%), bem como, atuou como pré-tratamento na redução da competição entre os micro-organismos heterotróficos e nitrificantes autotróficos no reator aeróbio. A maior eficiência da nitrificação foi obtida quando a concentração de OD foi mantida entre 1,1 e 2,5 mg L⁻¹. No entanto, foi observada uma diminuição na eficiência da desnitrificação, que pode estar relacionada com uma diminuição da razão DQO / NTK. A eficiência alcançada pelo sistema para DQO (bruta/filtrada) e NTK foi de 88 e 52%, respectivamente. O sistema foi operado sem adição de fonte externa de carbono no reator anóxico. As análises de Biologia Molecular constataram a presença de Bactérias Oxidantes do Nitrito (*Nitrospira*), Bactérias Oxidantes de Amônia, Bactérias Desnitrificantes e *Anammox*.

Palavras-chave: Nitrificação. Desnitrificação. Oxigênio dissolvido. Tempo de detenção hidráulica. Anaeróbio. Aeróbio. Anóxico.

ABSTRACT

ARAÚJO, G. V. R. **Carbon removal and synthetic domestic effluent nitrogen through anaerobic reactors in series, aerobic and anoxic.** 2015. 116 p. Masters dissertation (M.Sc) - Department of Civil Engineering, Federal University of Pernambuco, Recife / PE, 2015.

Removal of carbon and nitrogen was assessed through an innovative system of anaerobic , aerobic and anoxic reactors streaming series. Different operating conditions were tested for hydraulic retention time (HRT) per reactor (anaerobic, aerobic and anoxic) in Phase 1 , Phase 2 , Phase 3 and Phase 4 which was 7h , 10h , 10h and 5h , respectively; and Dissolved Oxygen (DO) concentrations of 0.5-1.2 mg O₂.L⁻¹, 0.5-1.5 mg O₂.L⁻¹, 1.1-2.1 mg O₂.L⁻¹ and 1.1-2.5 mg O₂.L⁻¹, were tested. The anaerobic promoted an excellent removal of organic matter (85%) and served as pretreatment to reduce the competition between heterotrophic and autotrophic nitrifying microorganisms in the aerobic reactor. The highest efficiency of nitrification was obtained when the concentration of DO was maintained between 1.1-2.5 mg O₂.L⁻¹. However, it was observed a decrease in the efficiency of denitrification, which can be related to a decrease in the ratio COD / TKN. The efficiency achieved by the system for COD and TKN was 88 and 52%, respectively. The system was operated without addition of external carbon source in the anoxic reactor. The molecular biology analysis found the presence of Oxidizers Nitrite Bacteria (*Nitrospira*), Oxidizers Ammonia Bacteria, Denitrificantes Bacteria and *Anammox*.

Keywords: Nitrification. Denitrification. Dissolved oxygen. Hydraulic retention time. Anaerobic. Aerobic. Anoxic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Ciclo do nitrogênio (via de remoção convencional)	31
Figura 02 – Transformações do nitrogênio na remoção biológica de efluente	35
Figura 03 – Fotografia da instalação experimental nas dependências do LSA/UFPE	41
Figura 04 - Conjunto dos três reatores em série e em escala de bancada.....	42
Figura 05 – Lodo de inóculo coletado na ETE Mangueira para reator aeróbio	44
Figura 06 – Enriquecimento da biomassa nitrificante	44
Figura 07 – Lodo do reator UASB/ETE Mangueira para inoculação no reator anaeróbio	45
Figura 08 – Desenho esquemático do funcionamento do sistema.....	50
Figura 09 – Condições de amplificação de PCR para domínio <i>Bacteria</i> (<i>Nitrospira</i>).....	57
Figura 10 – Variação do pH afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema de reatores nas Fases 1, 2, 3 e 4	61
Figura 11 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação do pH afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	62
Figura 12 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação da alcalinidade total no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	65
Figura 13 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação da temperatura (°C) no afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	67
Figura 14 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação da potencial redox (mV) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4.....	69
Figura 15 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação de SST (mg SST.L ⁻¹) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4.....	71
Figura 16 – Gráfico <i>Box-plot</i> sobre a variação de SSV (mg SSV.L ⁻¹) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4.....	73
Figura 17 – Concentrações de DQO total (mg O ₂ .L ⁻¹) no afluente (AF) e efluente (EF) dos reatores ANA, AE e ANO nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	74
Figura 18 – As concentrações de DQO total (mg O ₂ .L ⁻¹) no afluente e efluente dos reatores (ANA, AE e ANO) durante as quatro fases do experimento	75
Figura 19 – Eficiência de remoção de DQO total no reator anaeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4 ..	77
Figura 20 – Eficiência de remoção de DQO total (mg O ₂ .L ⁻¹) no reator ANA e no reator ANO (efluente final) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	78

Figura 21 – Gráfico <i>box-plot</i> sobre a variação da concentração de N-NH_4^+ (EF ANA), N-NO_2^- (EF AE) e N-NO_3^- (EF ANO) na Fase 1	80
Figura 22 – Gráfico <i>box-plot</i> sobre variação da concentração de N-NH_4^+ (EF ANA), N-NO_2^- (EF AE) e N-NO_3^- (EF ANO) na Fase 2	81
Figura 23 – Gráfico <i>box-plot</i> sobre variação da concentração de N-NH_4^+ (efluente reator ANA), N-NO_2^- (efluente reator AE) e N-NO_3^- (efluente reator ANO) na Fase 3.....	82
Figura 24 – Gráfico <i>box-plot</i> sobre variação da concentração de N-NH_4^+ (efluente do reator ANA), N-NO_2^- (efluente do reator AE) e N-NO_3^- (efluente do reator ANO) na Fase 4.....	84
Figura 25 – Amonificação no reator anaeróbico nas Fases 1, 2, 3 e 4	85
Figura 26 – Concentrações de N-NO_2^- e N-NO_3^- no efluente do reator aeróbico nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	87
Figura 27 – Concentrações e eficiência de desnitrificação no reator anóxico nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	88
Figura 28 – PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4 para o domínio <i>Bacteria</i> – <i>Nitrospira</i>	91
Figura 29 – PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio <i>Bacteria</i> – BOA	92
Figura 30 – PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio <i>Bacteria</i> - BD	93
Figura 31 – Perfil de bandas das amostras de DGGE dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio <i>Bacteria</i> – BD	94
Figura 32 – PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4 para o domínio <i>Bacteria</i> - <i>Anammox</i>	95
Figura 33 – PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4 para o domínio <i>Archaea</i>	97
Figura 34 – Perfil de bandas das amostras de DGGE dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4 para o domínio <i>Archaea</i>	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Vantagens e desvantagens da utilização do reator UASB	26
Tabela 02 – Percentagem das formas de nitrogênio na composição de esgoto doméstico	29
Tabela 03 – Fontes de energia, carbono e receptor de elétrons usados pelas bactérias no processo biológico de nitrificação e desnitrificação	32
Tabela 04 – Efeito da concentração de OD na nitrificação	33
Tabela 05 – Fatores que inibem o processo de nitrificação e desnitrificação	36
Tabela 06 – Novos processos utilizados na remoção de nitrogênio	38
Tabela 07 – Características operacionais dos reatores contínuos em série e em escala de bancada.....	43
Tabela 08 – Composição da água residuária sintética nitrificada	46
Tabela 09 – Composição da solução de micronutrientes	46
Tabela 10 – Composição do substrato sintético	47
Tabela 11 – Composição da solução de sais minerais.....	47
Tabela 12 – Comparação dos parâmetros físico-químicos e cromatográficos entre esgoto sintético, esgoto sanitário sintético e esgoto sanitário típico	48
Tabela 13 – Concentrações e desvios-padrão do teste de degradação da matéria orgânica presente na água residuária sintética (afluente) com e sem a adição de micronutrientes.....	49
Tabela 14 – Condições operacionais aplicadas no sistema dos reatores em série para as Fases 1, 2, 3 e 4.....	52
Tabela 15 – Parâmetros monitorados diariamente por medição <i>online</i>	52
Tabela 16 – Parâmetros, pontos de amostragem, método e frequência de monitoramento	53
Tabela 17 – Amostras do lodo dos reatores do sistema utilizadas para extração do DNA em cada fase.....	54
Tabela 18 – Concentração final de DNA no lodo dos reatores do sistema das Fases 1, 2, 3 e 4, as respectivas amostras e os fatores de purificação correspondentes ($A_{260/280}$ e $A_{260/230}$).....	55
Tabela 19 – Grupos de micro-organismos e respectivos indicadores utilizados para testes de Biologia Molecular	55
Tabela 20 – Modelos e soluções aplicadas na PCR.....	56

Tabela 21 – Elementos usados no preparo da mistura para amplificação da PCR. para Domínio <i>Bacteria (Nitrospira)</i>	56
Tabela 22 – Planejamento da PCR para Domínio <i>Archaea</i>	57
Tabela 23 – Totalidade de indicadores utilizados nas amplificações para PCR	58
Tabela 24 – Referência dos equipamentos aplicados na PCR e DGGE	59
Tabela 25 – Condições operacionais aplicadas ao sistema de reatores nas Fases 1, 2, 3 e 4 ...	59
Tabela 26 – Resumo estatístico do pH afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	63
Tabela 27 – Resumo estatístico da variação de alcalinidade total ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4	66
Tabela 28 – Resumo estatístico da variação de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	68
Tabela 29 – Resumo estatístico da variação de potencial redox (mV) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	70
Tabela 30 – Resumo estatístico da variação de SSV ($\text{mg SSV}\cdot\text{L}^{-1}$) no efluente (EF) de cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4	73
Tabela 31 – As concentrações médias e eficiência de remoção de DQO total	76
Tabela 32 – Condições operacionais aplicadas para o sistema de reatores em série na Fase 4.....	75
Tabela 33 – Parâmetros operacionais aplicados ao reator anaeróbico na Fase 4	78
Tabela 34 – Concentrações de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 1	79
Tabela 35 – Concentrações de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 2	81
Tabela 36 – Concentrações de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 3	82
Tabela 37 – Concentrações de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- do afluente (ANA) e efluente (ANO) no sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 4	83
Tabela 38 - As concentrações médias e eficiência de amonificação no reator anaeróbico nas Fases 1, 2, 3 e 4.....	85
Tabela 39 – As concentrações médias NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- , N-NO_3^- e eficiência de remoção (%) de NTK nas fases 1, 2, 3 e 4.....	86
Tabela 40 - Remoção e respectivas eficiências de DQO (carbono) e NTK (nitrogênio) nas Fases 1, 2, 3 e 4 do conjunto de reatores.....	89

Tabela 41 – Amostras das Fases 1, 2, 3 e 4 usadas na formação do gel da DGGE para Domínio <i>Bacteria</i>	90
Tabela 42- Condições operacionais do reator anóxico da Fase 2 – presença de <i>Anammox</i>	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABR – Reator Anaeróbio Compartimentado
AE – Aeróbio
AF – Afluente
AGV – Ácidos Graxos Voláteis
AME – Atividade Metanogênica Específica
ANA – Anaeróbio
ANAMMOX – Anaerobic Ammonium Oxidation
ANO – Anóxico
AT – Alcalinidade Total
BD – Bactérias Desnitrificantes
BIOMOL – Ala de Biologia Molecular do LSA/UFPE
BOA – Bactérias Oxidantes de Amônia
BON – Bactérias Oxidantes de Nitrito
C/N – Relação Carbono/Nitrogênio
CAAC – Continuous Aerobic-Anaerobic Coupled
CANON – Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite
CBO₅ – Carência Bioquímica de Oxigênio
CNA – Carga de Nitrogênio Aplicada
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COD – Carbono Orgânico Dissolvido
CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente
COT – Carbono Orgânico Total
COV – Carga Orgânica Volumétrica
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DEC – Departamento de Engenharia Civil
DGGE – Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
DQO – Demanda Química de Oxigênio
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EF – Efluente
EGSB – Expanded Granular Sludge Bed Reactor
ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

GSBR – Granular Sequencing Batch Reactor
ICEAS – Sanitaire Intermittent Cycle Extended Aeration
LSA – Laboratório de Saneamento Ambiental
MBR – Membrane Bio Reactor
MLE – Reator Modificado Ludzack-Ettinger
N-NT – Nitrogênio Total
NTK – Nitrogênio Total de Kjeldahl
OD – Oxigênio Dissolvido
OLAND – Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
pH – Potencial Hidrogeniônico
PROSAB – Programa Nacional de Pesquisas em Saneamento Básico
PVC – Policloreto de Vinila
Q – Vazão
RBS – Reator operado em Batelada
SHARON – Single Reactor High activity Ammonia Removal Over Nitrite
SST – Sólidos suspensos totais
SSV – Sólidos Suspensos Voláteis
SSV – Sólidos Suspensos Voláteis
T – Temperatura
TDH_R – Tempo de Detenção Hidráulica do Reator
TDH_S – Tempo de Detenção Hidráulica do Sistema
UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ – Ácido Acético Glacial

CaCO_3 – Carbonato de Cálcio

CH_4 – Gás metano

C_{inorg} – Carbono inorgânico

Cl^- – Cloreto

CO_2 – Dióxido de carbono

CO_2 – Gás carbônico

C_{org} – Carbono orgânico

H_2 – Hidrogênio gasoso

H_2S – Gás sulfídrico

N_2 – Nitrogênio gasoso

N_2O – Óxido nitroso

NaHCO_3 – Bicarbonato de Sódio

N-NH_3 – Amônia

N-NH_4^+ – Nitrogênio amoniacal

N-NO_2^- – Nitrogênio na forma de nitrito

N-NO_3^- – Nitrogênio da forma de nitrato

N-NO_x – Soma das formas de nitrogênio nitrito e nitrato

NO_2^- – Nitrito

NO_3^- – Nitrato

N_{org} – Nitrogênio orgânico

NO_x – Redução dos óxidos de nitrogênio

O_2 – Oxigênio molecular

PO_4^{3-} – Fosfato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	21
2.1 GERAL	21
2.2 ESPECÍFICOS.....	21
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	22
3.1 TRATAMENTO DE EFLUENTES	22
3.2 CARBONO.....	23
3.2.1 Efeitos do acúmulo de matéria orgânica	25
3.2.2 Processos para remoção biológica de carbono.....	24
3.2.2.1 <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket – UASB</i>	25
3.3. NITROGÊNIO.....	28
3.3.1 Efeitos do lançamento de nitrogênio em corpos receptores.....	29
3.3.2 Processos para remoção biológica de compostos nitrogenados.....	30
3.3.2.1 <i>Metodologia Convencional (nitrificação – desnitrificação)</i>	31
3.3.2.2 <i>Nitrificação autotrófica</i>	31
3.3.2.3 <i>Desnitrificação heterotrófica</i>	31
3.3.2.1.1 Fatores que afetam a nitrificação.....	33
3.3.2.1.2 Fatores que afetam a desnitrificação	35
3.3.3 Novos processos aplicados.....	37
3.4 SISTEMA COMBINADO ANAERÓBIO-AERÓBIO-ANÓXICO	38
4 MATERIAL E MÉTODO	41
4.1 INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL	41
4.2 REATORES.....	42
4.3 INÓCULO	43

4.3.1 Reator aeróbio.....	43
4.3.2 Reator anaeróbio e anóxico	45
4.4 ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA.....	46
4.4.1 Teste de degradação da matéria orgânica	48
4.5 ALIMENTAÇÃO DO SISTEMA	49
4.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS	51
4.7 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	52
4.8 ANÁLISE DE BIOLOGIA MOLECULAR.....	53
4.8.1 Extração do DNA genômico.....	54
4.8.2 Reação em Cadeia da Polimerase – PCR	55
4.8.3 Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante – DGGE.....	58
 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	 59
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	60
5.1.1 Potencial hidrogeniônico – pH.....	60
5.1.2 Alcalinidade total	63
5.1.3 Temperatura	66
5.1.4 Potencial de oxirredução.....	68
5.1.5 Sólidos	70
<i>5.1.5.1 Sólidos Suspensos Totais</i>	<i>70</i>
<i>5.1.5.2 Sólidos Suspensos Voláteis.....</i>	<i>72</i>
5.2 REMOÇÃO DE CARBONO	74
5.2.1 DQO total	74
5.2.2 Remoção de carbono no sistema: desempenho das fases	75
5.2.3 Remoção de carbono no sistema: desempenho do reator anaeróbio	77
5.3 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO	78
5.3.1 Fase 1 (TDH por reator = 7 h e OD no reator AE = 0,5–1,2 mg O₂.L⁻¹)	78
5.3.2 Fase 2 (TDH por reator = 10 h e OD no reator AE = 0,5–1,5 mg O₂.L⁻¹).....	80

5.3.3 Fase 3 (TDH por reator = 10 h e OD no reator aeróbio = 1,1–2,1 mg O ₂ .L ⁻¹)	81
5.3.4 Fase 4 (TDH por reator = 5 h e OD no reator aeróbio = 1,1–2,5 mg O ₂ .L ⁻¹)	83
5.3.5 Desempenho do reator anaeróbio na conversão de N-NTK a N-NH ₄ ⁺	84
5.3.6 Nitrificação no sistema: desempenho do reator aeróbio	85
5.3.7 Desempenho da desnitrificação no reator anóxico e remoção final NTK	87
5.5 BIOLOGIA MOLECULAR	89
5.5.1 Bactérias	89
5.5.1.1 PCR de <i>Nitrospira</i> – BON	90
5.5.1.2 PCR de Bactérias Oxidantes de Amônia	91
5.5.1.3 PCR e DGGE de Bactérias Desnitrificantes	92
5.5.1.4 PCR de <i>Anammox</i>	94
5.5.2 Archaea	96
6 CONCLUSÕES	98
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	100
REFERÊNCIAS	101

1 INTRODUÇÃO

A urbanização e a industrialização combinadas a uma rápida e exponencial expansão da população mundial acometem uma forte sobrecarga sobre o uso dos recursos ambientais. Um dos problemas mais graves é o lançamento de esgoto. O carbono e o nitrogênio são as principais fontes de poluição da água em todo o mundo (METCALF & EDDY, 2003). De modo a atenuar a degradação das vias hídricas, vê-se a necessidade da utilização de tecnologias para o tratamento de águas residuais que diminuam as concentrações de matéria orgânica e dos compostos nitrogenados nos efluentes (YE *et al.*, 2003; KUMAR *et al.*, 2010).

No Brasil, os sistemas de lodos ativados convencionais e reatores do tipo *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* – UASB desempenham uma ótima função no que se refere à remoção de matéria orgânica e são tecnologias largamente aplicadas no mundo (CHIDOZIE; VAN LOOSDRECHT e BRDJANOVIC, 2014). Entretanto, tais configurações não proporcionam a supressão de nitrogênio, sendo preciso o emprego de uma etapa de pós-tratamento para retirada desse nutriente. O nitrogênio é removido biologicamente por meio de duas fases, a nitrificação e a desnitrificação (AHN, 2006; YOU *et al.*, 2009).

Diante disso, muitas experiências têm sido aplicadas com combinação efetiva das fases de tratamento anaeróbio, aeróbio e anóxico em reatores (WANG *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2010; ABOOD *et al.*, 2013; GODOS *et al.*, 2014; MORRAS *et al.*, 2015). Essa configuração de sistema otimiza a eficiência do processo pois usa a matéria orgânica residual (relação C/N) como doador de elétrons para a redução dos óxidos de azoto – NO_x, sem adição de uma fonte externa de carbono orgânico (MOYA *et al.*, 2012).

Com respaldo na inovação da configuração do sistema de reatores aplicado e nos estudos já realizados, avalia-se a remoção de matéria orgânica e de nitrogênio via convencional, de um sistema de reatores em série anaeróbio (ANA), aeróbio (AE) e anóxico (ANO), em escala de bancada, alimentado com esgoto sintético sem adição de fonte externa de carbono no reator anóxico. A contribuição diferencial do trabalho é o fato de se tratar de um experimento inovador em escala laboratorial permitindo a apresentação dos processos biológicos de remoção do carbono e nitrogênio que acontecem em cada fase separadamente (ANA, AE e ANO), o que pode ser inviável em escala piloto ou real.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a remoção de matéria orgânica e de nitrogênio, formação de nitrito e nitrato, utilizando substrato sintético, através de reatores em série anaeróbio, aeróbio e anóxico, em escala de bancada.

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Estudar o processo de remoção biológica de carbono e nitrogênio no sistema (fase anaeróbia, aeróbia e anóxica).
- b) Estabelecer a melhor condição operacional dos reatores em série em função da remoção de matéria orgânica e nitrogênio.
- c) Avaliar o uso do reator anaeróbio como condição de pré-tratamento para remoção de nitrogênio.
- d) Avaliar a eficiência do reator aeróbio no processo convencional de nitrificação.
- e) Verificar a eficiência da desnitrificação no reator anóxico.
- f) Avaliar a presença/ausência de populações microbianas no lodo nitrificante e desnitrificante através de técnicas de biologia molecular (PCR e DGGE).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo, de acordo com a abordagem dos pares, são apresentados tópicos sobre assuntos relevantes para este trabalho de pesquisa sobre a da remoção de carbono, como também, de nitrogênio, no tratamento de esgotos sanitários.

3.1 TRATAMENTO DE EFLUENTES

As atividades humanas tem alterado de forma expressiva o meio ambiente. O efluente doméstico é indicado como a principal fonte poluidora em uma escala global, o seu tratamento merece estudo direcionado e aprofundado como comenta Gomec (2010). No Brasil, o método vigente para remoção através das estações de tratamento de esgoto tem como foco basilar apenas a remoção da matéria orgânica. Contudo, Kartal (2010) afirma que a poluição das águas não é ocasionada somente pela presença do carbono orgânico, mas por outros poluentes tais como sais de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) que precisam ser removidos a fim de impedir a propagação de algas tóxicas no ambiente.

A disposição dos esgotos nas águas requer a avaliação dos efeitos de enriquecimento orgânico ocasionados, visto que, diversas consequências degradantes são causadas aos ecossistemas aquáticos. O lançamento de efluentes com excesso de nutrientes e carga orgânica além da capacidade de autodepuração pelos corpos hídricos acarreta a depleção de oxigênio, eutrofização, consequências toxicológicas e ecológicas à biota hídrica e à saúde humana (LUOSTARINENA *et al.*, 2006; VAN HULLE *et al.*, 2010; BAYRAM *et al.*, 2013).

De acordo com Uwidia e Ademoroti (2011), a composição do esgoto se dá basicamente por elementos orgânicos e inorgânicos. Os componentes orgânicos representam-se pela combinação de hidrogênio, nitrogênio (nas formas, amoniacal – N-NH_4^+ e orgânica – N_{org}), carbono e oxigênio. Os componentes do tipo inorgânicos são representados pelo nitrogênio (nas formas de nitrito – NO_2^- e nitrato – NO_3^-), fósforo (na forma de fosfato – PO_4^{3-}), oxigênio dissolvido (OD), metais, gás carbônico (CO_2), enxofre (na forma de gás sulfídrico – H_2S) e natureza distinta de sais (carbonatos, bicarbonatos, fosfatos, etc.), complementa Leme (2010).

De modo a minimizar as consequências causadas com o lançamento *in natura* nos corpos receptores, constata-se a necessidade de sistemas de tratamento eficazes na remoção dos

poluentes orgânicos. Entre as vias adotadas, a alternativa que tem sido mais usualmente aplicada são os processos biológicos de remoção de carbono e nitrogênio (SAAE, 2006; SUN *et al.*, 2010; CUI *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2011; FARRUGIA, 2012; FRISON *et al.*, 2015).

3.2 CARBONO

O carbono é um componente químico que entra na constituição de todos os compostos orgânicos. O carbono orgânico total (COT) mede a concentração de carbono orgânico. Nos corpos hídricos o carbono orgânico se apresenta de duas formas: o carbono orgânico particulado (COP) e carbono orgânico dissolvido (COD) (MEGER, 2007). Em termos analíticos, o COD é a fração do COT que atravessa um filtro de diâmetro de poro de 0,45 μm (PARRON *et al.*, 2011). Este importante elemento é proveniente da matéria viva e também se encontra presente na composição de resíduos e diferentes efluentes. Além disso, é uma fonte de energia para algas e bactérias, possui a capacidade de complexar metais e é um fator indicativo do nível de poluição das águas, uma vez que está intimamente relacionado com a matéria orgânica existente nos meios hídricos constituindo assim uma efetiva função ambiental. (CESTEB, 2009, MOREIRA, 2013).

A verificação de compostos contidos no esgoto é realizada através de indicadores universais sinalizadores da matéria orgânica, como o COT, a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) (AQUINO *et al.*, 2006). Ainda conforme Moreira (2013), o COT é uma forma de quantificar diretamente o carbono (matéria orgânica) presente em uma amostra líquida de esgoto ou água, sem diferenciar se é biodegradável ou não, já a DBO e DQO vias indiretas de mensuração.

3.2.1 Efeitos do acúmulo de matéria orgânica

Conforme Bayram *et al.* (2013), é relevante avaliar os efeitos do excesso de nutrientes e matéria orgânica, em relação à estrutura e função do ambiente aquático, já que os esgotos não tratados em águas de múltiplos usos podem ter impactos ambientais crônicos, e afetar a saúde do homem.

A oxidação da matéria orgânica nos ecossistemas aquáticos pode causar forte depressão na curva de oxigênio de um rio. Consequentemente, pode acarretar a formação de componentes

reduzidos, como H_2S , e ocasionar efeitos tóxicos nos organismos presentes nos corpos receptores (CAMARGO, 2006). Sant'anna Junior (2010) destaca a importância do monitoramento do nível de OD na água, pois parte dos seres aquáticos utilizam deste gás em seu metabolismo.

Em via de regra, as bactérias presentes em lodos ativados consomem o OD para a degradação dos poluentes orgânicos biodegradáveis dos efluentes que são lançados em corpos receptores. Assim, para que os processos de tratamento removam o excesso da matéria orgânica nos esgotos, de forma a adequar o lançamento a uma eficiência de remoção em atendimento ao padrão estabelecido pela Resolução CONAMA N°. 430/11 (BRASIL, 2011), é necessário que uma concentração de oxigênio mínima seja disponibilizada no meio, a fim de garantir a eficiência do tratamento biológico (BONIFASSIO, 2013).

3.2.2 Processos para remoção biológica de carbono

A remoção biológica de poluentes está relacionada às definições de nível e eficiência de tratamento. Os procedimentos e vias para retirada de carbono dos esgotos objetivam a redução da carga poluidora, os quais têm sido alvo de pesquisas em todo mundo. Esses estudos relatam as condições para alcançar índices satisfatórios na remoção da matéria orgânica (JEWELL, 1987; DELLA GIUSTINA *et al.*, 2010; DI BELLA e TORREGROSSA, FIA *et al.*, NASEER *et al.*, 2013; FAN *et al.*, 2014).

O mecanismo de digestão anaeróbia compreende basicamente a hidrólise, fermentação, acetogênese e metanogênese (WEILAND, 2010; DONOSO-BRAVO *et al.*, 2011; NGUYEN *et al.*, 2015). Dentre alguns processos aplicados à remoção biológica de carbono, a digestão anaeróbia merece destaque por se tratar de uma via comumente aplicável em sistemas distintos de tratamento durante décadas e os resultados obtidos pelo emprego desse processo, em grande parte, são satisfatórios de acordo com as taxas de efluentes tratados (LETTINGA, 1995; HAMMES, MONROY *et al.*, 2000; MALTA, 2001; CHEN *et al.*, 2008; ALVAREZ e LEMA, 2010; COELHO *et al.*, MADSEN *et al.*, 2011; CHONG *et al.*, 2012; PERVIN *et al.*, YENIGÜN *et al.*, 2013).

Entre as configurações dos digestores anaeróbios, os digestores de alta taxa são popularmente utilizados no tratamento de efluentes. Tal fato se justifica, pois os reatores anaeróbios de alta

taxa são construídos para atuar com Tempos de Detenção Hidráulico (TDHs) curtos e Tempo de Retenção de Sólidos (TRS) prolongados, com a finalidade de incorporar quantidades de biomassa elevadas e de ampla atividade, permitindo a otimização na estabilização do lodo e maior capacidade de carga (VON SPERLING e CHERNICHARO, 2005).

Os digestores de alta taxa, mais comumente aplicados são o: reator anaeróbio de manta de lodo de fluxo ascendente (UASB), reator granular de leito expandido (EGSB), reator anaeróbio compartimentado (ABR), reator anaeróbio em batelada, reator anaeróbico híbrido, UASB híbrido, como também, digestores de líquidos totalmente mistos como digestores contínuos de tanque-stirred (CHONG *et al.*, 2012).

3.2.2.1 Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor – UASB

Desenvolvido no final da década de 70, a aplicação do UASB nas plantas de tratamento anaeróbio foi rapidamente difundida devido ao ótimo desempenho do reator, desenho simples e custos de operação relativamente baixos (SEGHEZZO *et al.*, 1998; LETTINGA, 2001; LIM e KIM, 2014; MOHARRAM *et al.*, 2015). Segundo Van Haandel e Lettinga (1994), na dinâmica de tratamento de efluentes em diversos países tropicais, os sistemas de tratamento de alta taxa, com destaque para reatores de fluxo ascendente como o UASB, foram ganhando notadabilidade, pois nestas localidades não há necessidade de calefação artificial (GOMEZ, 2010). A aplicação do UASB no tratamento anaeróbio possui muitas vantagens, embora pontos negativos também possam ser observados como é apresentado na Tabela 01.

Tabela 01 – Vantagens e limitações da utilização do reator UASB

VANTAGENS
Alta eficiência - Boa eficiência de remoção de matéria orgânica pode ser conseguida no sistema, mesmo em altas taxas de carregamento e baixas temperaturas. Simplicidade - A construção e operação dos reatores são relativamente simples. Flexibilidade - Tratamento anaeróbio pode ser facilmente aplicado sobre qualquer escala, sendo grande ou pequena. Baixos requisitos de espaço - Quando altas taxas de carregamento são acomodadas, a área necessária para o reator é pequena. Baixo consumo de energia - Na medida em que não é necessário qualquer aquecimento do afluente para atingir a temperatura de trabalho e todas as operações de plantas podem ser realizadas por gravidade, o consumo de energia do reator é quase insignificante. Além disso, a energia é produzida durante o processo sob a forma de metano. A baixa produção de lodo - A produção de biomassa baixa, quando comparada com os métodos aeróbios, devido à lenta taxa de crescimento de bactérias anaeróbias. O lodo é bem estabilizado para disposição final e tem boas características de desidratação. Ele pode ser preservado por longos períodos de tempo, sem redução significativa da atividade, permitindo sua utilização como inóculo para o <i>start-up</i> de novos reatores. Baixo demanda por nutrientes e produtos químicos - Especialmente no caso de esgoto, um pH adequado e estável pode ser mantido sem a adição de produtos químicos. Macronutrientes (nitrogênio e fósforo) e micronutrientes também estão disponíveis no esgoto, enquanto os compostos tóxicos estão ausentes.
LIMITAÇÕES
Baixa remoção de patógenos e de nutrientes - Os agentes patogênicos são parcialmente removidos, exceto os ovos de helmintos, que são efetivamente captadas no leito de lodo. A remoção de nutrientes não é completa e, por conseguinte, um pós-tratamento é necessário. Possíveis maus odores - O sulfeto de hidrogênio é produzido durante o processo anaeróbio, especialmente quando existem elevadas concentrações de sulfato no afluente. Um tratamento adequado do biogás é necessário para evitar o mau cheiro. Necessidade de pós-tratamento - Pós-tratamento de efluente anaeróbio é geralmente necessário para alcançar os padrões de descarga de matéria orgânica, nutrientes e patógenos. Formação e remoção da espuma - Um dos principais problemas da tecnologia UASB é a formação e acumulação de espuma tanto na área de decantação como no separador trifásico. A espuma é formada basicamente por óleos e graxas que se acumulam ao longo do tempo na superfície. A espuma formada no separador trifásico acaba se endurecendo e aprisiona o gás através do desenvolvimento de um selo. Esta contínua produção de gás não é detectada na linha de saída de gás da campânula. Já a pressão debaixo da camada de espuma aumenta a tal ponto de romper abruptamente este selo e provocando uma movimentação das placas endurecidas e a torção das campânulas.

Novos projetos de reatores, condições de funcionamento e/ou o uso de consórcios microbianos especializados aumentaram consideravelmente a variedade de resíduos que podem passar pelo tratamento com emprego de digestores anaeróbios (VERSTRAETE e VANDEVIVERE, 1999).

Ainda assim, a tecnologia de digestão anaeróbia limita-se por determinados fatores como a vulnerabilidade dos microrganismos metanogênicos para compostos tóxicos, a necessidade de executar o bioprocessamento a temperaturas normalmente iguais ou superiores a 35 °C e a baixa remoção de nutrientes. Diante disso, o pós-tratamento (polimento) pode ser a melhor alternativa para os sistemas de digestão anaeróbia com a finalidade de satisfazer os rigorosos limites de lançamento de efluentes. Uma alternativa viável é o sistema anaeróbio-aeróbio sequencial, o emprego típico de polimento de sistema intensivo de energia de lodos ativados, onde a matéria orgânica residual é aerobicamente oxidada em dióxido de carbono e água, com concomitante produção de quantidades consideráveis de lodo (CHONG *et al.*, 2012; VILLANO, 2013).

A escolha mais adequada de pós-tratamento irá depender da qualidade exigida do esgoto final, da disponibilidade de área do terreno, do custo que o tratamento terá, a complexidade, a estabilidade e a flexibilidade de operação do sistema, além da autonomia em equipamento importado e material (AYUKI *et al.*, 2006). Resultados alcançados em sistemas de tratamento combinados com a aplicação de reatores UASB são apresentados.

Torres e Foresti (2001) estudaram o sistema UASB-SBR para o tratamento de água residuária doméstica com um teor de DQO médio = 570 mg O₂.L⁻¹, a uma temperatura média de 21 °C. O reator UASB foi operado a uma TDH = 6 h, com uma taxa de carga de 2,1 kg DQO m⁻³ O₂.d⁻¹, enquanto que o SBR foi monitorado durante ciclos de 24, 12, 6 e 4 h; correspondente aos tempos de aeração de 22, 10, 4 e 2 h. O sistema global atingiu eficiência de remoção de DQO total e Sólidos Suspensos Totais (SST) superior a 91% e 84%, respectivamente, e mostraram-se independentes do tempo de arejamento SBR. O UASB, que foi inoculado com lodo granular anaeróbio, foi responsável por 72% e 79% de matéria orgânica total e SST removido em todo sistema, respectivamente. Uma nitrificação completa foi conseguida no reator SBR em tempos de aeração ≥ 4 h. O sistema global atingiu eficiências de remoção de Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK) que variaram de 80% a 89%, em tempos de aeração SBR de 4 a 22 h.

Al-Shayah e Mahmoud (2008) utilizaram um sistema de tanque séptico-UASB para o tratamento de lodo de depuração forte a 24 °C e uma TDH = 2 dias. Com isso, alcançaram eficiências de remoção de DQO total 87%.

Cao e Ang (2009) avaliaram um sistema em escala laboratorial com UASB seguido de um Reator Modificado Ludzack-Ettinger (MLE) adotado para investigar remoção de DQO e N no tratamento de água residuária municipal em clima quente. No processo de lodo ativado MLE, a nitrificação foi quase completa, enquanto a desnitrificação foi pequena. A DQO média do sistema de lodo ativado foi de 51 mg O₂.L⁻¹, e a média de concentração de N-NH₄⁺ do efluente final foi de 3,1 mg N-NH₄⁺.L⁻¹. Os resultados informam que o processo de acoplamento é viável para o tratamento de efluente municipal em clima quente. No entanto, o baixo pH do efluente final (<6 em média) continua sendo um problema a ser resolvido.

Ayaz *et al.* (2012) investigaram a eficiência de dois reatores biológicos anaeróbios em escala piloto, um UASB e ABR que foram operados por cerca de dois anos para o tratamento de esgotos domésticos a temperaturas ambientes. A remoção total média de DQO foi de 56 e 58% no reator UASB, enquanto que foi de 41 e 50% em ABR, respectivamente, nos períodos de verão e inverno. A temperatura não foi um fator limitante em reatores anaeróbios que foram operados em condições ambientais. Devido à sua maior eficiência, o reator UASB foi recomendado através da ABR para o tratamento anaeróbio de águas residuais domésticas. No entanto, o tratamento anaeróbio de águas residuais domésticas é considerado apenas como um passo de pré-tratamento, uma vez que exige ainda mais a remoção de nutrientes.

3.3. NITROGÊNIO

O nitrogênio é um elemento do grupo 5B, com estados de oxidação entre -3 e +5. Em cada estado de oxidação, o átomo de nitrogênio combina-se com átomos de hidrogênio, oxigênio ou outros átomos de nitrogênio. A maior parcela do nitrogênio no mundo está presente nas rochas, sob a configuração sólida. Entretanto, o gás nitrogênio na atmosfera (79% em volume) é a mais importante fonte de nitrogênio disponível para os processos biológicos (JETTEN *et al.*, 2009).

A apresentação do nitrogênio em efluentes se dá sob quatro formas: N-NH_4^+ , N_{org} , NO_2^- e NO_3^- . A presença do nitrogênio na composição do Nitrogênio Total (NT) do esgoto doméstico pode ser verificada na Tabela 02. O NO_2^- e NO_3^- estão presentes em quantidades mínimas, pois a água residuária domiciliar não apresenta quantidade de OD suficiente para promover a ação das bactérias nitrificantes.

Tabela 02 – Percentagem das formas de nitrogênio na composição de esgoto doméstico

Forma	Percentuais (%)
N-NH_4^+	60
N_{org}	40
NO_2^-	< 1
NO_3^-	< 1

Fonte: Adaptado de Metcalf & Eddy (2003)

O nitrogênio é o quarto componente mais habitualmente encontrado nas células e seu ciclo é composto principalmente de mecanismos microbianos como assimilação, amonificação, nitrificação, desnitrificação, fixação de nitrogênio, e a oxidação anaeróbia de amoníaco. (METCALF & EDDY, 2003; YOU *et al.*, 2009; KUMAR *et al.*, 2010)

3.3.1 Efeitos do lançamento de nitrogênio em corpos receptores

O lançamento de efluentes contendo concentrações elevadas de nutrientes favorece o crescimento de fitoplâncton e de macrófitas aquáticas; a depleção do oxigênio dissolvido das massas de água; mudança na qualidade hídrica; alteração da diversidade de espécies; floração de cianobactérias, dinoflagelados e diatomáceas; produção de toxinas; mortandade de animais aquáticos; redução de carbono disponível para teias alimentares; perda da pesca comercial e esporte; decaimento do valor estético do corpo d'água; acidificação das águas acarretadas pela elevação da concentração de íons de hidrogênio em ecossistemas de água doce sem capacidade suficiente de neutralização do ácido; e aumento dos custos de tratamento antes de uso humano (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2007; CONLEY *et al.*, ORMEROD e DURANCE, USEPA, SOUTO, 2009; DURAND, 2011; BADRUZZAMAN *et al.*, 2012; BEHERA *et al.*, 2015; GE *et al.*, 2015).

A descarga de efluentes ricos em compostos nitrogenados pode causar sérios danos ao ambiente aquático. Efeitos ecológicos e toxicológicos são observados pela poluição do nitrogênio inorgânico nas águas subterrâneas e superficiais (CAMARGO, 2006). O maior problema resultante da liberação de nitrogênio nos corpos receptores é a eutrofização, ocasionada pelo desenvolvimento, manutenção e/ou proliferação de produtores primários a partir da disponibilidade excessiva de nutrientes (OCZKOWSKI e NIXON, 2008; NYENJE *et al.*, 2010).

Efeitos adversos também são verificados sobre a saúde humana (WOLFE e PATZ, 2002; LATZA *et al.*, 2009). Nitritos e nitratos ingeridos de água potável poluída por nitrogênio podem induzir metahemoglobinemia em humanos (síndrome do bebê-azul), particularmente em lactentes jovens, bloqueando a capacidade de transporte de oxigênio da hemoglobina; como também têm um papel potencial no desenvolvimento de cânceres do trato digestivo, através da sua contribuição para a formação de nitrosaminas (WEYER *et al.*, 2001; CAMARGO; JAKSZYN e GONZÁLEZ; SUMINO *et al.*, 2006; ERISMAN *et al.*, 2013).

A amônia livre (NH_3) é uma das principais formas de nitrogênio com contribuição elevada para a toxicidade nos corpos hídricos, além de requerer grande demanda de oxigênio para a realização do processo de nitrificação, isto é, para cada 1 mg de NH_4^+ são necessários 4,57 mg de O_2 (CAMARGO, 2006; BARBOSA, 2010).

3.3.2 Processos para remoção biológica de compostos nitrogenados

Os compostos nitrogenados podem ser removidos das águas residuais por uma variedade de processos físico-químicos e biológicos (AHN, 2006). Os tratamentos biológicos são as vias mais economicamente viáveis e eficientes para remoção de nitrogênio em efluentes urbanos e industriais (GAO *et al.*, 2010; ZANETTI *et al.*, 2012). Por esse fato, os processos biológicos têm sido preferencialmente adotados e amplamente estudados como alternativa para remoção de nutrientes (ASLAN e DAHAB, 2008; ABE *et al.*, 2008; SATTAYATEWA *et al.*, 2010; GE *et al.*, 2015; HOU *et al.*, 2015; SANTÍN *et al.*, 2015).

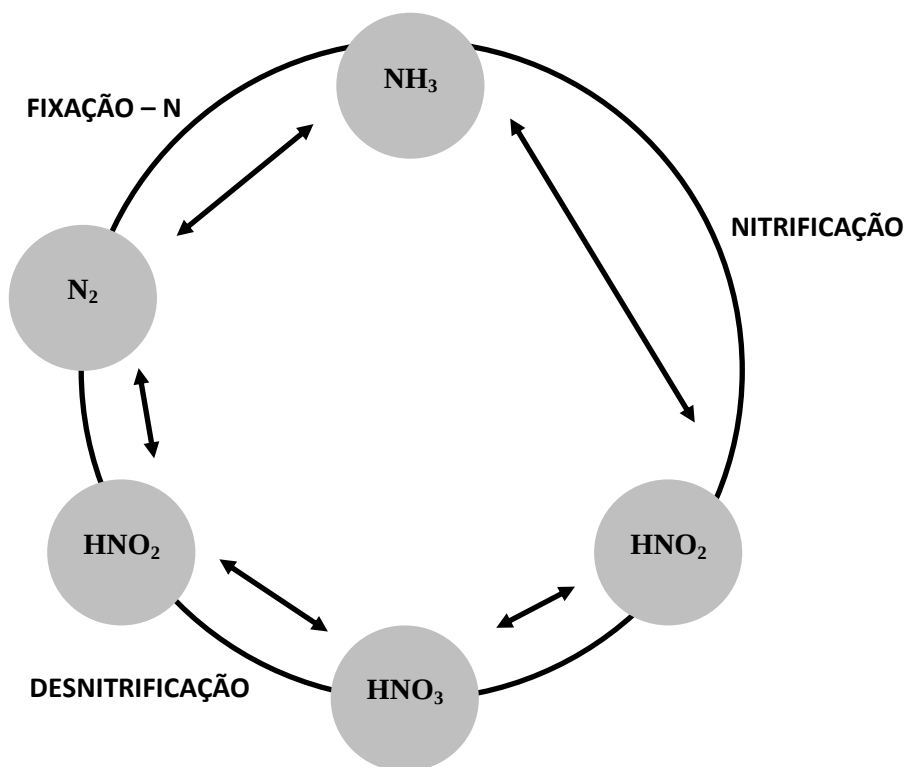
Conforme Bortoli *et al.* (2012), o ciclo do nitrogênio é complexo e esse nutriente é transformado por várias reações metabólicas de microrganismos e durante diferentes ações biológicas. Nessas ações, as bactérias retiram energia das reações de oxirredução das formas

nitrogenadas. A nitrificação e a desnitrificação biológica são os processos aplicados para a remoção de nitrogênio (USEPA, 2008; GE *et al.*, 2015).

3.3.2.1 Metodologia Convencional (nitrificação – desnitrificação)

O mecanismo em sistemas convencionais de remoção biológica de nitrogênio de efluentes se dá via nitrificação-desnitrificação como apresentado no ciclo de nitrogênio na Figura 01. A remoção ocorre basicamente por meio de três fases principais: a amonificação, que compreende a conversão do N_{org} à $N-NH_3$ pela atividade microbiana e hidrólise; a nitrificação (GE *et al.*, 2015) onde o nitrogênio amoniacal (NH_3 e NH_4^+) é oxidado a $N-NO_2^-$, sob condições aeróbias (nitritação) e, em seguida, a $N-NO_3^-$ (nitratação); e a desnitrificação (KATIPOGLU-YAZAN *et al.*, 2012), conversão do $N-NO_3^-$ a nitrogênio molecular pela redução biológica do $N-NO_3^-$, através do consumo de carbono orgânico, sob condições anóxicas (IAMAMOTO, 2006; ZANETTI *et al.*, 2012). Essas condições podem ser atingidas em sequência espacial ou temporal com o emprego de etapas anaeróbia, anóxica e aeróbia no sistema de tratamento.

Figura 01 – Ciclo do nitrogênio (via de remoção convencional)



Fonte: Adaptado de Ahn (2006)

As fontes de carbono, energia e receptor de elétrons utilizados por bactérias autotróficas e heterotróficas nos processos de nitrificação e desnitrificação são mostradas na Tabela 03.

Tabela 03 – Fontes de energia, carbono e receptor de elétrons usados pelas bactérias no processo biológico de nitrificação e desnitrificação

PROCESSO	BACTÉRIAS	
	Autotróficas	Heterotróficas
Nitrificação	Fonte de energia: N-NH_4^+ e/ou NO_2^- Fonte de carbono: C_{inorg} Receptor de elétrons: oxigênio (meio aeróbio)	Fonte de energia: N-NH_4^+ e/ou NO_2^- Fonte de carbono: C_{org} Receptor de elétrons: oxigênio
Desnitrificação	Fonte de energia: compostos reduzidos de enxofre e/ou hidrogênio Fonte de carbono: C_{inorg} Receptor de elétrons: NO_2^- e/ou NO_3^- (meio anóxico)	Fonte de energia: C_{org} Fonte de carbono: C_{org} Receptor de elétrons: NO_2^- e/ou NO_3^- (meio anóxico)

Fonte: Adaptado de Yamasaki (2009)

3.3.2.2 Nitrificação autotrófica

O processo de nitrificação autotrófica é um mecanismo aeróbio, de oxidação biológica, que normalmente ocorre em duas etapas, nas quais bactérias estritamente autótroficas oxidam amônia a nitrito, seguido pela oxidação a nitrato para produção de energia (METCALF & EDDY, 2003; ZANETTI *et al.*, 2012; MALAMIS *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014). O nitrogênio amoniacal é convertido a nitrito por Bactérias Oxidantes de Amônia (BOAs) e o nitrito é convertido a nitrato por Bactérias Oxidantes de Nitrito (BONs). Dois gêneros de bactérias autotróficas, *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são, reconhecidamente, as principais responsáveis pela oxidação de íon amônio para nitrito (nitritação) e a conversão de nitrito a íon nitrato (nitratação), obtendo energia desse processo e tendo dióxido de carbono e carbonatos como principais fontes de carbono (USEPA, 2009). Pode-se dizer que ambos os gêneros, *Nitrosomonas sp* e *Nitrobacter sp*, somente desenvolvem atividade bioquímica na presença de oxigênio dissolvido, isto é, são aeróbios obrigatórios (AUN, 2007).

Apesar de *Nitrosomona* ser o gênero mais conhecido outras bactérias também realizam o processo de nitritação como as dos gêneros *Nitrosococcus*, *Nitrosospira* e *Nitrosolobus*. Além das *Nitrobacter* as dos gêneros *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina* estão envolvidas no

processo de nitratação (METCALF; EDDY, 2003; AHN, 2006; JUNIER *et al.*, 2010). Os microrganismos envolvidos na nitrificação utilizam a amônia ou o nitrito como fonte de energia e o oxigênio molecular como aceptor de elétrons, enquanto o dióxido de carbono é utilizado como fonte de carbono sendo, portanto, autotróficos. Entretanto, segundo Chagas (2006), algumas heterotróficas como actinomicetos e fungos também são capazes de realizar a nitrificação, porém em menor grau em relação às autotróficas.

3.3.2.2.1 Fatores que afetam a nitrificação

A nitrificação pode ser afetada por um grupo diversos de fatores, tais como concentração de OD, pH, potencial redox, temperatura, disponibilidade de nitrato e matéria orgânica, amônia livre, tipo de reator, TDH, alcalinidade, relação C/N, toxicidade, concentração de carbono inorgânico, metais pesados, controle real do tempo, entre outros (HU *et al.*, 2004; BASSIN *et al.*, 2011; GE *et al.* 2014).

O oxigênio é um dos parâmetros mais relevantes na nitrificação, já que concentrações menores que $2 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ podem causar a inibição parcial ou total de atuação das bactérias nitrificantes (HIDAKA *et al.*, 2002; GERARDI, 2006). Ge *et al.* (2015) verificaram que uma concentração de OD = $1,5 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ permite acumular nitrato e oxidar amônia, porém baixos níveis como $0,3\text{--}0,5 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ pode causar problemas de intumescimento filamentoso. Os efeitos da concentração de OD que influenciam no mecanismo da nitrificação são apontados na Tabela 04.

Tabela 04 – Efeito da concentração de OD na nitrificação

OD ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)	Influência na nitrificação
< 0,5	Começo da nitrificação, mas inexpressiva
0,5 – 0,9	Aumento da taxa de nitrificação
1,0 – 2,0	Taxa de nitrificação torna-se expressiva
2,1 – 2,9	Nitrificação contínua
3,0	Pico da taxa de nitrificação
> 3,0	Pode ocorrer melhoria da nitrificação se as bactérias organotróficas removerem DBO de forma mais acelerada

Fonte: Adaptado de Gerardi (2006)

Spinola (2009) avaliou que o crescimento das bactérias nitrificantes foi favorecido quando a faixa do pH esteve entre 6,5 a 7,5. Entretanto para Ye e Thomas (2001) a faixa ideal para as BOAs é de 7,30 a 8,0 e para as BONs é de 7,2 a 7,6. Outro parâmetro essencial conforme Carrera (2004) é a relação C/N presente no afluente, pois esta tem influência direta sobre o aumento da concorrência entre populações de microrganismos autotróficos e heterotróficos.

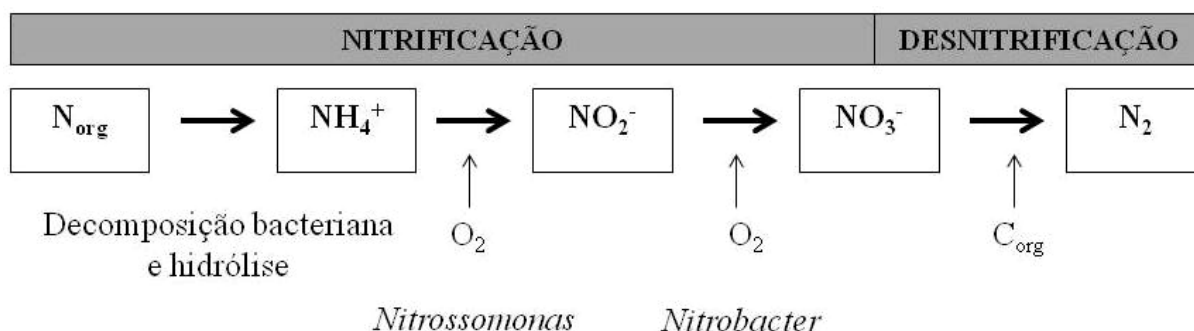
A maioria dos processos biológicos e físico-químicos é influenciada pela temperatura (TONG *et al.*, 2015). A faixa de temperatura ideal para bactérias nitrificantes da cultura de *Nitrosomonas* está entre 30 °C e 36 °C, com crescimento ótimo em 35 °C; enquanto que para a cultura de *Nitrobacter* a temperatura varia de 8°C a 28 °C, com crescimento ótimo em 28 °C (NOCKO, 2008). Temperaturas demasiado elevadas são desvantajosas; acima dos 45°C a atividade das bactérias diminui significativamente (MAYER *et al.*, 2009).

Neste sentido, Ge *et al.* (2014) reportaram que dois fatores contribuíram mais expressivamente na nitrificação em reator contínuo. O primeiro fator refere-se à alternância entre a fase anóxica e óxica, e o outro, o fato de a alimentação ter ocorrido na zona anaeróbia, uma vez que auxiliou na ocorrência da desnitrificação na zona anóxica. Porém observaram que fatores como temperatura e pH não melhoraram a nitrificação. Além disso, uma baixa concentração de OD (0,3 a 0,7 mg O₂.L⁻¹) também não foi um fator que contribui com o processo. Isso leva a inferir, que não depende apenas dos fatores ambientais, mas também do reator e da carga aplicada.

3.3.2.3 Desnitrificação heterotrófica

Como parte de remoção biológica de nitrogênio, a desnitrificação consiste na redução biológica de nitrato a óxido nítrico, óxido nitroso e finalmente a gás nitrogênio sem a presença do oxigênio (YE e THOMAS, 2001; METCALF & EDDY, 2003; CHEN, 2013), como evidenciado na Figura 02.

Figura 02 – Transformações do nitrogênio na remoção biológica de efluente



Fonte: Adaptado de Metcalf & Eddy (2003)

Cada fase dessa reação é catabolizada por metaloenzimas específicas. De forma geral, as enzimas indispensáveis para a desnitrificação somente são produzidas sob, ou próximo a, condições anaeróbias ou anóxicas, e se as bactérias em crescimento anaeróbio tiverem exposição ao O_2 , ocorre a inibição imediata dessas enzimas. Ainda, as reações são catabólicas, isto é, produzidas por microrganismos heterótrofos, que precisam de matéria orgânica, como fonte de carbono, para a sua síntese celular (SPANNING *et al.*, 2007; BORTOLI *et al.*, 2012).

Assim, em meio anóxico, bactérias heterotróficas utilizam NO_3^- como receptor final de elétrons, em substituição ao O_2 . Bactérias desnitrificantes como as do gênero *Nitrobacter* reduzem NO_3^- a N_2O e este a N_2 (USEPA, 2009). Conforme avaliação feita por Hasegawa (2008), o processo de desnitrificação é mais fácil de ser alcançado que a nitrificação, pois há um diverso grupo bacteriano que realiza esse mecanismo como as facultativas heterotróficas dos gêneros *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paraccocus* e *Thiocardillus*, sendo que os três primeiros contêm a maioria das espécies desnitrificantes (GERARDI, 2006).

3.3.2.3.1 Fatores que afetam a desnitrificação

As bactérias desnitrificantes, assim como as nitrificantes possuem requisitos específicos relacionados ao tipo e a taxa de uso do substrato, velocidade de crescimento e adaptação às condições ambientais (GARCIA, 2005). Determinados indicadores se destacam pela capacidade de influenciar o processo de desnitrificação como a concentração de OD, relação C/N, concentração de NO_3^- , o tipo e concentração do afluente, temperatura, alcalinidade e pH (LI *et al.*, 2011). Na Tabela 05 são mostrados alguns fatores que causam a inibição do mecanismo de nitrificação e desnitrificação e as respectivas causas.

Tabela 05 – Alguns fatores que inibem o processo de nitrificação e desnitrificação

Processo	NITRIFICAÇÃO		DESNITRIFICAÇÃO		
Fator de influência negativa	Baixa concentração de OD	Concentração elevada de matéria orgânica (competição bacteriana)	Elevada concentração de OD	Concentração elevada de NO_2^-	Relação C/N
Causas prováveis	Oxigenação insuficiente Elevada carga orgânica	Ausência de pré-tratamento para remoção do substrato orgânico	Oxigenação excessiva na fase nitrificante	Limitação de carbono disponível NO_2^- proveniente da etapa de nitrificação	Características do efluente

Fonte: Adaptado de Kampschreur *et al.* (2009)

A relação C/N é uma das variáveis mais críticas para o processo de remoção do nitrogênio de efluentes, pois atua diretamente sobre os efeitos funcionais das populações de bactérias, incluindo as desnitrificantes (FU *et al.*, 2009). Não obstante a insuficiência de carbono orgânico restringir o mecanismo de desnitrificação existe outro fator fundamental que deve ser avaliado: a oxidação da matéria orgânica compete com a nitrificação, o que reforça a aplicação de um pré-tratamento (KOMOROWSKA-KAUFMAN *et al.*, 2006).

Na desnitrificação pode ser utilizada uma fonte de carbono interna e/ou externa. As fontes internas incluem o efluente primário, que pode ser alimentado pelos lodos ativados do processo e o líquido da digestão dos lodos ativados (USEPA, 2008). As fontes externas incluem produtos químicos comercialmente disponíveis como o metanol, etanol e acetato (SCHMIDELL *et al.*, 2007).

As fontes de carbono orgânico para a desnitrificação podem ser na forma de matéria orgânica solúvel e degradável existente no afluente; matéria orgânica solúvel produzida por hidrólise de material particulado afluente; e/ou matéria orgânica liberada durante a degradação endógena da biomassa (USEPA, 2009). O acréscimo de uma fonte de carbono suplementar, para não inibir a atividade das bactérias desnitrificantes é necessário quando não há disposição de substrato orgânico suficiente.

O oxigênio é também um fator a ser considerado na desnitrificação por sua capacidade de limitar a ocorrência do processo. Isso porque o O_2 inibe a desnitrificação, pois impede a

constituição da enzima nitrato redutase. Concentrações de OD superiores ou iguais a 0,2 mg O₂.L⁻¹ diminuem a taxa de desnitrificação, pois a energia empregada para obter oxigênio por quebra da molécula de nitrato é maior do que a energia gasta no uso do O₂, pelo que, as bactérias usam preferencialmente o O₂ quando este se apresenta naquela concentração mínima (USEPA, 2008). O OD pode variar entre 0,10 e 0,50 mg O₂.L⁻¹, sendo que valores de OD acima desta faixa podem determinar restrição da desnitrificação (GÜVEN, 2009).

No transcurso da desnitrificação o pH tende a se elevar como resultado do consumo de íons H⁺ do meio, há geração de alcalinidade, visto que a cada 1 mg de NO₃⁻ que é reduzido a N₂ se tem como produto 3,57 mg de alcalinidade, na forma de CaCO₃. A faixa de tolerância quanto ao pH para as bactérias desnitrificantes varia entre 6,0 e 9,0 (DINÇER E KARGI, 2000).

3.3.3 Novos processos aplicados

Novos processos no tocante à remoção de compostos nitrogenados têm sido investigados e descritos como alternativas promissoras diante das tecnologias usuais, tendo em vista o aumento da eficiência e redução de custos, tais como: oxidação anaeróbia da amônia (*Annamox*) (GÜVEN *et al.*, 2005; KARTAL, 2010; CHO *et al.*, 2011; SUNEETHI e JOSEPH, 2011; YU, 2013; ZU *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2014; NHAT *et al.*, 2014; ABBAS *et al.*, 2015), desnitrificação por bactérias nitrificantes autotróficas (PARK *et al.*, 2010; FIGUEROA *et al.*, 2012; MAGRÍ *et al.*, 2013, LIANG *et al.*, 2015; VARAS *et al.*, 2015), nitrificação e desnitrificação simultâneas (LIU *et al.*, 2010; YANG e YANG, 2011; JIA *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2013), desnitrificação aeróbia (SU *et al.*, 2012; CHEN e STROUS, 2013) e nitrificação heterotrófica (ZHANG *et al.*, 2011; ZAO *et al.*, 2012; YAO *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2015). Estes processos estão expostos na Tabela 06 e podem explicar perdas de nitrogênio ainda não esclarecidas nos sistemas convencionais de tratamento de esgoto.

Tabela 06 – Novos processos utilizados na remoção de nitrogênio

Processo	Definição	Referências
SHARON	Realiza a remoção de nitrogênio na forma de amônio em um único reator pela via do nitrito. Funciona como pré-tratamento para <i>Anammox</i>	CLAROS <i>et al.</i> , 2012; CARMEN <i>et al.</i> , 2013
ANAMMOX	O nitrogênio é eliminado diretamente pela reação entre amônia e nitrito (nitrificação parcial prévia) em condições anaeróbias	LI <i>et al.</i> , 2011; KOTAY <i>et al.</i> , 2013; KELUSKAR, 2013; WAN <i>et al.</i> , 2014; BEHERA <i>et al.</i> , 2015
CANON	Combina mecanismos de nitrificação via nitrito e <i>Anammox</i> , em um único reator aerado e mediado por dois grupos de bactérias	KHIN e ANNACHHATRE, 2004; VÁZQUEZ-PADÍN <i>et al.</i> , 2010; LIU <i>et al.</i> , 2012; GONZALEZ-MARTINEZ <i>et al.</i> , 2015
DEMON (Via curta)	Remoção do nitrogênio por implementação de um estágio parcial nitrificação / <i>anammox</i> sem adição de fonte de carbono	ZHOU <i>et al.</i> , 2014; HUBAUX <i>et al.</i> , 2015; SCHAUBROECK <i>et al.</i> , 2015
OLAND	Promove a remoção de nitrogênio de efluentes com baixa relação C/N através de uma combinação de nitrificação parcial e <i>Anammox</i>	VAN HULLE <i>et al.</i> , 2010; DAVEREY <i>et al.</i> , 2012; MONBALLIU <i>et al.</i> , 2013; COURTENS <i>et al.</i> , 2014; HE <i>et al.</i> , 2015
SANI	Redução de sulfato por processo integrado de nitrificação e desnitrificação autotrófica	WANG <i>et al.</i> , 2009; LU <i>et al.</i> , 2012

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

3.4 SISTEMA COMBINADO ANAERÓBIO-AERÓBIO-ANÓXICO

O tratamento convencional aplicado na remoção biológica de carbono e nitrogênio consiste, geralmente, em reatores que executam processos separados de acordo com Aspé *et al.* (1997) e Moura *et al.* (2012). Entretanto, diversos estudos recentes têm verificado a otimização dessas fases em sistemas combinados anaeróbio/aeróbio/anóxico – ANA/AE/ANO para remover o carbono e nitrogênio (ZENG *et al.*, 2010; SAHARIAH e CHAKRABORTY, 2011; GE *et al.*, 2012; MENG *et al.*, 2013; HU *et al.*, 2014; MIAO *et al.*, 2015).

A configuração combinada potencializa a eficiência do processo, pois utiliza como fonte de carbono interna a matéria orgânica disponível no efluente, empregando-a como um doador de elétrons para a redução de nitrogênio, assim não é necessária a adição de carbono orgânico extra (MOYA *et al.*, 2012).

Goil e Nakhla (2006) testaram dois sistemas de tratamento, um UASB-aeróbio e um UASB-anóxico-aeróbio para remoção de carbono e nitrogênio durante o tratamento de águas residuais de processamento de tomate com DQO de 2800-15,5 mg O₂.L⁻¹, NTK de 48-340 mg N-NTK.L⁻¹ e N-NH₄⁺ de 21-235 mg N-NH₄⁺.L⁻¹. O sistema UASB-anóxico-aeróbio foi eficaz no tratamento de águas residuais de conservas de tomate em um TDH global de 1,75 dias, alcançando 95,6% de DQO e 99,5% N-NH₄⁺ de remoção.

Wang *et al.* (2009) relataram um processo novo e integrado de remoção biológica de nitrogênio – SANI. O sistema consistiu de um reator UASB (redução de sulfato), um filtro anóxico (desnitrificação autotrófica) e um filtro aeróbio (nitrificação) e foi aplicado em escala de laboratório com água residual sintética salina. Quanto à eficiência de remoção a DQO teve 95% e o NT, 74%, sem excesso de retirada de lodo ao longo dos 500 dias de operação. A eficiência de remoção orgânica foi dependente do TDH no UASB.

Huang *et al.* (2010) determinaram a remoção do carbono e nitrogênio de esgoto pelo processo ANA/ANO/AE. Os seguintes parâmetros foram empregados: TDH (ANA) = TDH (ANO) = 2,8 h, TDH (AE) = 6,9 h. Para estas condições, houve remoção de DQO (80,0%) e de N-NH₄⁺ (90,0%). A maior eficiência de remoção da DQO (92,7%) foi obtida no processo como um todo, quando o TDH = 19,5h. Para a etapa ANA a maior remoção de DQO foi obtida com TDH (ANA) = 2,3 h e 2,6 h, a qual foi 62,6% em ambos TDH. Para a etapa ANO a maior remoção foi de 10,7% quando TDH (ANO) = 2,3 h, enquanto para o AE a maior remoção foi 28,9% com TDH (AE) = 8,4 h. O processo ANA/ANO/AE foi eficiente na remoção da DQO e na remoção de N-NH₄⁺.

Moya *et al.* (2012) investigaram um reator anóxico-filtro anaeróbio-aeróbio compacto com recirculação de líquido para o tratamento de efluentes de pesca. A condição experimental aplicada foi com COT = 554 ± 24 mg.L⁻¹ e TDH = 2 dias. A remoção total de carbono foi superior a 98%, enquanto que a máxima remoção de nitrogênio foi de 62% utilizando

nitrificação total na zona aeróbia, devido a uma quantidade mais elevada de NO_x produzidos que foram recirculados para a zona anóxica.

Abood *et al.* (2013) utilizaram um conjunto de biorreatores anaeróbio-anóxico-aeróbio, desenvolvido com base em um EGSB, Reator Sequencial Granular em Batelada (GSBR) e Sistema com Ciclo Intermitente de Arejamento Prolongado (ICEAS) para remoção biológica de nutrientes de lixiviado de aterro maduro, com uma alta carga de nitrogênio. Os resultados mostraram que as eficiências médias de remoção de DQO e N-NH_4^+ foram de 96,49% e 99,39%, respectivamente. Estas foram obtidas sob a condição de um TDH = 12 horas (incluindo 4 h de bombeamento de ar para o reator) e $\text{OD} = 4 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Estes processos combinados foram empregues com sucesso e diminuiu eficazmente a carga poluente.

Godos *et al.* (2014) verificaram o potencial de remoção de carbono e nitrogênio de uma configuração de fotobiorreator anóxico-aeróbio inovador operado com ambas as reciclagens internas e externas durante o tratamento de águas residuárias com baixa relação C/N. Sob condições de funcionamento ótimas, o fotobiorreator de duas fases foi capaz de remoção, de carbono e de nitrogênio orgânico superior a 95% e 90%, respectivamente.

Li *et al.* (2014) pesquisaram a remoção de carbono orgânico e nitrogênio em um processo contínuo acoplado aeróbio-anaeróbio em escala piloto (CAAC) do efluente anaeróbio gerado por um reator de circulação interna – IC para o tratamento de águas residuais de soja. Com aplicação do TDH = 1,3 dias, a eficiência média de remoção de DQO e NT atingiram 91%, e 67%, respectivamente. O resultado da análise de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) mostrou que algumas bactérias acetogênicas fermentativas foram detectadas em zonas anóxicas e anaeróbias. Tais populações estão associadas com a digestão anaeróbica.

Morras *et al.* (2015) avaliaram a remoção biológica de nitrogênio de lodo de esgoto anaerobicamente digerido pós-aeração em um reator em escala piloto sob condições anóxicas-aeróbio. O melhor desempenho pós-aerador foi alcançado em um TDH = 10 dias (4 dias aeróbios; $\text{OD} = 1,8 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) A eficiência de remoção foi superior a 80% para N-NH_4^+ e 50-55% para NT.

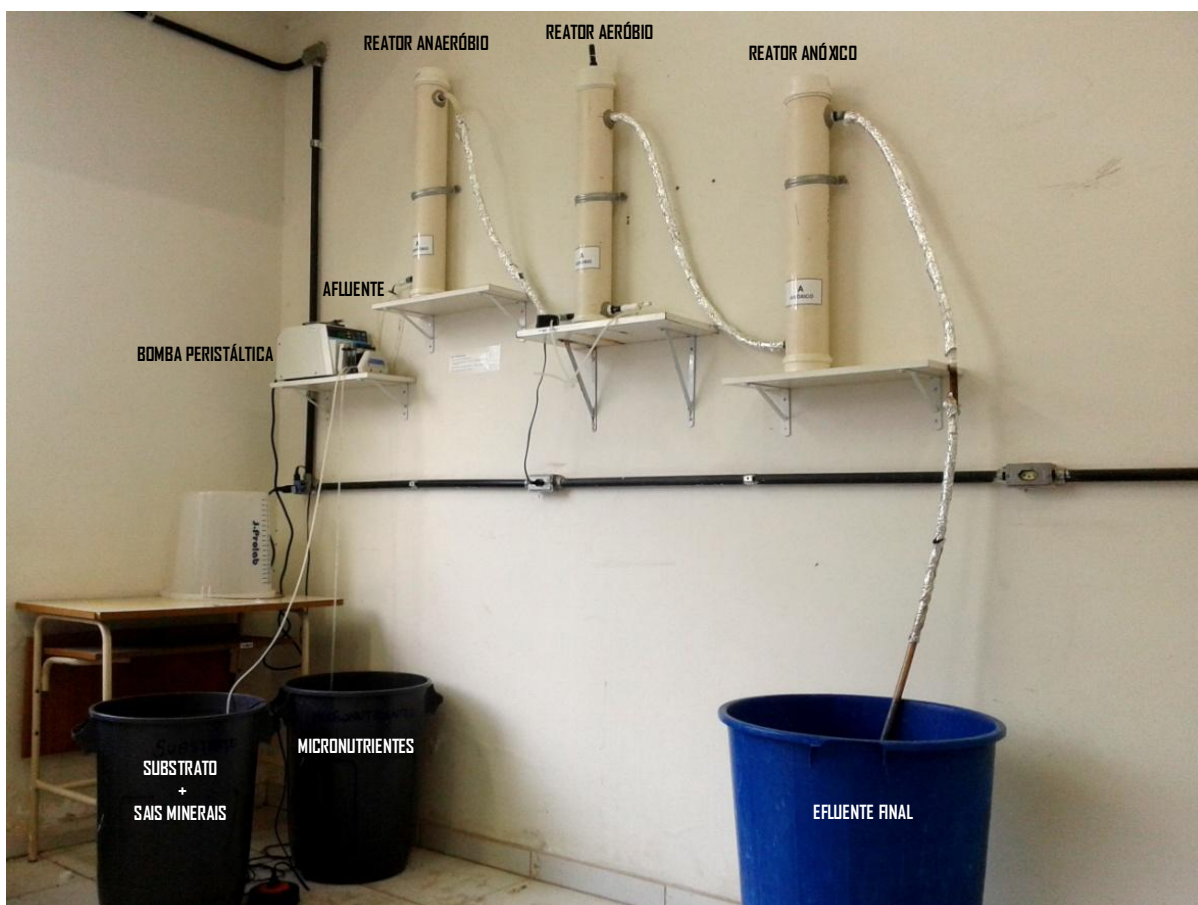
4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL

O sistema de tratamento foi instalado na sala de reatores 2 nas dependências do Laboratório de Saneamento Ambiental – LSA, localizado no Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco – DEC/UFPE.

O sistema era constituído de três reatores em série, contínuos e em escala de bancada de fluxo ascendente voltados para a remoção de matéria orgânica e compostos nitrogenados via nitrito e via nitrato. Essa configuração do sistema combinado permitiu o monitoramento de processos biológicos para a remoção de carbono e nitrogênio que ocorrem separadamente em cada reator. O aparato experimental dos reatores é mostrado na Figura 03.

Figura 03 – Fotografia da instalação experimental nas dependências do LSA/UFPE



Fonte: Arquivo próprio (2014)

4.2 REATORES

O primeiro reator foi anaeróbio (ANA) com configuração de UASB; seguido de reator aeróbio (AE), para a nitrificação do efluente do reator ANA; e um reator anóxico (ANO), também com configuração de UASB, para desnitrificação sem a adição de doadores de elétrons externos, esse processo foi favorecido pela relação C/N em determinadas fases do experimento como será demonstrado posteriormente. Na Figura 04, pode-se observar o conjunto dos três reatores em série e em escala de bancada.

Figura 04 - Conjunto dos três reatores em série e em escala de bancada



Fonte: Arquivo próprio (2014)

Os reatores foram construídos com tubos do polímero Policloreto de Vinila – PVC, com altura de 0,60 m, diâmetro de 0,10 m perfazendo um volume útil de 4,71 L cada, e um total no sistema de 1,80 m de altura e 14,13 L de volume útil. As principais características dos reatores operados são apresentadas na Tabela 07.

Tabela 07 – Características operacionais dos reatores contínuos em série e em escala de bancada

	Reator ANA	Reator AE	Reator ANO
Configuração	UASB, anaeróbio	Reator aeróbio	UASB, anóxico
Inóculo	Biomassa de reator UASB – ETE Mangueira	Biomassa de reator em batelada sequencial da área experimental do LSA/UPE – ETE Mangueira	Biomassa de reator UASB – ETE Mangueira, após adição de solução para água sintética nitrificada
Volume total (L)	4,71	4,71	4,71
Função	Conversão de NTK em N-NH_4^+	Nitrificação via N-NO_2^- e via N-NO_3^-	Desnitrificação sem adição de doador de elétrons
Alimentação	Esgoto doméstico sintético	Efluente de ANA	Efluente de AE
Componentes principais do afluente	Matéria orgânica (DQO) e NTK	N-NH_4^+ e matéria orgânica residual	N-NO_2^- , N-NO_3^- e matéria orgânica residual
Componentes esperados no efluente	N-NH_4^+ , e matéria orgânica residual (DQO)	N-NH_4^+ , N-NO_2^- , N-NO_3^- e matéria orgânica residual (DQO)	Matéria orgânica residual (DQO), N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- residual

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

4.3 INÓCULO

As biomassas utilizadas nos reatores anaeróbio, aeróbio e anóxico foram provenientes da Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira – ETE Mangueira, localizada na Região Metropolitana do Recife-PE. O lodo da estação tem sido amplamente utilizado em pesquisas realizadas no LSA/UFPE (SILVA, 2004; MENDONÇA, 2009; SILVA, 2009; CAVALCANTI, 2011; MORAIS, 2011; SOUZA, 2013; MARINHO, 2015).

4.3.1 Reator aeróbio

O reator aeróbio recebeu uma inoculação com lodo proveniente de reator piloto em batelada sequencial, para remoção de nitrogênio. Esse reator piloto era operado na área experimental do LSA/UFPE, localizada na ETE Mangueira. O volume coletado do lodo aeróbio no dia 04 de agosto de 2014 às 9h foi de 10 L. A Figura 05 ilustra o lodo aeróbio coletado na estação.

Figura 05 – Lodo de inóculo coletado na ETE Mangueira para reator aeróbio



Fonte: Arquivo próprio (2014)

No laboratório, a biomassa nitrificante foi previamente oxigenada (com o uso de aerador para aquário modelo Jebo 660, com duas saídas de ar) e enriquecida com uma solução de cloreto de amônio e micronutrientes em uma sala de temperatura a 28 ± 2 °C. A solução de cloreto de amônio possuía concentração equivalente de 40 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ e era adicionada a cada 2 dias. A aclimação da biomassa é mostrada na Figura 06. O lodo aeróbio foi aclimatado por 9 dias antes da partida do sistema, com o intuito de aumentar a atividade bacteriana nas condições de inoculação. O material aeróbio inoculado possuía cerca de $4,0 \text{ g SSV.L}^{-1}$ e o volume adicionado ao reator foi de 1,5 L correspondente a cerca de 1/3 do reator.

Figura 06 – Enriquecimento da biomassa nitrificante



Fonte: Arquivo próprio (2014)

4.3.2 Reator anaeróbio e anóxico

O lodo de inóculo dos reatores anaeróbio e anóxico foi coletado no dia 12 de agosto de 2014 às 15h30min na célula 7, a uma altura de 2,5 m do reator UASB da ETE Mangueira, vide Figura 07. A célula 7 foi escolhida por estar disponível para coleta na ocasião. A coleta foi realizada manualmente com o uso balde plástico de 20 L e auxílio de um operador técnico da estação. Em seguida, o lodo foi acondicionado em galões de 5L e 2 L até a chegada ao LSA/UFPE. O volume total coletado foi de 7 L.

Figura 07 – Lodo do reator UASB/ETE Mangueira para inoculação no reator anaeróbio



Fonte: Arquivo próprio (2014)

No laboratório, o lodo foi decantado e posteriormente descartada, a parte sobrenadante. O lodo foi resuspendido utilizando água potável, homogeneizada novamente e após decantar, o sobrenadante foi desprezado novamente. Este procedimento foi feito até que o sobrenadante estivesse clarificado. O inóculo anaeróbio possuía aproximadamente $22,04 \text{ g SSV.L}^{-1}$ e o volume adicionado ao reator foi de 1,5 L correspondente a cerca de 1/3 do reator. O lodo anaeróbio do reator UASB – ETE Mangueira para inoculação do reator anóxico foi previamente enriquecido com 1L de água sintética nitrificada e 5 mL de solução de micronutrientes por um período de 24 horas, cujas composições (em concentração e percentual) estão apresentadas nas Tabelas 08 e 09.

Tabela 08 – Composição da água residuária sintética nitrificada

Componente	Concentração
Bicarbonato de sódio (NaHCO_3)	300 mg.L^{-1}
Fostato de potássio (KH_2PO_4)	36 mg.L^{-1}
Nitrito de sódio (NaNO_2)	49 mg.L^{-1}
Sulfato de sódio (Na_2SO_4)	11 mg.L^{-1}
Uréia (CON_2H_4)	9 mg.L^{-1}
Sais minerais	5 ml.L^{-1}

Fonte: Adaptado de Callado e Foresti (2000) e Garbossa (2006)

Tabela 09 – Composição da solução de micronutrientes

Componente	Concentração (g.L^{-1})
Ácido nitrilotriacético ($\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$)	12,800
Cloreto férrico ($\text{FeCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$)	1,350
Cloreto de sódio (NaCl)	1,000
Cloreto de níquel ($\text{NiCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$)	0,120
Cloreto de manganês ($\text{MnCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$)	0,100
Cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$)	0,100
Cloreto de zinco ($\text{ZnCl}_2\text{anidro}$)	0,100
Selenito de sódio ($\text{Na}_2\text{SeO}_3.5\text{H}_2\text{O}$)	0,026
Cloreto de cobre ($\text{CuCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$)	0,025
Cloreto de cobalto ($\text{CoCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$)	0,024
Molibdato de sódio ($\text{NaMoO}_4.2\text{H}_2\text{O}$)	0,024
Ácido bórico (H_3BO_3)	0,010

Fonte: Adaptado de Torres (1992) e Moura (2011)

4.4 ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA

O substrato utilizado nesta pesquisa foi sintético. A água residuária artificial possuía características semelhantes a um esgoto sanitário após tratamento preliminar (depois da remoção de sólidos e gordura). Assim, na Tabela 10 são mostrados os compostos empregados na preparação do meio sintético, sem a presença de lipídios.

Tabela 10 – Composição do substrato sintético

Fração orgânica	Componente	Concentração (mg.L⁻¹)
Fonte de proteína	Extrato de carne	208
	Sacarose (20%)	35
Fonte de carboidrato	Amido comercial (60%)	114
	Celulose em pó (20%)	34

Fonte: Adaptado de Torres (1992) e Moura (2011)

No preparo do esgoto artificial foi adicionado 2,5 mL de solução de sais para cada litro de substrato preparado. Também foi adicionado, bicarbonato de sódio ao meio sintético com a finalidade de manter uma concentração de 1 g NaHCO₃.L⁻¹ (MOURA, 2011). A composição da solução de sais minerais é apresentada na Tabela 11.

Tabela 11 – Composição da solução de sais minerais

Sais Minerais	Concentração (mg.L⁻¹)
NaCl	100000
MgCl ₂ .6H ₂ O	2800
CaCl ₂ .2H ₂ O	1800

Fonte: Torres (1992)

A solução de micronutrientes foi adicionada para suprir as necessidades nutricionais e promover o desenvolvimento dos micro-organismos no sistema. A composição da solução de micronutrientes foi mostrada na Tabela 09.

A caracterização físico-química e cromatográfica da água residuária artificial foi realizada para os mesmos parâmetros avaliados por Moura (2011) para um esgoto sintético sanitário, bem como, para um esgoto sanitário típico, de classificação fraca/média (SILVA e MARA, 1979; JORDÃO e PESSOA, 1995; GONÇALVES e SOUZA, 1997; METCALF & EDDY, 2003; VON SPERLING, 2005). Uma comparação entre a caracterização realizada pelos pesquisadores é apresentada na Tabela 12.

Tabela 12 – Comparação dos parâmetros físico-químicos e cromatográficas entre esgoto sintético, esgoto sanitário sintético e esgoto sanitário típico

Parâmetros	Esgoto sintético	Esgoto sintético (MOURA, 2011)	Esgoto típico	Referência
pH	7,5	7,7	6,7 – 7,5	Fernandes (1997), Von Sperling (2005) Silva e Mara (1979)
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	410	394	250 – 700	Gonçalves e Souza (1997), Metcalf & Eddy (2003)
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	630	606	300	Fernandes (1997)
NTK (mg N-NTK.L ⁻¹)	25	25	20 – 40	Jordão e Pessoa (1995), Gonçalves e Souza (1997), Metcalf & Eddy (2003)
N-NH ₄ ⁺ (mg N- N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	5	2,6	12 – 25	Fernandes (1997), Metcalf & Eddy (2003)
N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)	Não detectado*	Não detectado*	0 – 0,05	Jordão e Pessoa (1995), Gonçalves e Souza (1997)
N-NO ₃ ⁻ (mg N- NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	Não detectado*	4,4	0 – 0,20	Jordão e Pessoa (1995), Gonçalves e Souza (1997)

*Resultados abaixo da capacidade de detecção do método

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

4.4.1 Teste de degradação da matéria orgânica

É conhecido que a presença de nutrientes em um meio favorece o desenvolvimento da biomassa bacteriana (CONNOLLY e PEARSON, 2013; LIU *et al.*, 2014). Assim, antes da partida do sistema, foi realizado um teste simples para verificação da influência dos micronutrientes na degradação da matéria orgânica através do acompanhamento da DQO. Para tal, o preparo da água residuária sintética foi feito e apenas em uma das duas amostras foi acrescida à solução de micronutrientes. A cada 24h foi verificada a DQO dos substratos sintéticos preparados, com e sem micronutrientes, durante o período de quatro dias, quando a DQO do substrato sintético com micronutrientes apresentou valor abaixo de 400 mg.L⁻¹ (carga orgânica desejada, concentração de esgoto sanitário típico). Conforme é apresentado na Tabela 13, o resultado evidencia que a água residuária que sofreu adição dos micronutrientes teve a degradação da matéria orgânica mais acelerada quando comparada com a outra amostra (sem adição de micronutrientes), tal fato pode indicar que houve a aceleração da atuação dos

micro-organismos heterotróficos no consumo do carbono mediante a disponibilidade de nutrientes do meio.

Tabela 13 – Concentrações e desvios-padrão do teste de degradação da matéria orgânica presente na água residuária sintética (afluente) com e sem a adição de micronutrientes

Dia	DQO ($\text{mg O}_2\text{L}^{-1}$)	
	Sem micronutrientes	Com micronutrientes
0	494 $\pm$ 11	504 $\pm$ 10
1	489 $\pm$ 10	450 $\pm$ 10
2	475 $\pm$ 7	400 $\pm$ 6
3	472 $\pm$ 7	371 $\pm$ 7
4	457 $\pm$ 7	322 $\pm$ 7

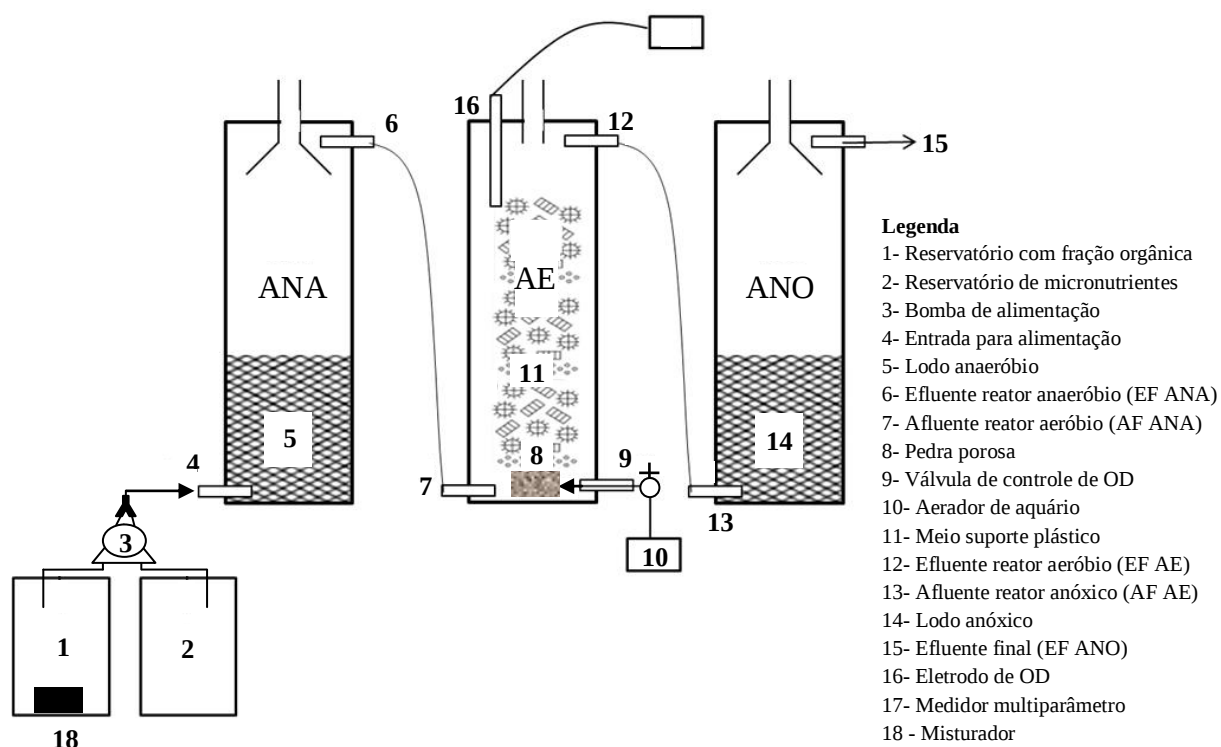
Fonte: Elaborada pela autora (2015)

Diante do exposto, o substrato artificial foi disponibilizado em dois reservatórios para alimentação do sistema, um com a fração orgânica + sais minerais e outro, com a solução de micronutrientes. O objetivo da dupla separação em recipientes foi de atenuar a depuração orgânica antes da entrada no conjunto de reatores.

4.5 ALIMENTAÇÃO DO SISTEMA

A troca da alimentação dos reatores foi realizada a cada coleta (feita três vezes por semana), não ultrapassando o período de dois dias para fins de análise, a fim de garantir a faixa característica de concentração de matéria orgânica no substrato. Após a troca da alimentação, a coleta era realizada em cada reator (anaeróbio, aeróbio e anóxico). Durante os finais de semana, foi preparado um volume maior de forma a garantir a continuidade de alimentação até a coleta seguinte. Foram utilizados 60 L de água filtrada (elemento filtrante de partículas sólidas com gramatura de 5 μ) no preparo do substrato (sendo 30 L para a fração orgânica e 30 L para a solução de micronutrientes) para o TDH = 7 h, 40 L para o TDH = 10 h e 80 L para o TDH = 5 h. O pH foi ajustado para a faixa do neutro (pH = 7), com adição de gotículas de ácido acético glacial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) na solução da fração orgânica. O esquema de funcionamento do sistema de reatores é apresentado na Figura 08.

Figura 08 – Desenho esquemático do funcionamento do sistema



Fonte: Arquivo próprio (2014)

Na alimentação do sistema de reatores, a água residuária sintética foi disponibilizada separadamente em dois reservatórios, sendo um o recipiente que continha a fração orgânica + os sais minerais, e o outro, a solução de micronutrientes, representados pelos pontos 1 e 2, respectivamente. No reservatório com a fração orgânica + os sais minerais foi utilizado um misturador submerso para evitar a precipitação do bicarbonato de sódio. A média de temperatura no interior da sala, em que os reatores foram operados situou na faixa de $28,5 \pm 2$ °C.

Para fins de cálculo, a coleta do afluente foi realizada apenas no reservatório que continha a fração orgânica, como também, considerou-se nula a presença de matéria orgânica, alcalinidade e nitrogênio total no reservatório que tinha a solução de micronutrientes. Aplicou-se a seguinte equação para calcular a mistura (fração orgânica + micronutrientes) após o Y, onde C = concentração após o Y; C1 = concentração na fração orgânica; V1 = volume na fração orgânica; C2 = concentração na solução de micronutrientes; V2 = volume na solução de micronutrientes:

$$C = \frac{C1.V1 + C2.V2}{V1 + V2}$$

As soluções dos reservatórios de alimentação foram succionadas através de mangueira de silicone transparente (diâmetro de 6,0 mm), por bomba dosadora peristáltica de 6 canais (modelo Hei-FLOW), como observado no ponto 3. Após a passagem pela bomba, as duas vias foram unificadas em única mangueira de alimentação por meio de uma conexão Y de 4,0 mm de diâmetro (ponto 4). Por via de bombeamento, o esgoto foi encaminhado ao ANA e seguiu por gravidade para o AE, ANO até a saída final. A coleta do efluente foi realizada em cada reator. No reator ANA, pela abertura superior, na altura do ponto 6; no R2, também pela abertura superior, na mediação do ponto 12; e no R3, na saída do efluente final (ponto 15). O volume de esgoto sintético retirado por reator (anaeróbio, aeróbio e anóxico) por coleta realizada foi cerca de 400 mL.

No ponto 10, o fornecimento de oxigênio para o reator aeróbio foi feito com compressor de ar, para aquário modelo Regent 8500 (com duas saídas de ar e vazão média de $0,7 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$). Na parte interna da base do reator aeróbio foi colocada pedra porosa conectada ao aerador, para promover a aeração constante da massa líquida, como se observa no ponto 8. Também foi colocado no interior do reator, meio suporte plástico, apenas com a finalidade de reter a biomassa e reduzir a perda de lodo.

A medição do oxigênio foi realizada por meio da inserção de sonda de OD de um medidor multiparâmetro portátil (marca *Hach*, modelo HQ40 D), pela abertura superior do AE.

4.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS

Os reatores foram operados por 216 dias em quatro fases operacionais, divididas cronologicamente em Fase 1, Fase 2, Fase 3 e Fase 4, nas quais se variou o TDH e a concentração de OD. A opção por se conduzir o trabalho em quatro etapas não foi pré-estabelecida, ou seja, durante a condução do experimento é que se puderam definir as mudanças de fase e dessa forma, seccionar a pesquisa em quatro partes. As características de cada fase aplicadas ao conjunto de reatores como o período de operação, o TDH (por reator), a vazão (Q), a Carga Orgânica Volumétrica (COV), a Carga de Nitrogênio Aplicada (CNA) e o OD (apenas no reator aeróbio) são apresentados na Tabela 14. Todo o experimento foi conduzido à temperatura ambiente (23–31 °C).

Tabela 14 - Condições operacionais aplicadas no sistema dos reatores em série para as Fases 1, 2, 3 e 4 (desvio-padrão em parênteses)

Fases	Tempo de operação (d)	TDH* (h)	Q (L.d ⁻¹)	COV (kg DQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	CNA (kg N.m ⁻³ .d ⁻¹)	OD** (mg O ₂ .L ⁻¹)
1	33	7	15,2	0,140 (±0,128)	0,024 (0,003)	0,5 – 1,2
2	63	10	10,1	0,146 (±0,018)	0,016 (0,003)	0,5 – 1,5
3	55	10	10,2	0,137 (±0,026)	0,016 (0,002)	1,1 – 2,1
4	57	5	18,6	0,303 (±0,047)	0,015 (0,002)	1,1 – 2,5

*Tempo de Detenção Hidráulica por reator. **Oxigênio Dissolvido apenas no reator aeróbio.

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

4.7 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

As coletas no afluente (AF) e efluente (EF) foram realizadas pela abertura superior de cada reator (anaeróbio, aeróbio e anóxico) três vezes por semana, totalizando 93 coletas no período de 216 dias. O monitoramento padrão diário foi um procedimento adotado para acompanhamento cotidiano de parâmetros *in loco* que precisavam estar ajustados para boa operação do sistema. Todos os dias de experimento (exceto fins de semana), os parâmetros descritos na Tabela 15 foram monitorados *online*. O medidor multiparâmetro utilizado foi da marca *Hach*, modelo HQ40 D.

Tabela 15 – Parâmetros monitorados diariamente por medição *online*

Parâmetro	Medição	Local
Vazão (L.h ⁻¹)	Medição direta (volume no tempo)	EF ANO
OD (mg.L ⁻¹)	Multiparâmetro portátil	Reatores: AE e ANO
Potencial Redox (mV)	Multiparâmetro portátil	AF e reatores: ANA, AE e ANO
Temperatura (°C)	Termômetro / multiparâmetro	Sala dos reatores/AF e reatores: ANA, AE e ANO
pH	Multiparâmetro portátil	AF e reatores: ANA, AE e ANO

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

As respostas esperadas quanto à remoção de matéria orgânica foram medidas em termos de DQO total (amostra bruta), todas as amostras foram realizadas em triplicata. As eficiências de remoção de nitrogênio, nitrificação e desnitrificação foram medidas em função de NTK, N-NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻.

As análises de DQO, alcalinidade, NTK, NH_4^+ e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) foram determinadas de acordo com os métodos padrão do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). No início de cada fase, recolheu-se amostra de 30 mL do lodo de cada reator (anaeróbio, aeróbio e anóxico) para análise de SSV. Nitrito e nitrato foram determinados por cromatografia de íons através do equipamento ICS 2100 da Dionex com amostrador automático (AS-DV). Na Tabela 16 estão apresentados os parâmetros, pontos, método e frequência monitorados.

Tabela 16 – Parâmetros, pontos de amostragem, método e frequência de monitoramento

Parâmetro	Pontos de amostragem	Método	Frequência
Alcalinidade total ($\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Titulométrico	2 x por semana
DQO total ($\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}$)	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Colorimétrico	2 x por semana
N-NH_4^+ ($\text{mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$)	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Titulométrico	2 x por semana
N-NO_2^- (mg N.L^{-1})	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Cromatografia	5 x por semana
N-NO_3^- (mg N.L^{-1})	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Cromatografia	5 x por semana
N-NTK (mg N.L^{-1})	AF e reatores: ANA, AE e ANO	Titulométrico	2 x por semana
SSV (mg SSV.L^{-1})	Reatores: ANA, AE e ANO	Gravimétrico	1 x por semana

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

4.8 ANÁLISE DE BIOLOGIA MOLECULAR

No dia 13 de agosto de 2014 foi tomada alíquota do lodo aeróbio e anaeróbio e congeladas a -20 °C para caracterização e realização de testes de Biologia Molecular: extração do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) Genômico, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e DGGE. Todos os testes foram executados na ala de Biologia Molecular do LSA – BIOMOL/LSA.

No início de cada fase o procedimento de coleta e congelamento de amostra foi repetido para os reatores: ANA, AE e ANO. Apenas na Fase 1, os valores do ANA foram repetidos para o ANO por se tratar do mesmo lodo de inóculo.

4.8.1 Extração do DNA genômico

O DNA foi extraído por meio da utilização do kit comercial Power Soil™ DNA Isolation Kit MO BIO laboratórios. Inc. Na Tabela 17 é apresentada a quantidade de amostra coletada nas Fases 1, 2, 3 e 4 para essa análise. Após o procedimento de pesagem das frações de biomassa de cada fase, as amostras foram adicionadas aos tubos *PowerBead* fornecidos pelo fabricante e adotado o respectivo protocolo para extração.

Tabela 17 – Amostras do lodo dos reatores do sistema utilizadas para extração do DNA em cada fase

Data	Fase	Amostras	Quantidade (g)
13/08/14	1	Reator AE	0,2509
		Reatores: ANA e ANO	0,2511
26/11/14	2	Reator AE	0,2530
		Reator ANA	0,2517
		Reator ANO	0,2508
20/01/15	3	Reator AE	0,2601
		Reator ANA	0,2519
		Reator ANO	0,2627
30/03/15	4	Reator AE	0,2726
		Reator ANA	0,2788
		Reator ANO	0,2739

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

Concluído o processo de extração, o DNA foi quantificado com o auxílio de um espectrofotômetro (Nanodrop) com a aplicação de 1 µL da amostra no equipamento. O resultado alcançado foi a concentração final de DNA, conforme Tabela 18. Depois de quantificadas, as amostras com extrato de DNA foram armazenadas a -20 ° C até à análise.

Tabela 18 – Concentração final de DNA no lodo dos reatores do sistema das Fases 1, 2, 3 e 4, as respectivas amostras e os fatores de purificação correspondentes ($A_{260/280}$ e $A_{260/230}$)

Data	Fase	Amostras	ng. μL^{-1}	$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
13/08/14	1	Reator AE	12,9	1,51	0,91
		Reatores: ANA e ANO	9,5	1,69	0,90
26/11/14	2	Reator AE	22,3	1,30	0,96
		Reator ANA	12,5	1,67	0,88
		Reator ANO	19,4	1,70	0,84
20/01/15	3	Reator AE	11,9	1,71	0,84
		Reator ANA	11,5	1,68	0,87
		Reator ANO	16,2	1,83	0,77
30/03/15	4	Reator AE	12,5	1,55	0,90
		Reator ANA	16,2	1,66	0,87
		Reator ANO	21,5	1,68	0,88

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

4.8.2 Reação em Cadeia da Polimerase – PCR

A PCR é uma ferramenta qualitativa que indicará a presença/ausência de população de micro-organismos em uma determinada amostra. Indicadores específicos (*primers*) para BON (*Nitrospira*), BOA, Bactérias Desnitrificantes – BD, *Anammox* e *Archaea* foram empregados como mostrado na Tabela 19.

Tabela 19 – Grupos de micro-organismos e respectivos indicadores utilizados para testes de Biologia Molecular

Grupo alvo	Primers
BON (<i>Nitrospira</i>)	NTS232F/1200R
BOA	NSO190F/1225R
BD	NirS 2F -GC/NirS 3R
<i>Anammox</i>	368F-GC/820R
<i>Archaea</i>	1100F-GC/1400R

Fonte: Elaborada pela autora (2015)

Na técnica de PCR aplicada foram usados os tampões: TE – Tris-EDTA (10 mM Tris-HCl y 1,0 mM EDTA, pH 7,5 – 8,0); TAE – Tris-Acético-EDTA (80 mM Tris base, 2,0 mM EDTA, 40 mM); e Acetato de sódio – CH_3COONa (pH 7,4). Na Tabela 20, os modelos e soluções empregados são mostrados.

Tabela 20 – Modelos e soluções aplicadas na PCR

Modelo	Soluções
Invitrogen (Life Technologies)	Tampão de reação 10x
Invitrogen (Life Technologies)	Mg ⁺²
New England Biolabs (N04465)	DNTPs
Invitrogen (Life Technologies)	NTS232F/1200R
Invitrogen (Life Technologies)	NSO190F/1225R
Invitrogen (Life Technologies)	NirS 2F -GC/NirS 3R
Invitrogen (Life Technologies)	1100F-GC/1400R
Invitrogen (Life Technologies)	368F-GC/820R
Platinum Taq. DNA Polymerase Invitrogen (Life Technologies)	Taq. Polimerase

Fonte: Adaptado de SANTOS (2014)

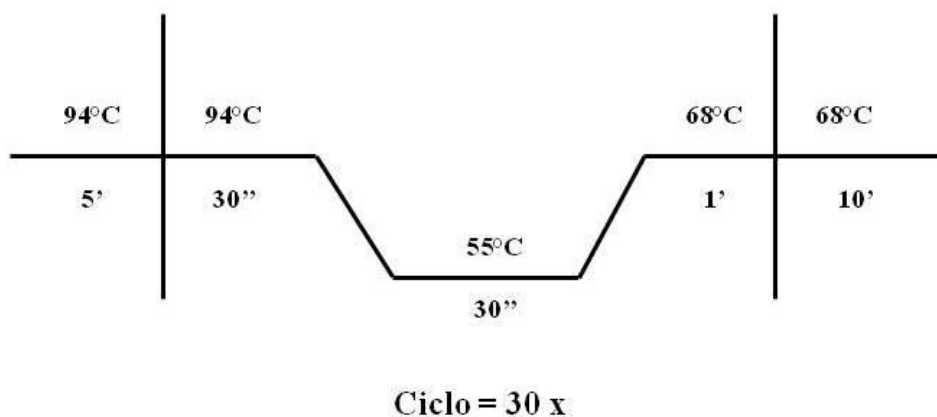
A amplificação do DNA requer preparo e cálculo quanto à concentração das soluções utilizadas na técnica da PCR. O *primer* para o domínio *Bacteria (Nitrospira)* foi utilizado para sete pontos: seis amostras + controle negativo (CN). Os elementos empregados na mistura preparada para amplificação da PCR estão expostos na Tabela 21. Esta combinação foi aplicada para cada um dos sete pontos amostrais.

Tabela 21 – Elementos usados no preparo da mistura para amplificação da PCR para Domínio *Bacteria (Nitrospira)*

Solução	Concentração por reação (x1)	Concentração estoque (x6)
10 x Buffer (tampão)	5 µL	35 µL
Mg ⁺² 50 mM	2 µL	14 µL
DNTPs 10Mm	1 µL	7 µL
NTS 232F	2 µL	14 µL
NTS 1200R	2 µL	14 µL
DNA 10 ng/µL	0,8 µL	5,6 µL
Taq. Polimerase 5U/µL	0,2 µL	1,4 µL
Água ultra-pura	36,8 µL	257,6 µL
Volume final	49,8 µL	348,6 µL

Fonte: Adaptado de SANTOS (2014)

As condições de amplificação de PCR empregadas para os iniciadores (*primers*), no domínio *Bacteria (Nitrospira)*, são apontadas na Figura 09.

Figura 09 – Condições de amplificação de PCR para domínio *Bacteria* (*Nitrospira*)

Fonte: Adaptado de SANTOS (2014)

O *primer* para o domínio *Archaea* também foi aplicado para sete pontos: seis amostras + CN. Na Tabela 22 é demonstrado o cálculo da concentração necessária por reação e a concentração estoque para a totalidade de pontos amostrais.

Tabela 22 – Planejamento da PCR para Domínio *Archaea*

Solução	Concentração por reação (x1)	Concentração estoque b (x7)
10 x Buffer (tampão)	5 µL	35 µL
Mg ⁺² 50 mM	2 µL	14 µL
DNTPs 10Mm	1 µL	7 µL
1100F-GC	2 µL	14 µL
1400R	2 µL	14 µL
DNA 10 ng/µL	1 µL	7 µL
Taq. Polimerase 5U/µL	0,2 µL	1,4 µL
Água ultra-pura	36,8 µL	257,6 µL
Volume final	50 µL	350 µL

Fonte: Adaptado de SANTOS (2014)

Na Tabela 23 é mostrada a totalidade dos pares de *primers* empregados nas amplificações realizadas nas amostras das Fases 1, 2, 3 e 4.

Tabela 23 – Totalidade de indicadores utilizados nas amplificações para PCR

Domínio	Primers	Sequência (5' → 3')	Referência		
Bacteria	NTS	232F	GCTCATGTCTCTATCAGCTTG	Lim <i>et al.</i> (2008)	
		1200R	AGGCATAAAGGCCATGCTG		
	NOS	190F	GGAGAAAAGCAGGGGATCG	Hikuma <i>et al.</i> (2002)	
		1225R	CGCCATTGTATTACGTGTGA		
	Nir	S2F-GC	TACCACCCCGAGCCGCGCGT	Nittami <i>et al.</i> , (2003); Shoji <i>et al.</i> , (2006)	
		S3R	GCCGCCGTCGTGCAGGAA		
	Anammox	368F-GC	TCACAAGAACTAGGGCTTAGTGAAACCC	Yamaki <i>et al.</i> , (2004)	
		820R	AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC		
	Archaea	Archaea	1100F-GC	AACCGTCGACAGTCAGGYAACGAGCGAG	Kudo <i>et al.</i> , (2007)
			1400R	CGGCGAATTCGTGCAAGGAGCAGGGAC	

Fonte: Adaptado de RENTERIA (2012)

A interpretação do resultado da PCR se dá pela presença (resultado positivo) ou ausência (resultado negativo) de bandas no gel. O dado afirmativo indica presença do gênero ou espécie alvo da investigação na amostra, enquanto que a informação contrária sugere que a classe analisada estava abaixo do limiar de detecção da técnica ou ausente na amostra estudada.

4.8.3 Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante – DGGE

A técnica da DGGE foi aplicada em amostras amplificadas pela PCR. A DGGE tem como fundamento a eletroforese dos fragmentos de DNA, em gel de poliacrilamida com gradiente linear de desnaturação. Na avaliação das amostras dessa pesquisa, o método foi aplicado conforme descrição de Muyzer *et al.* (1993).

Os equipamentos e os respectivos modelos empregados nos procedimentos da PCR e DGGE estão descritos na Tabela 24. Posteriormente a verificação do processo da DGGE, as bandas das amostras foram preservadas com o objetivo de reamplificação e envio para sequenciamento.

Tabela 24 - Referência dos equipamentos aplicados na PCR e DGGE

Equipamentos	Modelo
Capturador de Imagens	L-Pix-St – Loccus dos Brasil
Centrífuga	351R – MPW
DGGE	Universal mutation detection system – DCODE™
Espectrofotômetro	Nanodrop 2000 – Thermo scientific
Kit de extração do DNA	PowerSoil™ DNA Isolation Kit – MOBIO
Pipetas automáticas	Labmate Soft – HT polônia
Termociclador	My cycler – Bio Rad
Transiluminador	UVP
Vortex	Genie 2

Fonte: Adaptado de SANTOS (2014)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os dados obtidos durante toda a fase experimental do sistema de reatores de bancada para remoção de carbono e nitrogênio. O período de operação do experimento foi de 216 dias, dividido em 4 fases, cujas variáveis aplicadas foram a concentração de OD e o TDH. Os resultados desse acompanhamento estão descritos na Tabela 25.

Tabela 25 – Condições operacionais aplicadas ao sistema de reatores nas Fases 1, 2, 3 e 4

Fases	Tempo de operação (d)	TDH_R (h)*	Q (L.d⁻¹)	OD (mg.L⁻¹)**
1	33	7	15,2	0,5 – 1,2
2	63	10	10,1	0,5 – 1,5
3	55	10	10,2	1,1 – 2,1
4	57	5	18,6	1,1 – 2,5

* TDH_R = TDH de cada reator. **OD = Oxigênio Dissolvido fornecido apenas no reator aeróbio.

Na Fase 1, operada por 33 dias, foi estabelecido um TDH para o sistema de 21 h (7 h para cada reator), com fornecimento de OD de 0,5–1,2 mg O₂.L⁻¹ no reator aeróbio, de modo a observar o comportamento do experimento a partir dessas condições operacionais aplicadas

quanto à remoção de carbono e nitrogênio. A partir dos resultados alcançados (vide Tabela 25) na Fase 1, a faixa de concentração do OD foi mantida na Fase 2 (reator aeróbio) e o TDH do sistema aumentado para 30 h (10 h para cada reator). Na Fase 3, manteve-se o TDH do conjunto de reatores em 30 h e a concentração de OD foi elevada para 1,1–2,1 mgO₂.L⁻¹ no reator aeróbio. Finalmente, na Fase 4, o OD permaneceu na faixa de concentração da Fase 3 (reator aeróbio) e o TDH foi reduzido para 15 h. Os resultados obtidos em cada fase de acordo com os parâmetros analisados estão explicados a seguir.

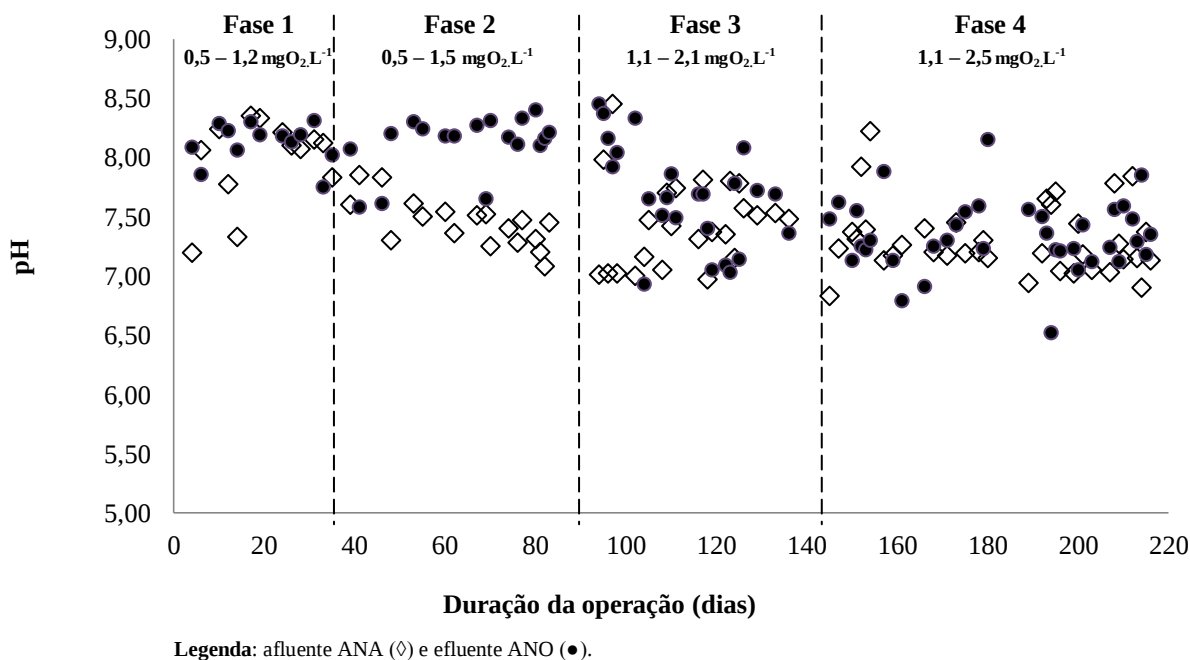
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.1.1 Potencial hidrogeniônico – pH

O valor médio ajustado para o pH afluyente (reator ANA) do sistema, durante as 4 fases do período experimental foi de 7,5 (com valor médio mínimo de 7,2 e máximo de 7,8), o que representa um pH característico de esgoto sanitário (METCALF & EDDY, 2003; VON SPERLING, 2005; CAMPOS *et al.*, 2006). O pH afluyente e efluente do sistema de reatores apresentou pequena faixa de variação no período de execução do experimento, conforme Figura 10.

O pH efluente do sistema (reator ANO) mostrou média de 7,7 (com valor médio mínimo de 7,4 e máximo de 8,0) nas 4 fases. Esses valores indicam que o efluente final esteve de acordo com a legislação vigente, a Resolução CONAMA N°. 430/11, que para fins de lançamento nos corpos receptores estabelece que o pH esteja no intervalo de 5 a 9. Na Figura 10 é mostrada a variação do pH afluyente e efluente do sistema de reatores por fase no período de monitoramento do sistema.

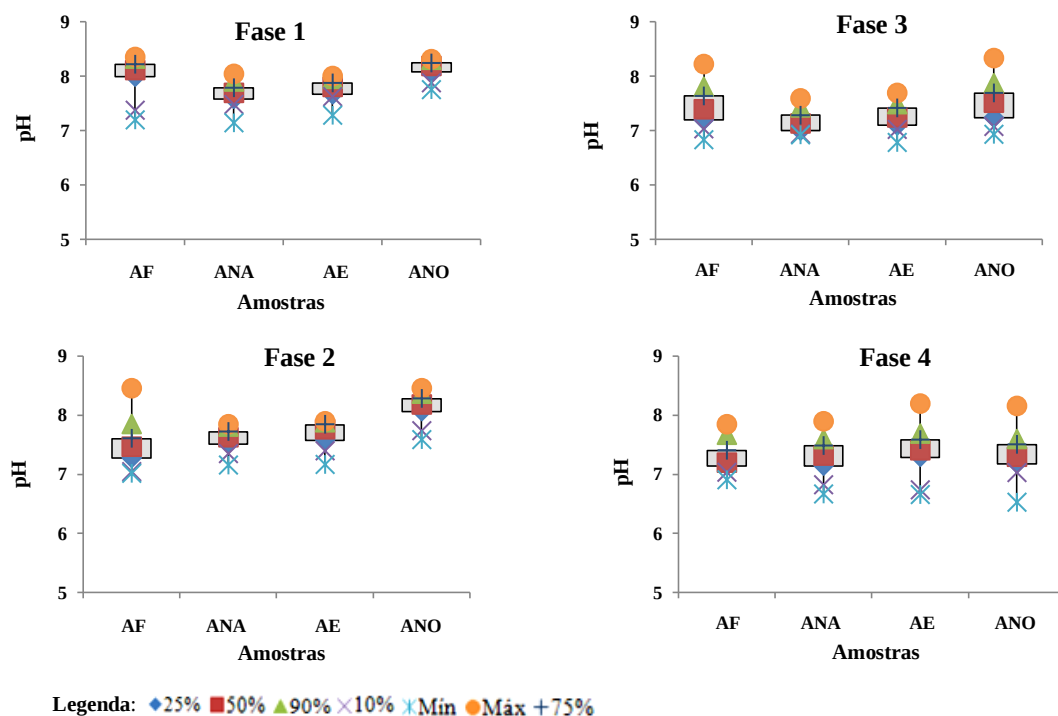
Figura 10 – Variação do pH afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema de reatores nas Fases 1, 2, 3 e 4



Durante todas as fases no sistema, o valor médio do pH efluente do reator anaeróbio foi de 7,4 (com valor médio mínimo = 7,2 e máximo = 7,7); do reator aeróbio, 7,5 (com valor médio mínimo = 7,3 e máximo = 7,7); e do reator anóxico, 7,7 (com valor médio mínimo = 7,4 e máximo = 8,0). O valor apresentado para o reator ANA está em consonância com Tong *et al.* (2015), que afirma que o pH em reatores anaeróbios se encontra na faixa do neutro.

Na digestão anaeróbia, o intervalo de pH ótimo é o resultado das variadas reações que acontecem no processo e influencia a atividade dos micro-organismos, assim a faixa de pH recomendada para as BOA deve permanecer de 7,3-8,0 (SPINOLA, 2009), a fim de favorecer a rota de N-NTK a N-NH₄⁺. Para nitrificação e desnitrificação, Gerardi (2006) afirma que o pH deve estar entre 6,2-7,8; e Spinola (2009), entre 6,5-7,5, respectivamente; bem como, a faixa ótima para as BON está no intervalo de 7,2-7,6. Diante dos valores observados nos reatores (ANA, AE e ANO) durante as Fases 1, 2, 3 e 4 pode-se inferir que na maior parte do processo estiveram na faixa ótima de pH para estimular o crescimento de bactérias nitrificantes e desnitrificantes conforme a USEPA (1993) e Surampalli *et al.* (1997). Na Figura 11 é exposto o intervalo do pH por fase nos reatores ANA, AE e ANO.

Figura 11 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação do pH afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4



A ocorrência de variações graduais e pouco acentuadas do valor de pH ao longo de todo o período experimental nos reatores ANA, AE e ANO, pode indicar a presença de alcalinidade suficiente nos reatores, com condições favoráveis para o adequado desempenho da digestão anaeróbia (SILVEIRA, 2009), isto é, no sistema de reatores evidenciou-se características próprias de tamponamento. Na Tabela 26 é apresentado o resumo dos valores de pH monitorados nos reatores ANA, AE e ANO em cada fase do processo.

Tabela 26 - Resumo estatístico do pH afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4

Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
1	AF	12	7,6	8,0	8,4	0,4
	ANA		7,5	7,7	7,9	0,2
	AE		7,6	7,8	8,0	0,2
	ANO		7,8	8,0	8,2	0,2
2	AF	24	7,2	7,5	7,8	0,3
	ANA		7,4	7,6	7,8	0,2
	AE		7,5	7,7	7,9	0,2
	ANO		7,8	8,0	8,2	0,2
3	AF	27	7,1	7,4	7,7	0,3
	ANA		7,0	7,2	7,4	0,2
	AE		7,0	7,2	7,4	0,2
	ANO		7,2	7,5	7,8	0,3
4	AF	29	7,1	7,3	7,5	0,2
	ANA		7,0	7,3	7,6	0,3
	AE		7,1	7,4	7,7	0,3
	ANO		7,0	7,3	7,6	0,3

5.1.2 Alcalinidade parcial, intermediária e total

O acompanhamento sistemático da alcalinidade é ainda mais determinante que a verificação do pH nos reatores anaeróbios. Isso ocorre devido à escala logarítmica do pH, significando que variações mínimas desse parâmetro acarretam o consumo de alta quantidade de alcalinidade, atenuando o potencial de tamponamento no meio. Assim, a alcalinidade contribui diretamente no processo anaeróbio através da manutenção do pH no intervalo demandado pela população metanogênica, uma vez que, a digestão de substratos complexos produz ácidos orgânicos que precisam ser tamponados (DAVISON e WOOF, 1990; FORESTI *et al.*, 1999; PESCADOR, 2001; BARCELOS, ZINATIZADEH *et al.*, 2009).

A concentração média de alcalinidade parcial no afluente (ANA) nas Fases 1, 2, 3 e 4 foi de 192 (± 10) mg CaCO₃.L⁻¹, 132 (± 19) mg CaCO₃.L⁻¹, 134 (± 15) mg CaCO₃.L⁻¹ e 142 (± 24) mg CaCO₃.L⁻¹. Os valores médios no efluente (ANA) foram de 126 (± 15) mg CaCO₃.L⁻¹, 107 (± 10) mg CaCO₃.L⁻¹, 97 (± 11) mg CaCO₃.L⁻¹ e 107 (± 10) mg CaCO₃.L⁻¹ em cada fase.

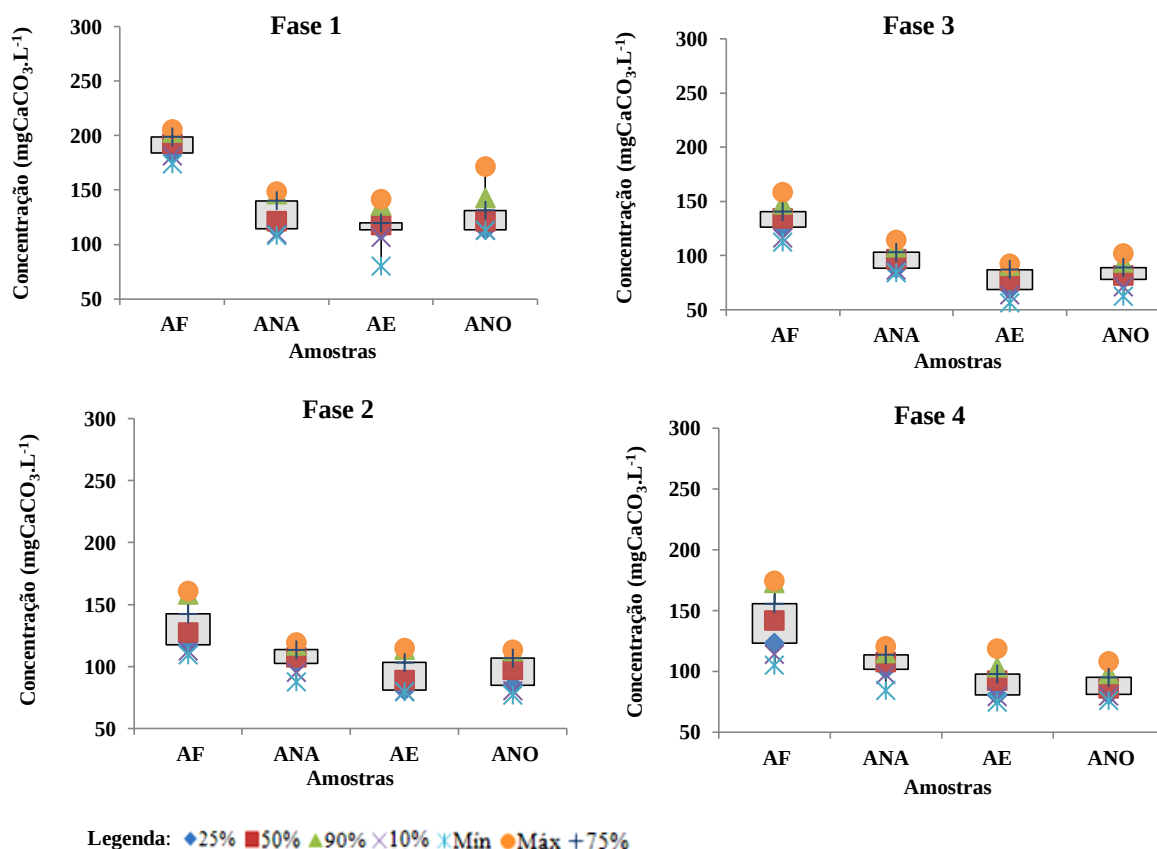
A concentração média de alcalinidade intermediária no afluente (ANA) nas Fases 1, 2, 3 e 4 foi de 234 (± 13) mg CaCO₃.L⁻¹, 172 (± 17) mg CaCO₃.L⁻¹, 167 (± 11) mg CaCO₃.L⁻¹ e 175 ($\pm$

20) mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. Os valores médios no efluente (ANA) foram de $147 (\pm 15)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $129 (\pm 8)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $121 (\pm 6)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ e $121 (\pm 14)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ em cada fase.

A concentração média de alcalinidade total no afluente (ANA) nas Fases 1, 2, 3 e 4 foi de $213 (\pm 10)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $152 (\pm 17)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $150 (\pm 12)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ e $158 (\pm 22)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. Os valores médios no efluente (ANA) foram de $137 (\pm 14)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $118 (\pm 9)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, $109 (\pm 8)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ e $114 (\pm 7)$ mg $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ em cada fase. No processo anaeróbio a alcalinidade é consumida ou produzida, dependendo das características do substrato e da atuação dos micro-organismos. A presença de altos índices de alcalinidade pode estar relacionada a reações de amonificação ou mineralização do nitrogênio orgânico; através desses processos a amônia e carbono inorgânico são disponibilizados ao ambiente (DIAS *et al.*, 2008; OLIVEIRA, 2010). A partir dos dados apresentados, verifica-se que houve o consumo de alcalinidade, que pode indicar a produção de AGVs ou ainda o acúmulo de hidrogênio (HARPER e POHLAND, 1986; AQUINO e CHERNICHARO, 2005).

A alcalinidade é consumida como parte do processo de nitrificação autotrófica, pois são liberados íons de hidrogênio quando a amônia é convertida em nitrato, enquanto que a produção da alcalinidade ocorre pela atuação das desnitrificantes heterotróficas (MODIN *et al.*, 2011; ANDALIB *et al.*, 2012). Assim o reator AE tem naturalmente a tendência de consumir alcalinidade, enquanto que o ANO, de gerar. Tal situação foi verificada na análise dos dados do conjunto experimental para esse parâmetro, como é possível observar na Figura 12.

Figura 12 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação da alcalinidade parcial no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4



O valor médio de consumo de alcalinidade parcial (diferença entre alcalinidade parcial do efluente do ANA com a alcalinidade parcial do efluente do AE) no reator AE em cada uma das fases foi 10 mg CaCO₃.L⁻¹, 13 mg CaCO₃.L⁻¹, 20 mg CaCO₃.L⁻¹ e 15 mg CaCO₃.L⁻¹. No reator ANO das Fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente, a concentração média de produção de alcalinidade parcial (diferença entre alcalinidade parcial do efluente do ANO com a alcalinidade parcial do efluente do AE) foi 9 mg CaCO₃.L⁻¹, 3 mg CaCO₃.L⁻¹, 6 mg CaCO₃.L⁻¹ e -3 mg CaCO₃.L⁻¹. Embora, a maior concentração média na produção de alcalinidade tenha sido observada na Fase 1, não significa que esta fase foi a que apresentou o melhor desempenho de desnitrificação quando consideradas as outras variáveis em todo período experimental, uma vez que, houve a geração de maior alcalinidade nessa fase por conta da baixa taxa de nitrificação. O valor negativo observado na concentração média de produção de alcalinidade do reator ANO na Fase 4 sugere que houve o consumo de toda alcalinidade presente ao invés da sua produção. Os teores de alcalinidade obtidos refletem, em parte, o que

ocorreu em termos de nitrificação e desnitrificação em cada uma das fases experimentais. Os valores obtidos estão demonstrados na Tabela 27.

Tabela 27 - Resumo estatístico da variação de alcalinidade parcial ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4

Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
1	AF	10	174	192	206	10
	ANA		108	126	148	15
	AE		80	117	141	16
	ANO		113	126	171	18
2	AF	8	109	132	161	19
	ANA		89	107	119	10
	AE		80	93	115	14
	ANO		77	96	114	14
3	AF	8	112	134	158	15
	ANA		84	97	114	11
	AE		56	77	92	12
	ANO		62	83	102	12
4	AF	9	105	142	174	24
	ANA		84	107	121	10
	AE		75	91	119	14
	ANO		76	88	108	10

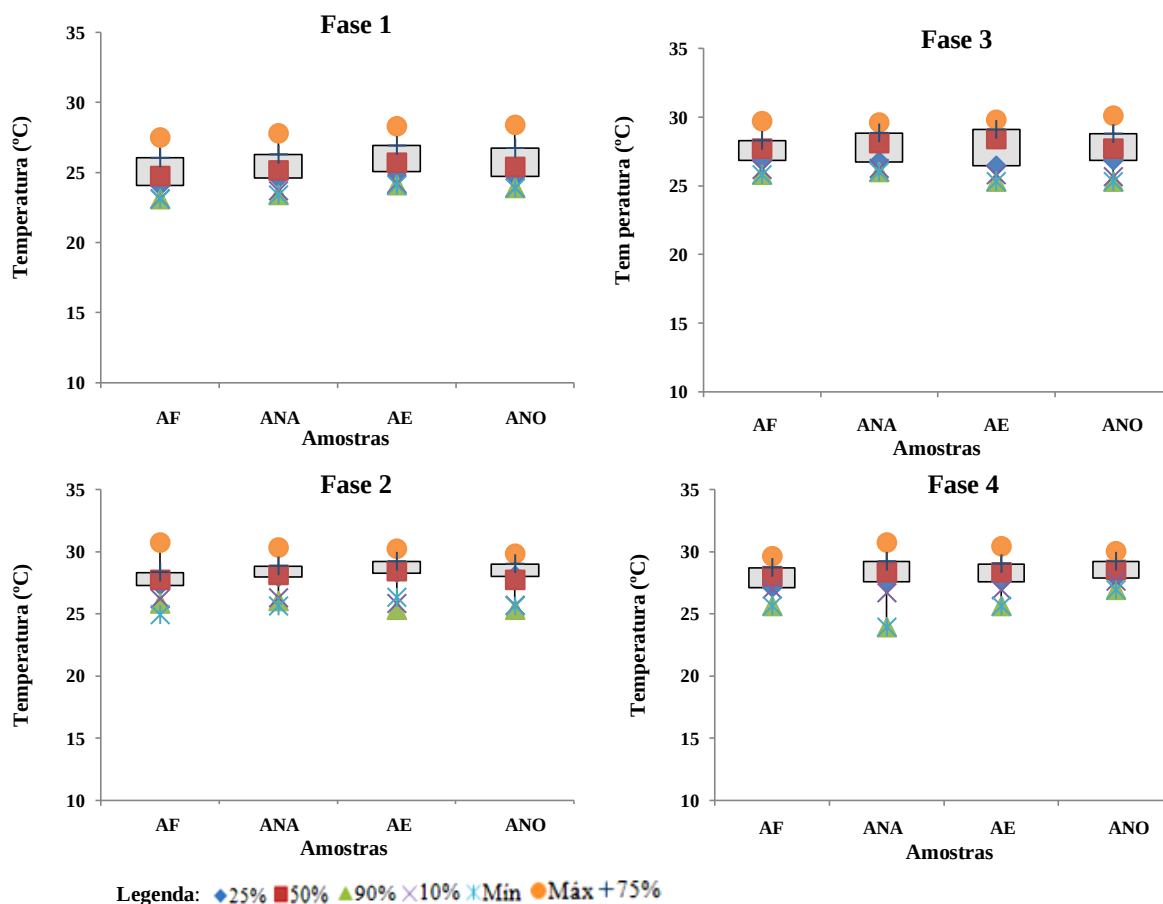
O mecanismo de remoção do carbono orgânico acontece por meio de degradação aeróbia. O carbono inorgânico sob formato de alcalinidade e minerais é consumido via nitrificação e produzido no processo de desnitrificação (ANDALIB *et al.*, 2012). Com isso, pode-se verificar que na Fase 3 ocorreu consumo de alcalinidade no reator AE com um valor médio de $28 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. A Fase 3 foi a que mais nitrificou o nitrogênio presente no sistema. Na Tabela 27, a variação de alcalinidade no afluente e efluente dos reatores ANA, AE e ANO em cada fase é apresentada.

5.1.3 Temperatura

No afluente e efluente do sistema de reatores, a temperatura média nas Fases 1, 2, 3 e 4 foi de 27°C (mínima = 23°C) e 28°C (mínima = 24°C) e máximas de 31°C para ambos, como pode ser verificado na Figura 13. Os grupos bacterianos podem ser inclusos em três categorias primárias em relação à temperatura: as psicrófilas, com temperatura ótima de crescimento de 10°C ; as mesófilas, com temperatura ótima entre 25°C e 40°C e as termófilas, com a temperatura ótima variando de 50°C a 60°C (LETTINGA *et al.*, 2001; WEBER, 2006; GOMEZ, 2010). Como a variação de temperatura no sistema foi de 23°C a 31°C pode-se

inferir que as bactérias atuantes no processo de remoção de carbono e nitrogênio foram da classe das mesófilas durante o período experimental.

Figura 13 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação da temperatura (°C) no afluente (AF) e efluente em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4



A temperatura verificada durante o período experimental apresentou pequenas variações, mantendo-se constante na maior parte do experimento, não submetendo o sistema a variações bruscas, o que foi ótimo para o desempenho do sistema quanto a esse parâmetro. Essa estabilidade é importante nos sistemas biológicos, pois as velocidades das reações bioquímicas e a fração dos sólidos orgânicos que pode ser metabolizada no processo da digestão anaeróbia são diretamente afetadas pela temperatura (LAY *et al.*, 1997; UEMURA e HARADA, 2000; WEBER, 2006; MARTINEZ-SOSA *et al.*, 2011). Conforme Pescador (2001) e Silveira (2009), mais importante que a manutenção de um reator no intervalo ótimo de temperatura, é mantê-lo a uma temperatura constante, uma vez que oscilações bruscas desfavorecem a eficiência do processo.

O valor médio de temperatura do sistema (obtido pelas médias das temperaturas das 4 Fases no afluente e efluente dos reatores ANA, AE e ANO) foi de 27 °C. A eficiência de remoção de DQO total (bruta/filtrada) nas fases 1, 2, 3 e 4 foi de 81%, 89%, 91% e 90%, respectivamente. Tal fato pode indicar a influência positiva e determinante da temperatura na remoção da matéria orgânica. De acordo com Han *et al.* (1997) e Sung e Santha (2003) a maior parte da digestão sucede na etapa mesófila. Martinez-Sosa *et al.* (2011) afirmam, em condições de mesófilas a 27°C, eficiências de remoção de DQO são sempre próximas de 90%. Os dados de mínimo, média, máximo e desvios-padrão da variação de temperatura no afluente e efluente dos reatores (ANA, AE e ANO) no decorrer do experimento são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28 - Resumo estatístico da variação de temperatura (°C) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4

Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
1	AF	12	24	25	26	1
	ANA		24	25	26	1
	AE		25	26	27	1
	ANO		25	26	27	1
2	AF	24	27	28	29	1
	ANA		27	28	29	1
	AE		27	28	29	1
	ANO		27	28	29	1
3	AF	27	27	28	29	1
	ANA		27	28	29	1
	AE		27	28	29	1
	ANO		27	28	29	1
4	AF	29	27	28	29	1
	ANA		27	28	29	1
	AE		27	28	29	1
	ANO		28	29	30	1

A temperatura do efluente dos reatores (ANA, AE e ANO) em todas as fases experimentais também atendeu a legislação vigente no país (Resolução CONAMA N° 430/11), que estabelece o índice de temperatura a 40°C mais a variação de temperatura do corpo receptor que não deve exceder a 3°C no limite da zona de mistura.

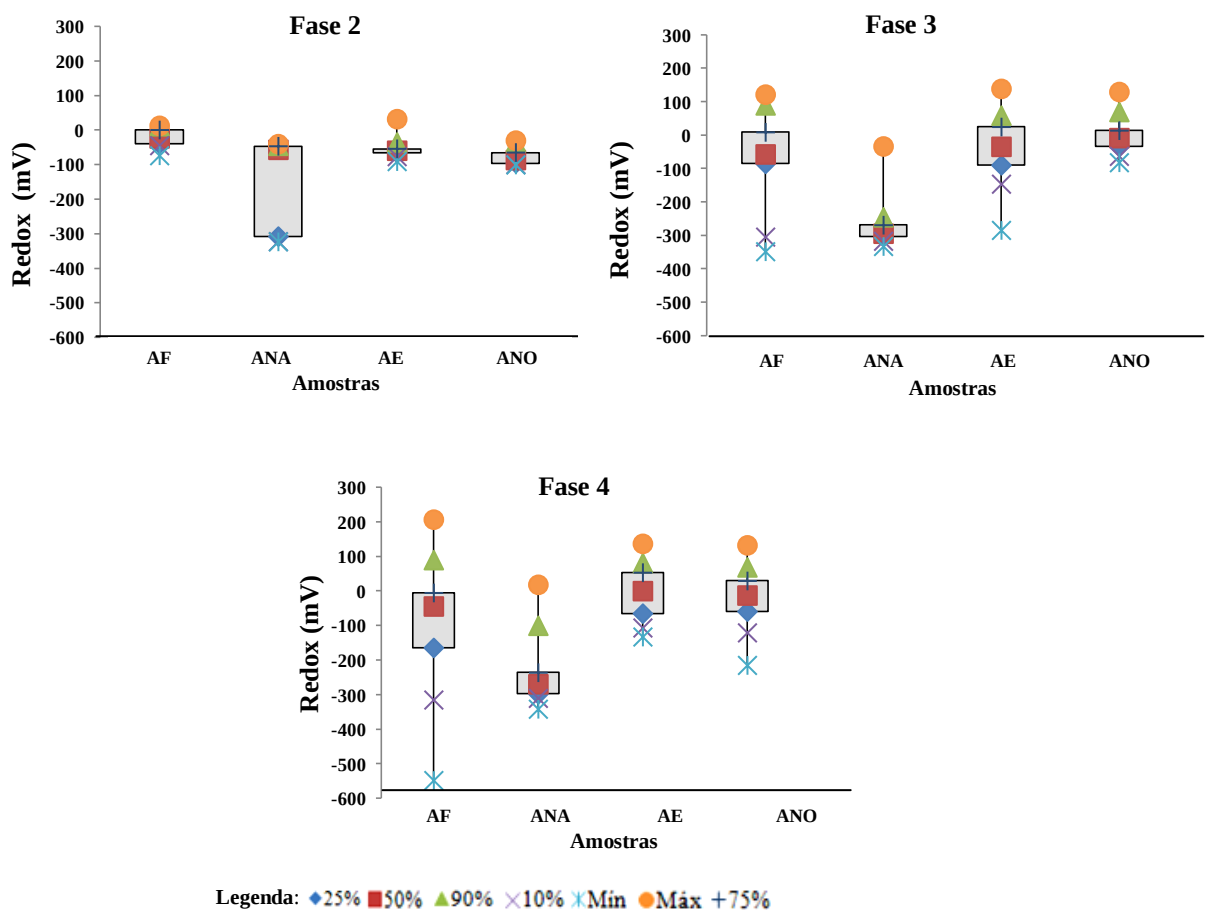
5.1.4 Potencial de Oxirredução

O potencial de oxirredução (redox) foi monitorado no afluente e no efluente dos reatores (ANA, AE e ANO) em todas as fases, exceto na primeira etapa do experimento. O valor médio do redox foi de -58 mV, para o AF; -225 mV para o reator ANA; -34 mV para o reator

AE; e -32 mV para o reator ANO no decorrer da experiência. O monitoramento do redox é fundamental para a boa execução dos processos anaeróbios, uma vez que índices elevados do redox é uma indicação de entrada de oxigênio no ambiente, causa de toxicidade para as bactérias metanogênicas (ZAYED E WINTER, 2000; PEREIRA-RAMIREZ *et al.*, 2004). Dessa forma, o redox tem a capacidade de indicar o ambiente oxidante ou redutor do sistema.

Através da limitação do oxigênio fornecido ao sistema no reator aeróbio (microaeração), pode-se inferir que houve o favorecimento de um ambiente mais redutor que oxidante. Na Figura 14 estão expostos os valores de redox obtidos no período experimental.

Figura 14 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação da potencial redox (mV) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4



Na Tabela 29 são apresentados os índices médios alcançados para o reator ANA nas fases 2, 3 e 4 de -155,6 mV, -274,6 mV e -243,9 mV, respectivamente. Mesmo diante das oscilações ocorridas no experimento, os valores estiveram em uma faixa adequada para o bom

funcionamento da digestão anaeróbia conforme Vitorato (2004), Gerardi (2006) e Silveira (2009). Esses autores afirmam que o redox ideal para o processo aeróbio deve ser +50 mV a -50 mV e para o anaeróbio < -300 mV. Ribeiro (1999) avaliou que o potencial redox normal para uma boa digestão anaeróbia é se encontra na faixa de -260 mV, a pH = 7. Com isso, pode-se inferir que o meio, na parte interna dos reatores ANA, foi redutor ao longo de todo o período experimental.

Tabela 29 - Resumo estatístico da variação de potencial redox (mV) no afluente (AF) e efluente (EF) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 1, 2, 3 e 4

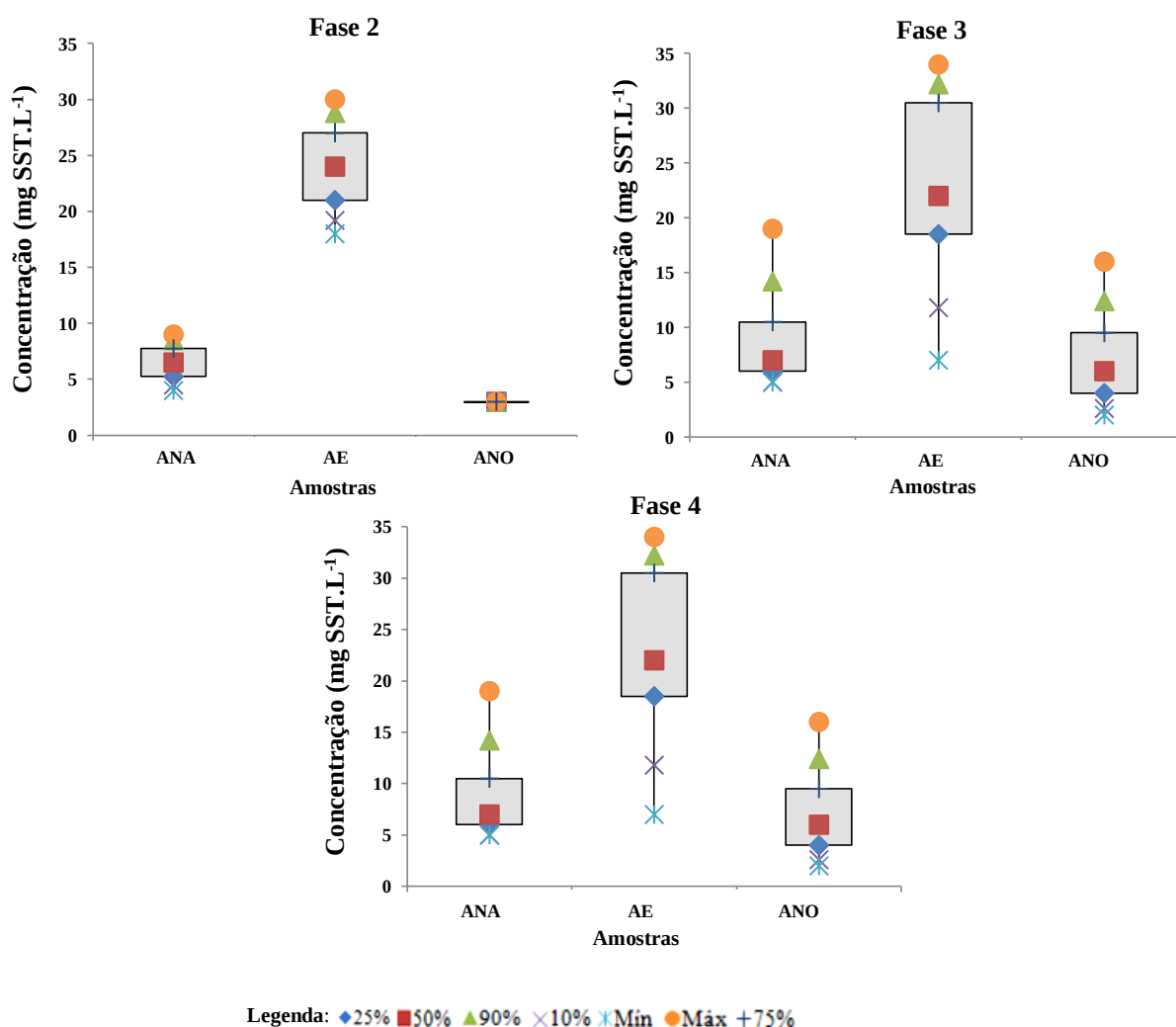
Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
2	AF	10	-50,9	-23,1	4,7	27,8
	ANA		-292,8	-155,6	-18,4	137,2
	AE		-86,9	-54,2	-21,5	32,7
	ANO		-102,8	-77,0	-51,2	25,8
3	AF	27	-197,3	-65,3	66,7	132,0
	ANA		-339,8	-274,6	-209,4	65,2
	AE		-131,1	-40,6	49,9	90,5
	ANO		-53,4	-0,7	52	52,7
4	AF	29	-251,2	-86,6	78	164,6
	ANA		-330,3	-243,9	-157,5	86,4
	AE		-83,9	-8,2	67,5	75,7
	ANO		-104,3	-18,7	66,9	85,6

5.1.5 Sólidos

5.1.5.1 Sólidos Suspensos Totais

A análise dos SST foi realizada nas Fases 2, 3 e 4. Os valores médios de SST no efluente do reator ANA foi de 6,5 mg SST.L⁻¹, 9,1 mg SST.L⁻¹ e 17,9 mg SST.L⁻¹, indicando um aumento de 28,6% (2,6 mg SST.L⁻¹) da biomassa da Fase 2 para a Fase 3 (122 dias); e de 49,2% (8,8 mgSST.L⁻¹) da Fase 3 para a Fase 4 (114 dias). As concentrações médias de SST no efluente do reator AE durante as Fases 2, 3 e 4, foram 24 mg SST.L⁻¹, 23 mg SST.L⁻¹ e 22 mg SST.L⁻¹, respectivamente, mostrando constância na maior parte das etapas do experimento. No reator ANO, nas Fases 2, 3 e 4, fato semelhante ao aumento dos SST no reator ANA foi observado, com valores médios de 3,0 mg SST.L⁻¹, 7,3 mg SST.L⁻¹ e 15,7 mg SST.L⁻¹ para cada uma das respectivas fases, conforme resultados demonstrados na Figura 15.

Figura 15 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação de SST (mg SST.L⁻¹) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4



Os processos anaeróbios possuem o potencial de retenção da biomassa no sistema por períodos prolongados de tempo, ainda que operados com TDHs reduzidos. Com isso, são propiciados tempos de residência celular com taxa elevada, geralmente maior que 30 dias, gerando um lodo estabilizado no próprio sistema e consequentemente a diminuição da produção de biomassa. Além disso, ainda que haja descarte de lodo excedente, a quantidade a ser rejeitada é bastante reduzida quando comparada às tecnologias aeróbias (CHERNICHARO, 1997; ZINATIZADEH *et al.*, 2009). Assim, pode-se observar que o sistema de reatores apresentou condições favoráveis na retenção da biomassa quanto aos SST.

A redução do teor de SST no efluente final (ANO) comparada com o SST de entrada (efluente ANA) foi pequena e a diminuição ocorreu de forma gradativa durante a experimentação, com

uma variação (diferença da média do ANA com a média do ANO) de 3,5 mg SST.L⁻¹ (Fase 2), 1,8 5 mg SST.L⁻¹ (Fase 3) e 2,2 mg SST.L⁻¹ (Fase 3), o que pode implicar a atuação satisfatória das bactérias no mecanismo de degradação anaeróbia, além da quantidade de lodo excedente descartado ser bastante inferior à que se observa nos processos aeróbios conforme Silveira (2009). A variação estatística dos SST no reator (ANA, AE e ANO) ao longo da experiência nas Fases 2, 3 e 4 é mostrada na Tabela 29.

Tabela 29 - Resumo estatístico da variação de SST (mg SST.L⁻¹) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4

Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
2	ANA	3	3,0	6,5	10,0	3,5
	AE		15,5	24,0	32,5	8,5
	ANO		2,9	3,0	3,1	0,1
3	ANA	7	4,2	9,1	14,0	4,9
	AE		13,4	23,0	32,6	9,6
	ANO		2,5	7,3	12,1	4,8
4	ANA	7	7,3	17,9	28,5	10,6
	AE		5,3	21,7	38,1	16,4
	ANO		2,3	15,7	29,1	13,4

5.1.5.2 Sólidos Suspensos Voláteis

Ao longo dos 216 dias de operação do sistema, a concentração de SSV nos efluentes ANA, AE e ANO variou de 1,0 a 28 mg SSV.L⁻¹, de 2,0 a 48,0 mg SSV.L⁻¹ e de 1,0 a 35,0 mg SSV.L⁻¹, respectivamente. Tais valores indicam que houve perda de lodo no sistema, particularmente nos reatores aeróbios, essa perda pode ter suprido a necessidade de carbono para desnitrificação no reator anóxico. Com isso, é possível que o lodo perdido no reator aeróbio tenha atuado como uma fonte interna de carbono para a remoção do nitrogênio na fase final do sistema (reator anóxico). Tal perda é verificada na Figura 16 e na Tabela 30.

Figura 16 – Gráfico *Box-plot* sobre a variação de SSV (mg SSV.L^{-1}) em cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4

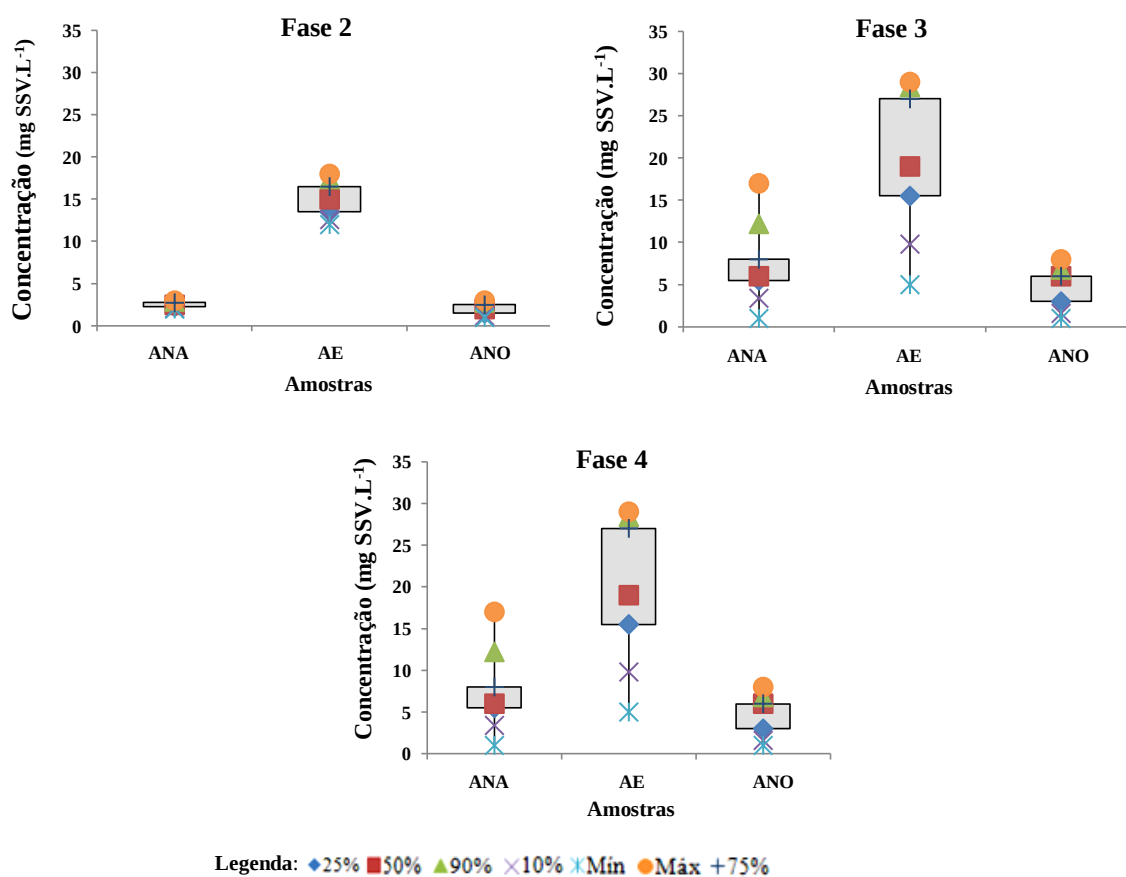


Tabela 30 - Resumo estatístico da variação de SSV (mg SSV.L^{-1}) no efluente (EF) de cada reator (ANA, AE e ANO) nas Fases 2, 3 e 4

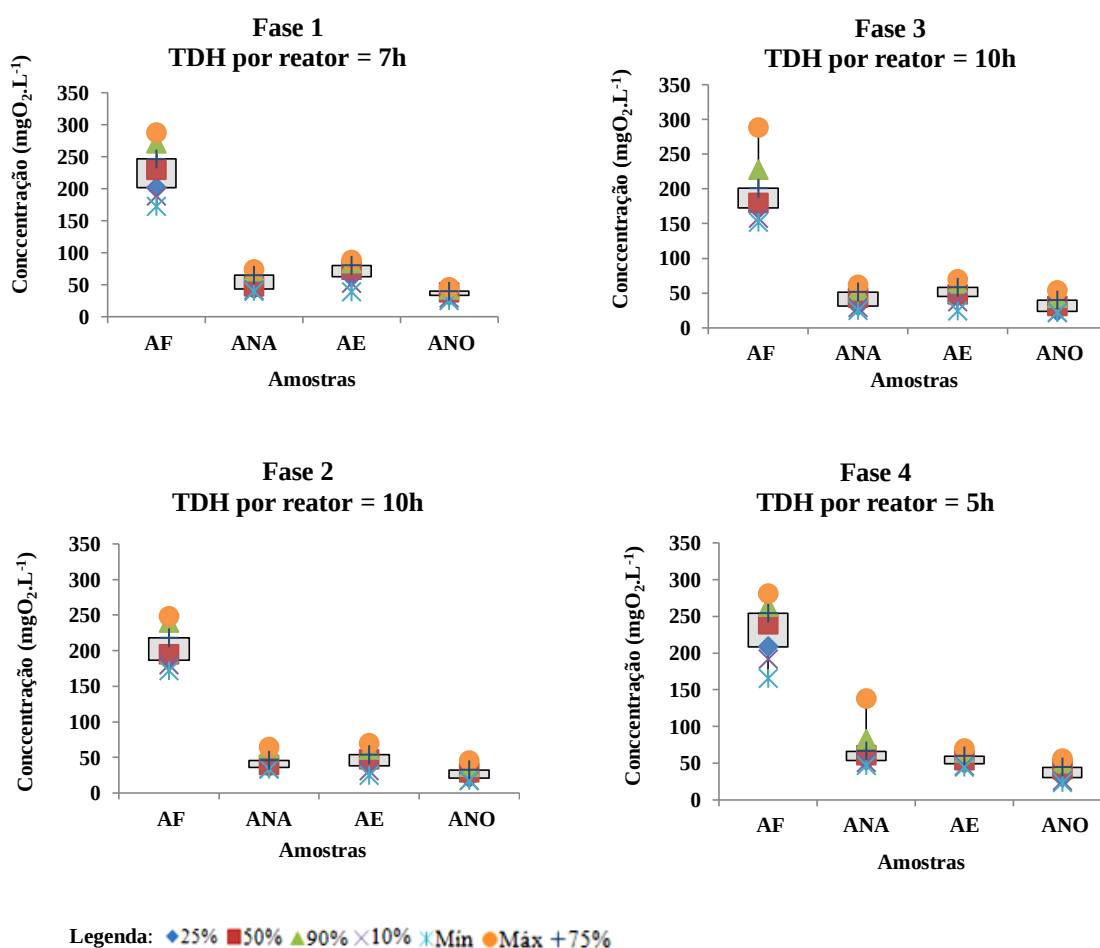
Fase	Amostra	Número de dados	Mínimo	Média	Máximo	Desvio-padrão
2	ANA	3	1,8	2,5	3,2	0,7
	AE		12,0	15,0	18,0	4,2
	ANO		1,0	2,0	3,0	1,4
3	ANA	7	2,4	7,3	12,2	4,9
	AE		14,7	19,7	28,5	8,8
	ANO		2,2	4,7	7,2	2,5
4	ANA	7	8,8	18,1	27,4	9,3
	AE		1,3	16,9	32,5	15,6
	ANO		6,3	17,3	28,3	11,0

5.2 REMOÇÃO DE CARBONO

5.2.1 DQO total

De acordo com SILVA e MARA, 1979; GONÇALVES e SOUZA, 1997; METCALF & EDDY, 2003; VON SPERLING, 2005, o esgoto pode ser classificado em fraco (até 250 mg.L⁻¹), médio (400 – 500 mg.L⁻¹) e forte (> 700 mg.L⁻¹) quanto ao parâmetro de DQO total. Assim, o esgoto utilizado durante o período experimental foi considerado fraco. A caracterização do afluente durante o período operado revela um esgoto bruto tipicamente sanitário. A concentrações referente à matéria orgânica (DQO total) foi avaliada para cada uma das 4 fases constituintes do experimento e seus respectivos conjuntos de reatores (ANA, AE e ANO), como mostrado na Figura 17.

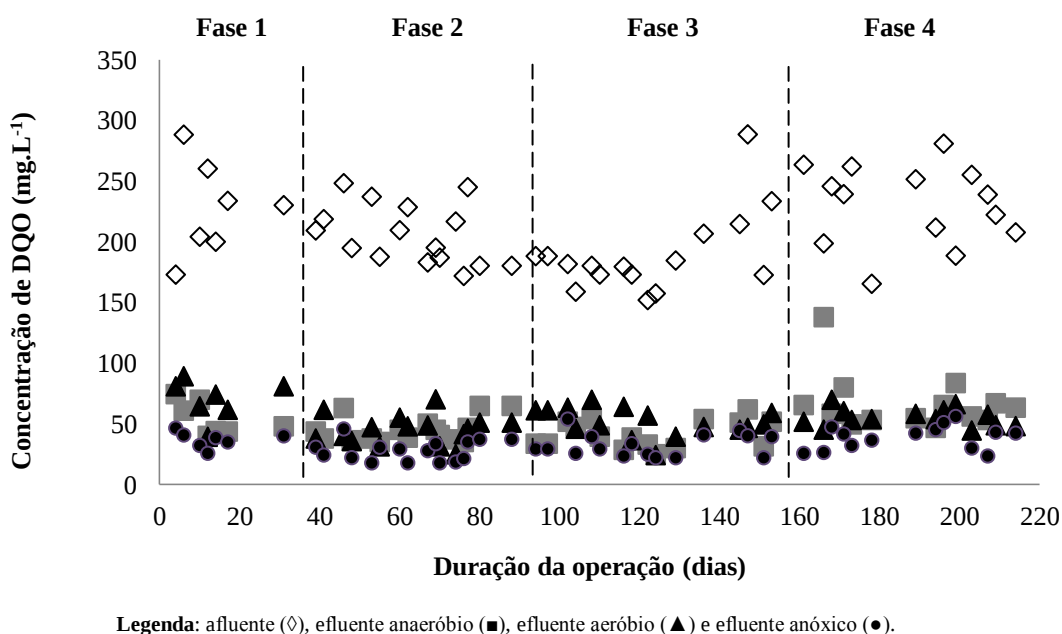
Figura 17 – Concentrações de DQO total (mg O₂.L⁻¹) no afluente (AF) e efluente (EF) dos reatores ANA, AE e ANO nas Fases 1, 2, 3 e 4



5.2.2 Remoção de carbono no sistema: desempenho das fases

A DQO afluyente (ANA) média do sistema bruta/bruta foi $227 (\pm 39) \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $204 (\pm 24) \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $190 (\pm 36) \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ e $230 (\pm 33) \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ para as Fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente; os valores correspondentes da COV para o reator UASB foram de $0,252 (\pm 0,029) \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, $0,144 (\pm 0,018) \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, $0,135 (\pm 0,026) \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e $0,163 (\pm 0,023) \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, respectivamente; e os TDHs aplicados para o conjunto de reatores (sistema) foram de 21 h, 30 h, 30 h e 15 h, respectivamente. Mesmo com a variação do TDH e consequente aumento de COV (Fase 4), o tratamento anaeróbico foi satisfatório na remoção da matéria orgânica (DQO total) em todas as fases, apresentando um efluente final com reduzida parcela biodegradável. As concentrações de DQO no afluyente (ANA) e efluentes dos reatores (ANA, AE e ANO) em cada fase estão mostradas na Figura 18.

Figura 18 – As concentrações de DQO total ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$) no afluyente e efluente dos reatores (ANA, AE e ANO) durante as quatro fases do experimento



Considerando os três reatores em série, a média de eficiência de remoção de DQO bruta/bruta do sistema foi de $83\% (\pm 5)$ na fase 1, $86\% (\pm 4)$ na fase 2, $83\% (\pm 5)$ na fase 3 e $83\% (\pm 6)$ na fase 4; bem como, de DQO bruta/filtrada foi $81\% (\pm 16)$ na fase 1, $89\% (\pm 5)$ na fase 2, $91\% (\pm 5)$ na fase 3 e $90\% (\pm 5)$ na fase 4. A redução da DQO ao passar pelos reatores pode estar relacionada à oxidação de compostos orgânicos pela atividade da biomassa presente favorecidos pela mistura e o bom contato biomassa-esgoto. Cada grupo dos micro-organismos

envolvidos no tratamento anaeróbio atua em reações específicas e detém alto grau de complexidade (FORESTI *et al.*, 1999; ZINATIZADEH *et al.*, 2009). Além disso, no tratamento anaeróbio, a matéria orgânica é estabilizada devido ao potencial de um grupo diverso de micro-organismos sob condições de converter substâncias orgânicas complexas em CH_4 e CO_2 , através de dois principais grupos, as *archeas* acidogênicas e as metanogênicas (NOPHARATANA *et al.*, 2003; WEBER, 2006). Os índices de concentração afluente (ANA) e efluente (ANO), bem como, as respectivas eficiências de remoção são apresentadas na Tabela 31.

Tabela 31 - As concentrações médias e eficiência de remoção de DQO total (desvios-padrão estão entre parênteses)

Fase	Condição operacional	Afluente ANA ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Efluente final ANO ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
1	TDH = 7h ; COV = 0,140 ($\pm 0,128$) $\text{kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$	227 (± 39)	37 (± 7)
2	TDH = 10h ; COV = 0,146 ($\pm 0,018$) $\text{kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$	204 (± 24)	28 (± 8)
3	TDH = 10h ; COV = 0,137 ($\pm 0,026$) $\text{kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$	190 (± 36)	33 (± 10)
4	TDH = 5h ; COV = 0,303 ($\pm 0,047$) $\text{kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$	230 (± 33)	38 (± 10)

Isoladamente, a máxima eficiência de remoção foi observada na Fase 2 com $86 \pm 4\%$. No entanto, verifica-se que a Fase 4 obteve $83 \pm 6\%$ de eficiência de remoção, a maior COV $0,303 (\pm 0,047) \text{ kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ e o menor TDH (15 h), quando comparada com as demais fases. Com isso, a partir da avaliação conjunta dessas variáveis e dos dados apresentados na Tabela 31, o melhor desempenho operacional do sistema de reatores em série para remoção de carbono foi alcançado na Fase 4. De acordo com Pereira *et al.* (2009) as bactérias constituem os grupos predominantes da biomassa nos sistemas de tratamento biológico e, por conseguinte, os de maior importância. Assim, tal resultado pode indicar a presença de uma biomassa bem aclimatada que respondeu significativamente à remoção da matéria orgânica mesmo em um menor TDH, visto que, o reator anaeróbio já estava em operação a 157 dias. As condições operacionais aplicadas na Fase 4 estão descritas na Tabela 32.

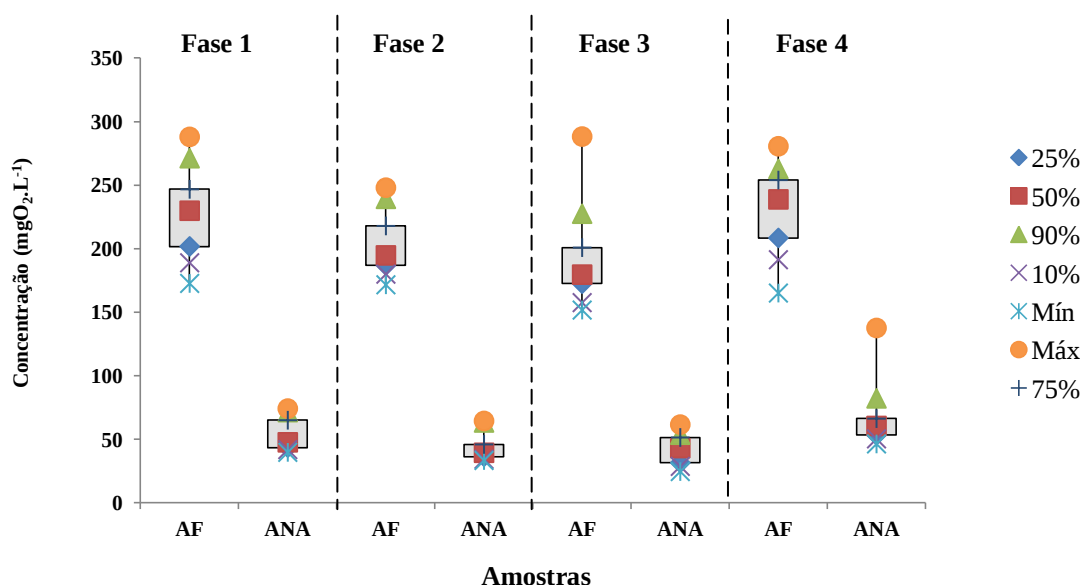
Tabela 32 – Condições operacionais aplicadas para o sistema de reatores em série na Fase 4

Estatística	Parâmetros					Eficiência de remoção (%)
	TDH (h)	OD ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Q ($\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$)	DQO _{AF} ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	DQO _{EF} ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	
Número de dados	29	29	29	14	14	14
Mínimo	14,9	1,1	10,4	165	23	70
Média	15,0	1,7	18,6	230	38	83
Máximo	18,0	2,5	20,4	281	56	90
Desvio padrão	0,9	0,9	1,9	33	10	6

5.2.3 Remoção de carbono no sistema: desempenho do reator anaeróbio

As eficiências médias de remoção do reator ANA (UASB), bem como, as concentrações de DQO afluente e DQO efluente do reator ANA na Fase 1 foi 75 %, 227 mg O₂.L⁻¹ e 54 mg O₂.L⁻¹; na Fase 2 foi 78%, 204 mg O₂.L⁻¹ e 44 mg O₂.L⁻¹, na Fase 3 foi 78%, 190 mg O₂.L⁻¹ e 42 mg O₂.L⁻¹; na Fase 4 foi 65%, 230 mg O₂.L⁻¹ e 66 mg O₂.L⁻¹. A eficiência média do reator ANA na totalidade de fases aplicadas foi de 74% de remoção. O pré-tratamento anaeróbio (reator UASB) promoveu uma ótima remoção da matéria orgânica, como é apresentado na Figura 19.

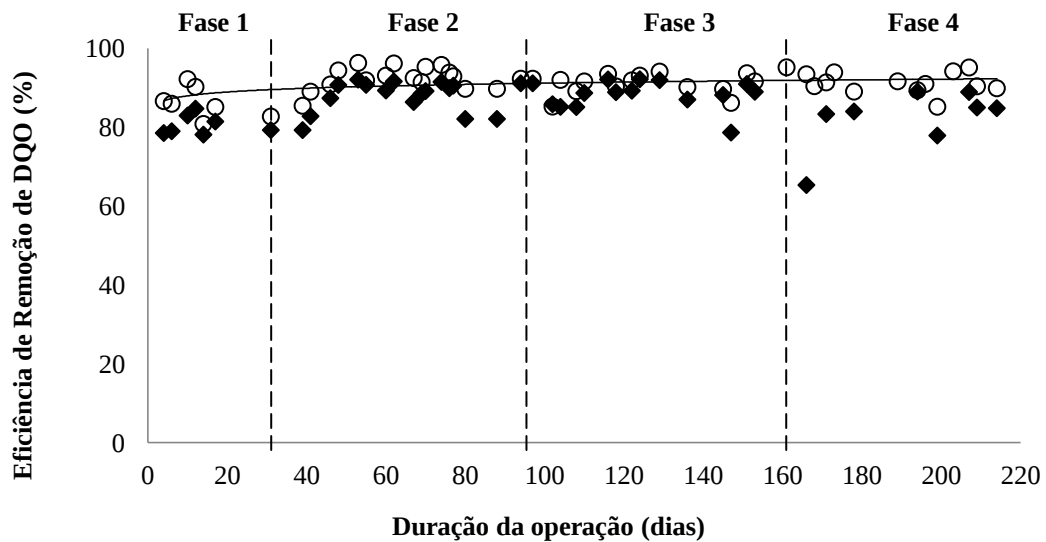
Figura 19 – Eficiência de remoção de DQO total (bruta/bruta) no reator anaeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4



A aplicação desse pré-tratamento (foi denominado de pré-tratamento, pois o objetivo foi remover matéria orgânica de modo a evitar a competição dos heterotróficos e autotróficos na fase aeróbia, isto é, o reator foi um tratamento para remoção de matéria orgânica e um pré-tratamento para a remoção de nitrogênio) foi extremamente importante para reduzir a disponibilidade de matéria orgânica no meio e consequentemente, a competição entre micro-organismos heterotróficos e nitrificantes autotróficos no reator aeróbio. Isso porque a presença de carbono orgânico pode levar a uma diminuição na eficiência de nitrificação ou mesmo uma falha do processo (OYANEDEL-CRAVER *et al.*, 2009).

O reator ANA (UASB) na Fase 4 alcançou o melhor desempenho na remoção de matéria orgânica como tecnologia aplicada para o pré-tratamento quando verificado os fatores operacionais envolvidos (TDH e COV) como se observa na Figura 20. Os parâmetros de operação do reator anaeróbio na Fase 4 estão descritos na Tabela 33.

Figura 20 – Eficiência de remoção de DQO total (bruta/bruta) no reator ANA e no reator ANO (efluente final) nas Fases 1, 2, 3 e 4



Legenda: pré-tratamento anaeróbio (♦) e remoção final de DQO (○).

Tabela 33 – Parâmetros operacionais aplicados ao reator anaeróbio na Fase 4

Estatística	Parâmetros						
	TDH (h)	Q (L.d ⁻¹)	pH	Redox	DQO _{AF} (mgO ₂ .L ⁻¹)	DQO _{EF} (mgO ₂ .L ⁻¹)	Eficiência de remoção (%)
Número de dados	29	29	29	29	14	14	14
Mínimo	4,8	10,4	6,7	-341,6	165	44	65
Média	5	18,6	7,3	-243,9	230	66	82
Máximo	5,8	20,4	7,9	18,5	281	138	89
Desvio padrão	0,7	1,9	0,3	86,4	33	23	8

5.3 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO

5.3.1 Fase 1 (TDH por reator = 7 h e OD no reator AE = 0,5–1,2 mg O₂.L⁻¹)

Esta fase inicial do sistema foi operada durante 33 dias. O TDH aplicado ao sistema de reatores em série foi de 20 h e aeração contínua manteve a concentração de OD no intervalo

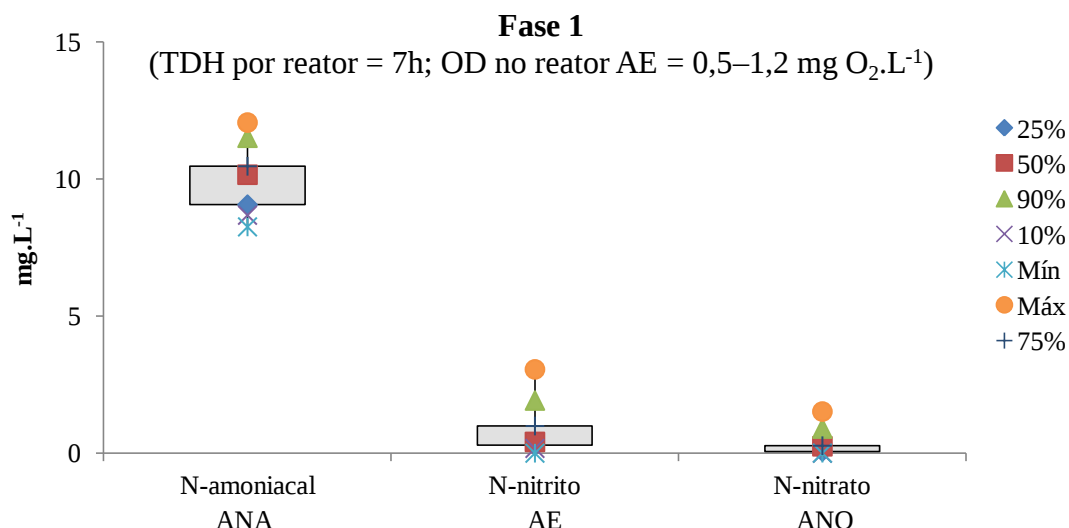
de 0,5–1,2 mg O₂.L⁻¹. A regulação e manutenção do OD no sistema sofreu oscilações e foi dificultada pela instabilidade da válvula do compressor de ar empregado. A observação nessa fase teve como foco verificar o comportamento do sistema no tocante à capacidade de nitrificação e desnitrificação a partir das condições operacionais estabelecidas.

O valor médio afluente para NTK foi de 13,0 mg N-NTK.L⁻¹ e eficiência de 9 (±8) % de remoção de nitrogênio no sistema na Fase 1. A pouca eficiência pode estar relacionada à baixa disponibilidade de OD com a limitação das nitrificantes autotróficas, visto que, nessa fase a nitrificação foi mínima (a concentração média de nitrito foi de 0,1 mg N-NO₂.L⁻¹). Segundo Gerardi (2006) a partir de um valor médio de 0,5 mg O₂.L⁻¹ no meio é que se dá início ao processo de nitrificação, embora inexpressivamente. Na Tabela 34 estão descritas as concentrações afluente (ANA) e efluente final (ANO) de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ no sistema durante a primeira etapa experimental. Na Figura 21 é mostrada a variação da concentração de N-NH₄⁺ (efluente do reator ANA), N-NO₂⁻ (efluente do reator AE) e N-NO₃⁻ (efluente do reator ANO) na Fase 1.

Tabela 34 – Concentrações de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 1

Estatística	Afluente ANA (mg.L ⁻¹)				Efluente ANO (mg.L ⁻¹)			
	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻
Número de dados	9	13	7	7	9	13	7	7
Média	13,0	4,1	0,1	0,2	12,5	10,2	1,2	0,4
Desvio padrão	1,3	1,2	0,1	0,3	1,0	1,8	1,9	0,6
Eficiência média de remoção de NTK					9 ± 8 %			

Figura 21 - Gráfico *box-plot* sobre a variação da concentração de N-NH_4^+ (EF ANA), N-NO_2^- (EF AE) e N-NO_3^- (EF ANO) na Fase 1



5.3.2 Fase 2 (TDH por reator = 10 h e OD no reator AE = 0,5–1,5 $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)

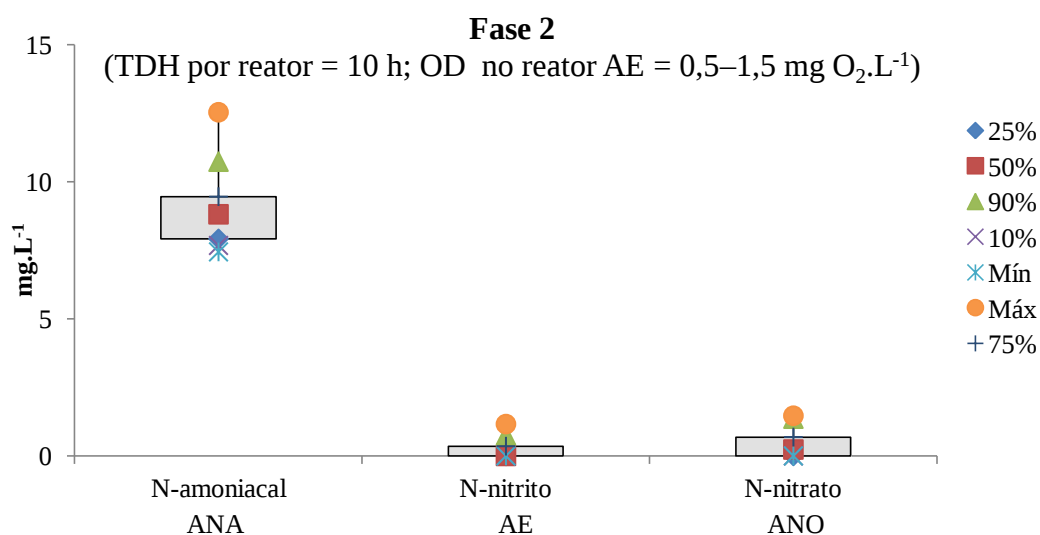
Na segunda fase da experiência, a operação do conjunto de reatores se deu por 63 dias. O TDH aplicado ao sistema foi de 30 h e a aeração contínua manteve a concentração de OD no intervalo de 0,5–1,5 $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ com um ligeiro aumento da disponibilidade do OD (não-intencional, acarretado pela instabilidade da válvula no fornecimento do oxigênio). O objetivo foi manter as condições da fase anterior quanto à disponibilidade de OD e aumentar o TDH para verificar a resposta do sistema às novas condições aplicadas.

O valor médio afluente para NTK foi de 12,7 $\text{mg N-NTK}\cdot\text{L}^{-1}$ e eficiência de 41 (± 35) % de remoção de nitrogênio no sistema na Fase 2. No tocante à nitrificação, quanto à Fase 1 o desempenho do sistema melhorou. Embora, a presença de N na biomassa no interior do reator ANA, pode justificar o aumento do NTK no efluente ANA em relação ao seu afluente, favorecendo, em algumas coletas, um incremento de NTK, ao invés de sua remoção. O aumento no TDH e o incremento na disponibilidade de OD sugerem uma maior disponibilidade de relação C/N e OD no interior do reator aeróbio. Conforme Gerardi (2006), com o oxigênio oferecido no intervalo de 0,5–0,9 $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ há um aumento na nitrificação. Na Tabela 35 estão descritas as concentrações afluente (ANA) e efluente final (ANO) de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- no sistema operado no decorrer da Fase 2. Na Figura 22 é apresentada a variação da concentração de N-NH_4^+ (efluente do reator ANA), N-NO_2^- (efluente do reator AE) e N-NO_3^- (efluente do reator ANO).

Tabela 35 – Concentrações de NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 2

Estatística	Afluente ANA (mg.L^{-1})				Efluente ANO (mg.L^{-1})			
	NTK	N-NH_4^+	N-NO_2^-	N-NO_3^-	NTK	N-NH_4^+	N-NO_2^-	N-NO_3^-
Número de dados	5	17	23	23	5	17	23	23
Mínimo	11,0	0,5	0,0	0,0	1,2	1,3	0,0	0,0
Média	12,7	1,1	0,1	0,2	6,2	5,7	0,2	0,4
Máximo	14,9	5,1	0,2	1,5	11,2	10,8	0,6	1,5
Desvio padrão	1,4	1,1	0,1	0,3	4,7	2,7	0,2	0,5
Eficiência média de remoção de NTK					$41 \pm 35 \%$			

Figura 22 - Gráfico *box-plot* sobre variação da concentração de N-NH_4^+ (EF ANA), N-NO_2^- (EF AE) e N-NO_3^- (EF ANO) na Fase 2



5.3.3 Fase 3 (TDH por reator = 10 h e OD no reator aeróbio = $1,1\text{--}2,1 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$)

A operação da Fase 3 do experimento foi de 55 dias. O TDH aplicado ao sistema foi de 30 h e a aeração contínua foi elevada para uma concentração de OD de $1,1\text{--}2,1 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$. O objetivo foi manter as condições da fase anterior quanto ao TDH e aumentar o OD de forma a maximizar a nitrificação.

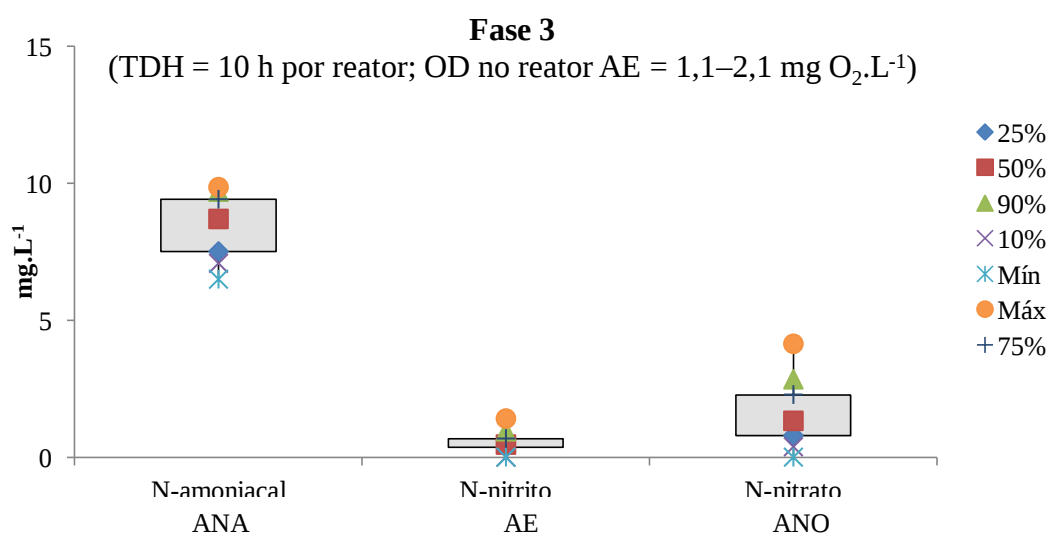
O valor médio afluente para NTK foi de $10,7 \text{ mg N-NTK.L}^{-1}$ e eficiência de $87 (\pm 6) \%$ de remoção de nitrogênio no sistema na Fase 3. Quanto à nitrificação, nessa fase foi observado o

melhor desempenho do sistema. A aplicação do reator (UASB) como pré-tratamento foi eficiente na diminuição da competição das heterotróficas com as nitrificantes autotróficas. Gerardi (2006) avaliou que com a oxigenação fornecida na faixa de 1,0-2,0 mg O₂.L⁻¹ a taxa de nitrificação torna-se expressiva. Assim, o incremento na disponibilidade de OD pode indicar o aumento da atividade das bactérias nitrificantes. Na Tabela 36 estão demonstradas as concentrações afluente (ANA) e efluente final (ANO) de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ no conjunto experimental na Fase 3. Na Figura 23 é apresentada a variação da concentração de N-NH₄⁺ (efluente reator ANA), N-NO₂⁻ (efluente reator AE) e N-NO₃⁻ (efluente reator ANO).

Tabela 36 – Concentrações de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ do afluente (ANA) e efluente (ANO) do sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 3

Estatística	Afluente ANA (mg.L ⁻¹)				Efluente ANO (mg.L ⁻¹)			
	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻
Número de dados	12	14	24	24	12	14	24	24
Mínimo	10,1	0,2	0,0	0,0	0,9	0,6	0,0	0,0
Média	10,7	0,5	0,1	0,1	1,6	1,1	0,2	1,6
Máximo	13,6	0,8	1,2	0,5	3,6	2,5	0,8	4,1
Desvio padrão	1,1	0,2	0,3	0,2	0,8	0,6	0,2	1,0
Eficiência média de remoção de NTK					87 ± 6 %			

Figura 23 - Gráfico *box-plot* sobre variação da concentração de N-NH₄⁺ (efluente reator ANA), N-NO₂⁻ (efluente reator AE) e N-NO₃⁻ (efluente reator ANO) na Fase 3



5.3.4 Fase 4 (TDH por reator = 5 h e OD no reator aeróbio = 1,1–2,5 mg O₂.L⁻¹)

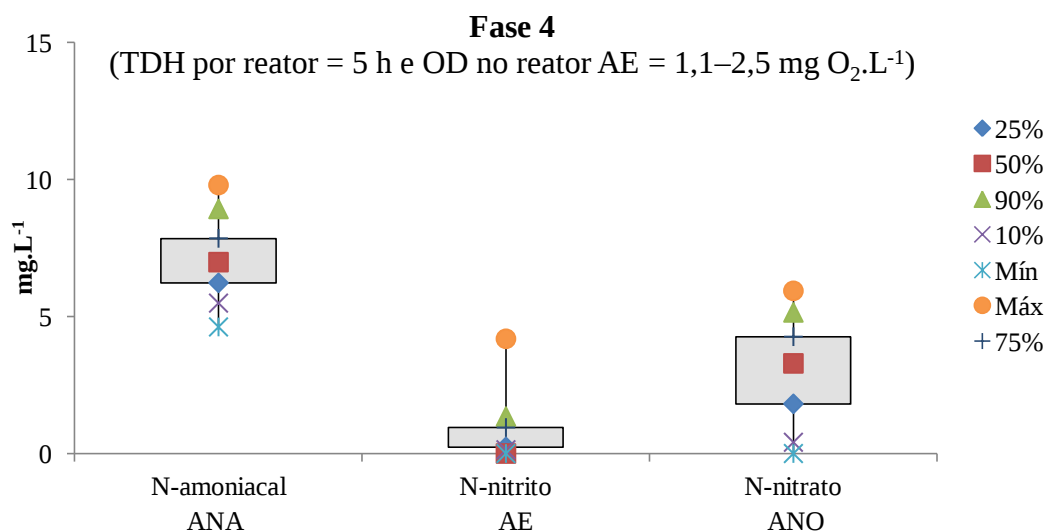
A última fase experimental foi executada em 57 dias. O TDH aplicado ao sistema foi de 15 h e a aeração contínua manteve a concentração de OD no intervalo de 1,1–2,5 mg O₂.L⁻¹ com um discreto aumento fornecimento do OD (não-intencional). O objetivo foi manter as condições da fase anterior quanto ao OD e diminuir o TDH para verificar se a taxa de nitrificação era mantida.

O valor médio afluente para NTK foi de 12,0 mg N-NTK.L⁻¹ e eficiência de 69 (±23) % de remoção de nitrogênio no sistema na Fase 4. Quanto à nitrificação, nessa fase foi observado boa desenvoltura do sistema, embora a atuação das bactérias nitrificantes tenha diminuído. Na Tabela 37 estão descritas as concentrações afluente (ANA) e efluente final (ANO) de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ no sistema durante a última etapa experimental. Na Figura 24 é apresentada a variação da concentração de N-NH₄⁺ (efluente do reator ANA), N-NO₂⁻ (efluente do reator AE) e N-NO₃⁻ (efluente do reator ANO).

Tabela 37 – Concentrações de NTK, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ do afluente (ANA) e efluente (ANO) no sistema e eficiência de remoção de NTK na Fase 4

Estatística	Afluente ANA (mg.L ⁻¹)				Efluente ANO (mg.L ⁻¹)			
	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻
Número de dados	17	18	34	34	17	18	34	34
Mínimo	9,8	0,2	0,0	0,0	0,7	0,4	0,0	0,0
Média	12,0	0,4	0,1	0,3	2,7	2,3	0,4	3,0
Máximo	14,9	0,7	0,6	1,5	9,6	7,9	1,0	5,9
Desvio padrão	1,6	0,1	0,2	0,4	2,5	2,1	0,3	1,8
Eficiência média de remoção de NTK					69 ± 23 %			

Figura 24 - Gráfico *box-plot* sobre variação da concentração de N-NH_4^+ (efluente do reator ANA), N-NO_2^- (efluente do reator AE) e N-NO_3^- (efluente do reator ANO) na Fase 4



5.3.5 Desempenho do reator anaeróbio na conversão de N-NTK a N-NH_4^+

A aplicação do reator anaeróbio no sistema objetivou dois processos principais: a remoção da matéria orgânica de forma a minimizar a competição dos micro-organismos heterotróficos com os nitrificantes autotróficos no reator aeróbio, como também, favorecer a etapa de conversão do N-NTK a N-NH_4^+ , fundamental para o processo biológico de remoção do nitrogênio.

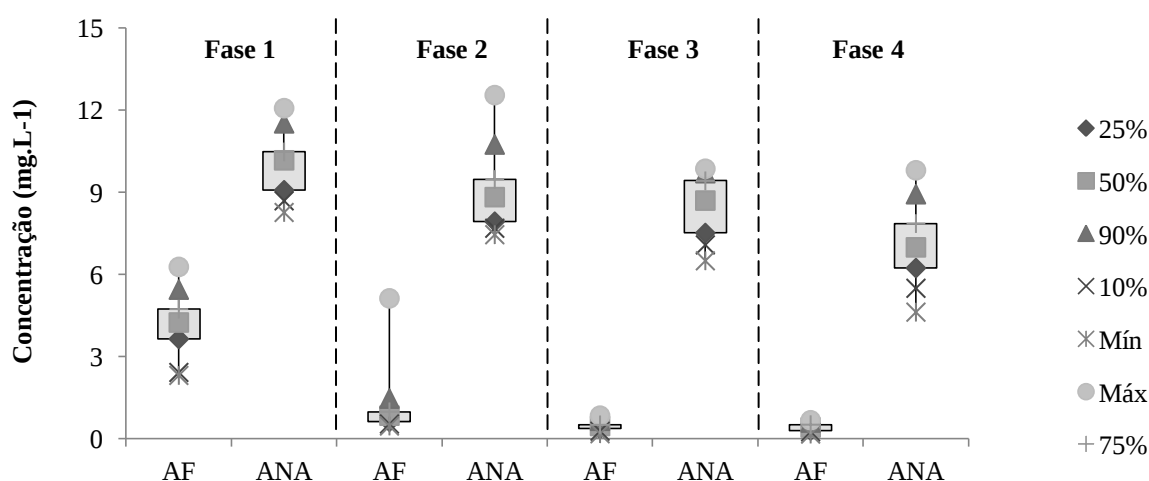
As concentrações médias no afluente, efluente e a taxa de conversão de N-NTK para N-NH_4^+ no reator anaeróbio na Fase 1 foram de 4,1 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$, 9,9 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ e 5,8 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$; na Fase 2 de 1,1 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$, 9,1 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ e 8,0 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$; na Fase 3 de 0,5 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$, 8,5 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ e 8,0 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$; e na Fase 4 de 0,4 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$, 7,1 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ e 6,7 $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$. Esses valores, bem como a eficiência de conversão de N-NTK para N-NH_4^+ (amonificação) obtida em cada Fase do sistema no decorrer do experimento estão apresentadas na Tabela 38. A técnica de PCR aplicada nas amostras do reator ANA das Fases 1 e 2 confirmaram a presença de bactérias oxidantes de amônia no sistema. É relacionado às BOAs a oxidação da amônia nos tratamentos biológicos, especialmente aos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrospira*, de atividade fundamental em lodo ativado (STROUS *et al.*, 1999; PURKHOLD *et al.*, 2000).

Tabela 38 - As concentrações médias e eficiência de amonificação no reator anaeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4 (desvios-padrão estão entre parênteses)

Fase	Afluente ANA (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	Efluente ANA (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	Eficiência de amonificação (%)
1	4,1 (1,2)	9,9 (1,2)	59 (22)
2	1,1 (1,1)	9,1 (1,4)	88 (16)
3	0,5 (0,2)	8,5 (1,1)	94 (5)
4	0,4 (0,1)	7,1 (1,4)	94 (4)

A amônia é o resultado da mineralização aeróbia do nitrogênio orgânico dissolvido e particulado e sua produção pode ocorrer a partir da atuação de micro-organismos heterotróficos. Sabe-se que o N-NH₄⁺ é a principal forma inorgânica de utilização metabólica do nitrogênio com menor custo energético por produtor primário (SANTOS, 2014). A partir dos dados expostos na Tabela 31 e na Figura 25 pode-se perceber que o melhor desempenho para amonificação (conversão de N-NTK a N-NH₄⁺) se deu na Fase 3 com 94% de conversão do nitrogênio pelo reator anaeróbio.

Figura 25 – Amonificação no reator anaeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4



5.3.6 Nitrificação no sistema: desempenho do reator aeróbio

O objetivo do emprego do reator aeróbio no sistema em série foi propiciar a etapa de nitrificação, particularmente a conversão à N-NO₂⁻ e à N-NO₃⁻. Quase todo nitrogênio no afluente (ANA) estava sob a forma de nitrogênio orgânico. A concentração de NTK afluente (ANA) foi de 13 a 12 mg N-NTK.L⁻¹ para as quatro fases, como mostrado na Tabela 39.

A função de nitrificação do reator aeróbio foi otimizada pela redução da matéria orgânica no reator anaeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4. No entanto, a nitrificação e nitratação foram ineficientes na Fase 1, conforme Figura 26. No reator aeróbio, nenhuma diferença entre o nitrogênio amoniacal do efluente e afluente foi observado na Fase 1, isto é, não houve conversão de N-NH_4^+ ; os valores médios foram de $9,9 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e $9,7 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. A concentração de OD durante a Fase 1 foi mantida entre $0,5\text{-}1,2 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. O crescimento das nitrificantes autotróficas pode ter sido afetado pela baixa disponibilidade de OD, limitando o processo de nitrificação. Este fato também foi observado por outros autores (LUOSTARINEN *et al*, 2006; ZHANG E ZHOU, 2007).

Tabela 39 - As concentrações médias NTK, N-NH_4^+ , N-NO_2^- , N-NO_3^- e eficiência de remoção (%) de NTK nas fases 1, 2, 3 e 4 (desvios-padrão estão entre parênteses)

Fase	Afluente ANA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		Efluente ANO ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				Eficiência de remoção (%)
	NTK*	N-NH_4^+	NTK	N-NH_4^+	N-NO_2^-	N-NO_3^-	NTK
1	13,0 (1,3)	4,1 (1,2)	12,5 (1,0)	10,2 (1,8)	1,2 (2)	0,4 (0,6)	9 (8)
2	12,7 (1,4)	1,1 (1,1)	6,2 (4,7)	5,7 (2,7)	0,2 (0,2)	0,4 (0,5)	41 (35)
3	12,4 (1,1)	0,5 (0,2)	1,6 (0,8)	1,1 (0,6)	0,2 (0,2)	1,6 (1)	87 (6)
4	12,0 (1,6)	0,4 (0,1)	2,7 (2,5)	2,3 (2,1)	0,4 (0,3)	3,0 (1,8)	69 (23)

* Quase todo nitrogênio orgânico afluente (ANA) estava na forma de NTK, sem nitrito e nitrato

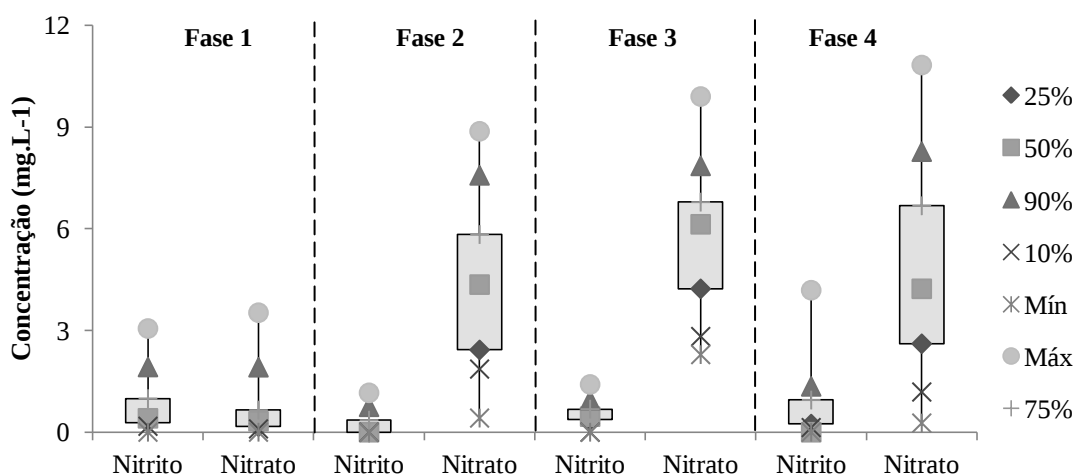
Na Fase 2, com o aumento da concentração de OD até $1,5 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, foi observado uma elevação da nitrificação, conforme Figura 26, quando os valores médios de NTK, N-NO_2^- e concentrações de N-NO_3^- no efluente aeróbio foram de $6,6 (\pm 4,7)$, $0,2 (\pm 0,4)$ e $4,4 (\pm 2,2) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente.

No entanto, a maior nitrificação ocorreu na Fase 3, quando o reator foi operado com concentrações de OD na faixa de $1,1\text{-}2,1 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Durante esta fase, as concentrações de NTK, N-NO_2^- e N-NO_3^- no efluente aeróbio foram de $3,5 (\pm 1,4)$, $0,5 (\pm 0,3)$ e $5,7 (\pm 2,0)$, respectivamente.

Na Fase 4, a operação do reator foi realizada no intervalo de concentração de OD de $1,1\text{-}2,5 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Ainda nessa fase, os respectivos valores médios de NTK, N-NO_2^- e concentrações de N-NO_3^- no efluente aeróbio foram de $5,4 (\pm 2,8)$, $0,8 (\pm 0,8)$ e $4,6 (\pm 2,8) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. O aumento da concentração de OD médio e o consequente desenvolvimento de micro-organismos nitrificantes autotróficos poderia explicar o aumento da nitrificação no reator aeróbio durante

as Fases 2, 3 e 4. Não houve acumulação de nitrito, uma vez que a sua concentração permaneceu constante abaixo de $1,0 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$, indicando a existência de uma população de consumo de nitrito bem estabelecida no reator aeróbio. A técnica de PCR aplicada confirmou a presença de bactérias oxidantes de nitrito *Nitrospira sp.*

Figura 26 – Concentrações de N-NO_2^- e N-NO_3^- no efluente do reator aeróbio nas Fases 1, 2, 3 e 4



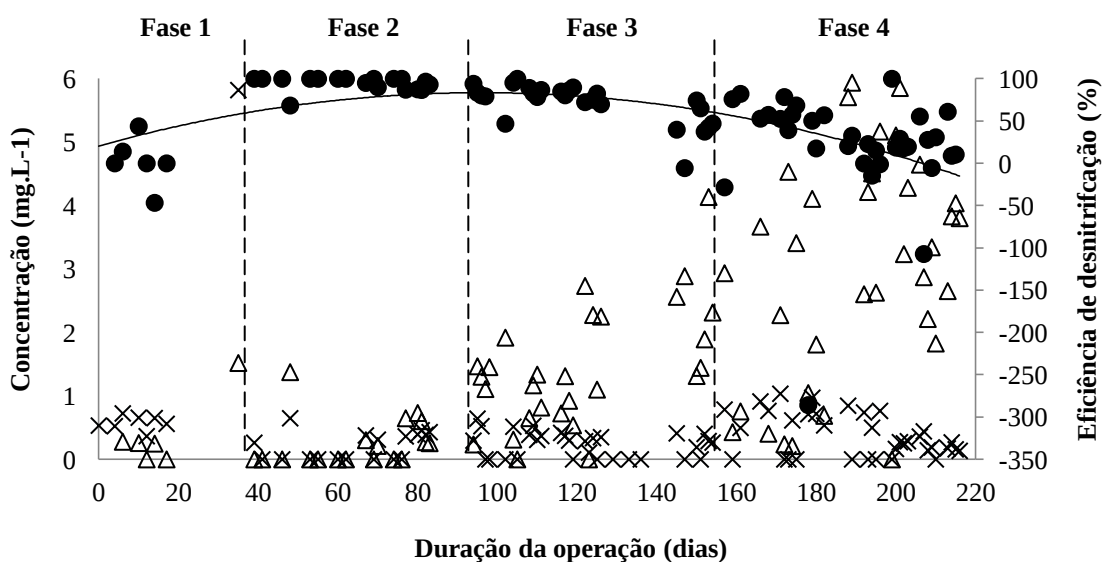
5.3.7 Desempenho da desnitrificação no reator anóxico e remoção final NTK

Na Fase 1, a desnitrificação não ocorreu porque a amonificação e a nitrificação foram ineficientes nesta fase. Nas fases 2 e 3, o reator anóxico promoveu a desnitrificação sem fonte externa de doador de elétrons. O restante da matéria orgânica presente no efluente aeróbio foi suficiente para promover esse processo. Os valores médios da relação DQO/NTK nas Fases 1, 2, 3 e 4 foram 5; 10; 14; 11 respectivamente. Outros pesquisadores relataram que a relação de $\text{DQO/NTK} > 7$ é necessária para remoção de nitrogênio por meio da desnitrificação (CARRERA e VICENTE, 2004; CHOI *et al*, 2008; LI *et al.*, 2014).

A maior eficiência da desnitrificação ocorreu na Fase 2, com um valor médio de 88% conforme Figura 27, mas a eficiência de remoção de NTK no sistema de reatores alcançou apenas 41%, como apresentado na Tabela 39. A técnica de PCR e DGGE aplicadas para amostra do reator anóxico na Fase 2 apontou a presença de *Anammox*, que poderia justificar a elevada eficiência de desnitrificação nessa fase, já que durante metade dos 63 dias de operação da Fase 2, a concentração de nitrato foi zero no efluente final (ANO).

Na Fase 3 e 4, em comparação com a Fase 2, foi observada uma diminuição de desnitrificação, com valores entre 40 e 100% e alguns valores negativos. Esta diminuição pode ser associada com o aumento da concentração de nitratos no efluente do reator anóxico, resultando num decréscimo da razão DQO/NTK. Apesar da eficiência da desnitrificação ter diminuído, uma alta eficiência de remoção de NTK final ainda ocorreu na Fase 3 e 4, considerando os três reatores em série, com um valor médio de 87% e 69%, como exposto na Tabela 39.

Figura 27 – Concentrações e eficiência de desnitrificação no reator anóxico nas Fases 1, 2, 3 e 4



Legenda: (Δ) concentração de nitrato, (x) concentração de nitrito; (●) eficiência da desnitrificação.

5.4 REMOÇÃO DE CARBONO E NITROGÊNIO: MELHOR CONDIÇÃO OPERACIONAL

A melhor condição operacional para remoção de carbono ocorreu na Fase 4 com um TDH = 5 h e OD = 1,1–2,5 mg O₂.L⁻¹ no reator aeróbio, de modo especial devido ao ótimo desempenho do reator ANA que, como pré-tratamento aplicado, removeu de forma independente 65% e 83% da DQO total bruta/bruta e bruta/filtrada, respectivamente.

A melhor nitrificação aconteceu no reator aeróbio da Fase 3 com um TDH = 10h e OD = 1,1–2,1 mg O₂.L⁻¹. A maior desnitrificação foi observada na Fase 2 com um TDH = 10 h e relação

DQO/NTK = 10 no reator anóxico. A melhor condição para remoção de nitrogênio (NTK) no sistema ocorreu na Fase 3 com 87% de eficiência de remoção.

A Fase 3 foi a que desempenhou a melhor eficiência de remoção do carbono (DQO total bruta/filtrada) e nitrogênio (NTK) simultaneamente no sistema com valores de 91% e 87%, respectivamente. Na Tabela 40 estão apresentadas as respectivas eficiências de remoção de DQO (carbono) e NTK (nitrogênio) para as Fases 1, 2, 3 e 4 no reator anaeróbio (afluente) e reator anóxico (efluente final) do período experimental.

Tabela 40 - Remoção e respectivas eficiências de DQO total bruta/filtrada (carbono) e NTK (nitrogênio) nas Fases 1, 2, 3 e 4 do conjunto de reatores

	Origem	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	NTK (mg N-NTK.L ⁻¹)
Fase 1	AF	227 ± 39	13,0 ± 1,3
	ANO	37 ± 7	12,5 ± 1,0
	Eficiência %	81 ± 16	9 ± 8
Fase 2	AF	204 ± 24	12,7 ± 1,4
	ANO	28 ± 8	6,2 ± 4,7
	Eficiência	89 ± 5	41 ± 35
Fase 3	AF	190 ± 36	12,4 ± 1,1
	ANO	33 ± 10	1,6 ± 0,8
	Eficiência	91 ± 5	87 ± 6
Fase 4	AF	230 ± 33	12,0 ± 1,6
	ANO	39 ± 10	2,7 ± 2,5
	Eficiência	90 ± 5	69 ± 23

5.5 BIOLOGIA MOLECULAR

A técnica da PCR aplicada nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO nas Fases 1, 2, 3 e 4 foi positiva para as amplificações das bandas no que se refere ao domínio *Bacteria* e *Archaea*; e por se tratar de um método qualitativo, teve como objetivo verificar a presença ou ausência de bactérias nitrificantes e desnitrificantes (oxidantes de amônia, oxidantes de nitrito, *anammox*) ao longo do experimento. Para confirmação dos micro-organismos atuantes no processo, as amostras foram preservadas e serão enviadas para sequenciamento.

5.5.1 Bactérias

O método da PCR foi empregado para o Domínio *Bacteria* e aplicados os indicadores específicos (*primers*) para *Nitrospira* (Bactéria Oxidante do Nitrito – BON), Bactérias Oxidantes de Amônia – BOA, Bactérias Desnitrificantes – BD e *Anammox* nas amostras dos

reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4. Diante do resultado afirmativo das amplificações na PCR, foi realizada a DGGE para BD. Na Tabela 41 são detalhadas as informações sobre as amostras utilizadas na formação do gel da DGGE para Domínio *Bacteria*. O controle negativo foi aplicado como indicador da isenção de contaminação das amostras analisadas, pois se no resultado de uma PCR houver a apresentação de amplificação do CN representa que houve contaminação.

Tabela 41 – Amostras das Fases 1, 2, 3 e 4 usadas na formação do gel da DGGE para Domínio *Bacteria*

Fase	Data	Amostra	Legenda
2	26/11/14	Reator aeróbio	F2 RAE
1	13/08/14	Reator aeróbio	F1 RAE
2	26/11/14	Reator anaeróbio	F2 RANA
1	13/08/14	Reator anaeróbio	F1 RANA
2	26/11/14	Reator anóxico	F2 RANO
-----	-----	Controle negativo	CN
3	20/01/15	Reator anaeróbio	F3 RANA
		Reator aeróbio	F3 RAE
		Reator anóxico	F3 RANO
4	30/03/15	Reator anaeróbio	F4 RANA
		Reator aeróbio	F4 RAE
		Reator anóxico	F4RANO
-----	-----	Controle negativo	CN

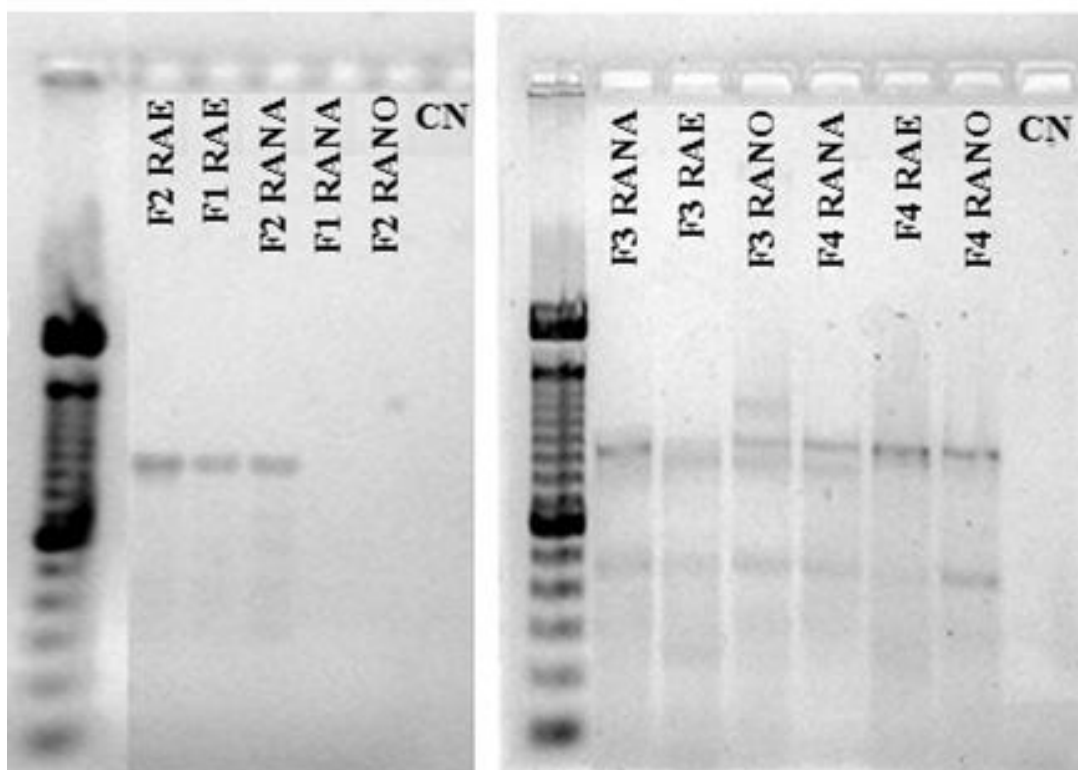
5.5.1.1 PCR de *Nitrospira* – BON

O grupo de bactérias oxidantes de nitrito é filogeneticamente heterogêneo e incluem, no mínimo, cinco gêneros distintos de bactérias como *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrobacter* e o recém-descoberto *Nitrotoga* (LIM *et al.*, 2008; KRUSE *et al.*, 2013). A *Nitrospira* é uma bactéria oxidante do nitrogênio que realiza a conversão deste elemento a nitrito (N-NO_2^-) e é mais adaptada às baixas concentrações de oxigênio (SCHRAMM *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2014).

A PCR para o Domínio Bacteria – *Nitrospira* foi realizada nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4. De acordo com os dados obtidos, conforme Figura 28, pode-se inferir que houve presença de BON (*Nitrospira*) nos reatores aeróbios de todas as fases (1, 2, 3 e 4) do experimento, como também, nos reatores anaeróbios da Fase 2, Fase 3 e da Fase 4. Assim há a indicação de atividade das bactérias *Nitrospira*. Essas atuam na conversão do nitrogênio amoniacal a nitrito (METCALF e EDDY, 2003). A intensidade da coloração apresentada sugere que a presença mais forte das bactérias se deu no reator aeróbio da Fase 2,

cuja nitrificação alcançada foi de 41 (± 35) %. As condições operacionais aplicadas no reator AE na Fase 2 foi de TDH por reator = 10 h e OD no reator aeróbio = 0,5–1,5 mg O₂.L⁻¹. A não-amplificação do CN indica que não houve contaminação das amostras analisadas.

Figura 28 - PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4 para o domínio *Bacteria* – *Nitrospira*



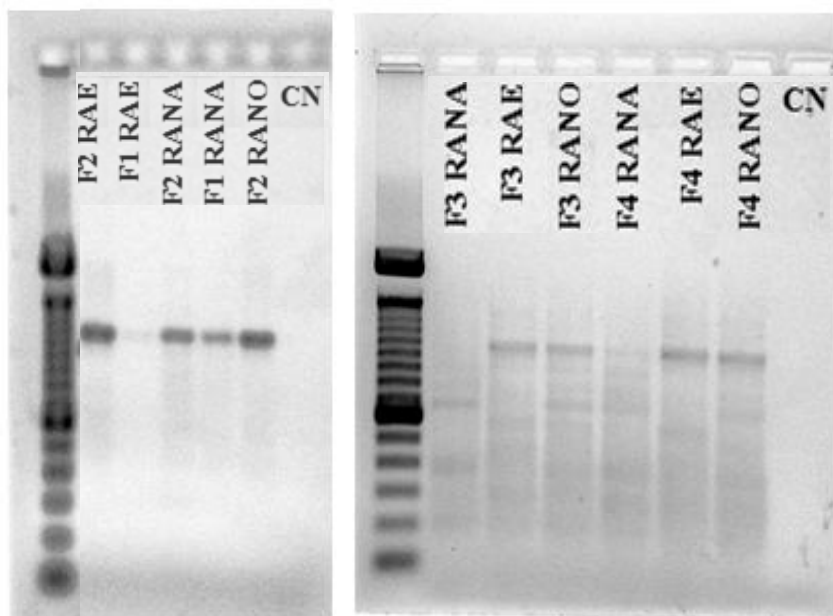
De acordo com Thauer *et al.* (1977) e Ehrich *et al.* (1995), uma das características das BONs é o crescimento lento acarretado pela reduzida rentabilidade energética no decorrer da oxidação de nitrito, o que significa que uma cultura bem sucedida de BON é um desafio, de modo especial quando cultivadas em laboratório. Diante disso, o envio para sequenciamento das amostras com forte intensidade no resultado da PCR para *Bacteria* - *Nitrospira* será realizado, de modo a avaliar a espécie que atuou nos períodos em que foram encontradas.

5.5.1.2 PCR de Bactérias Oxidantes de Amônia

Na primeira etapa do mecanismo de nitrificação aeróbia ocorre a formação de nitrito por bactérias autotróficas oxidantes de amônia - BOAs e *Archaeas* oxidantes de amônia - AOAs (HIKUMA *et al.*, 2002; ITOI *et al.*, 2007).

A PCR para o Domínio *Bacteria* – BOA realizada nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4 verificou a presença desses micro-organismos que podem ter atuado na remoção do nitrogênio por meio da conversão de N-NH_4^+ . Os dados obtidos e a luminosidade apresentada no perfil, conforme Figura 29, podem indicar que existiu fortemente a presença de BOAs nas duas primeiras fases do experimento, exceto no reator aeróbio da Fase 1. A menor taxa de conversão do NTK a N-NH_4^+ ocorreu no reator anaeróbio da Fase 1 com 59% de conversão, e com isso, a nitrificação nessa etapa (Fase1) foi insignificante quando comparado o desempenho das etapas posteriores. No reator anaeróbio da Fase 2 apresentou, conforme resultado da PCR, a maior intensidade de coloração. A taxa de conversão do NTK a N-NH_4^+ nessa fase foi de 88%. Ainda pela amplificação da PCR pode-se inferir que também houve população de BOAs no reator AE das Fases 2, 3 e 4; como também no reator ANO das Fases 2, 3 e 4. É relacionado às BOAs a oxidação da amônia nos tratamentos biológicos, especialmente aos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrospira*, de atividade fundamental em lodos ativados (STROUS *et al.*, 1999; PURKHOLD *et al.*, 2000).

Figura 29 - PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio *Bacteria* - BOA

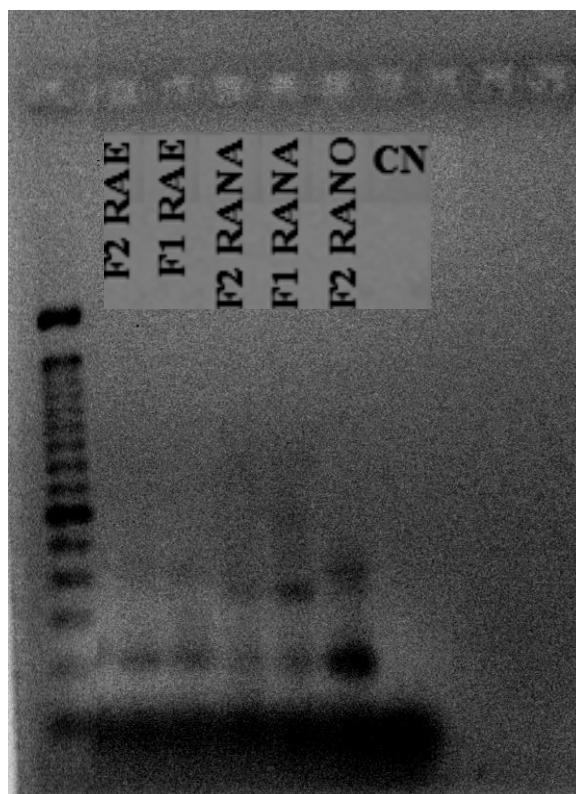


5.5.1.3 PCR e DGGE de Bactérias Desnitrificantes

A PCR para o Domínio *Bacteria* – BD foi realizada nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2. De acordo com os dados obtidos, conforme Figura 30, pode-se concluir

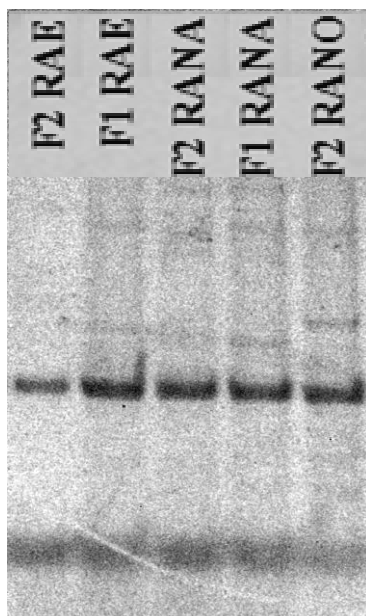
que houve presença de micro-organismos desnitrificantes no sistema, especialmente no reator anóxico da Fase 2. Este reator também apresentou a presença de *Anammox* e a atuação conjunta das desnitrificantes com a *Anammox* pode justificar a desnitrificação completa (com 100% de eficiência de remoção do nitrogênio) ocorrida durante 30 dias na segunda fase da experimentação (Nittami *et al.*, 2003).

Figura 30 - PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio *Bacteria* - BD



Após a amplificação das bandas, na Figura 31 é mostrado o perfil da DGGE para o Domínio Bacteria – BD obtido a partir da análise das amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2.

Figura 31 – Perfil de bandas das amostras de DGGE dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1 e 2 para o domínio *Bacteria* – BD

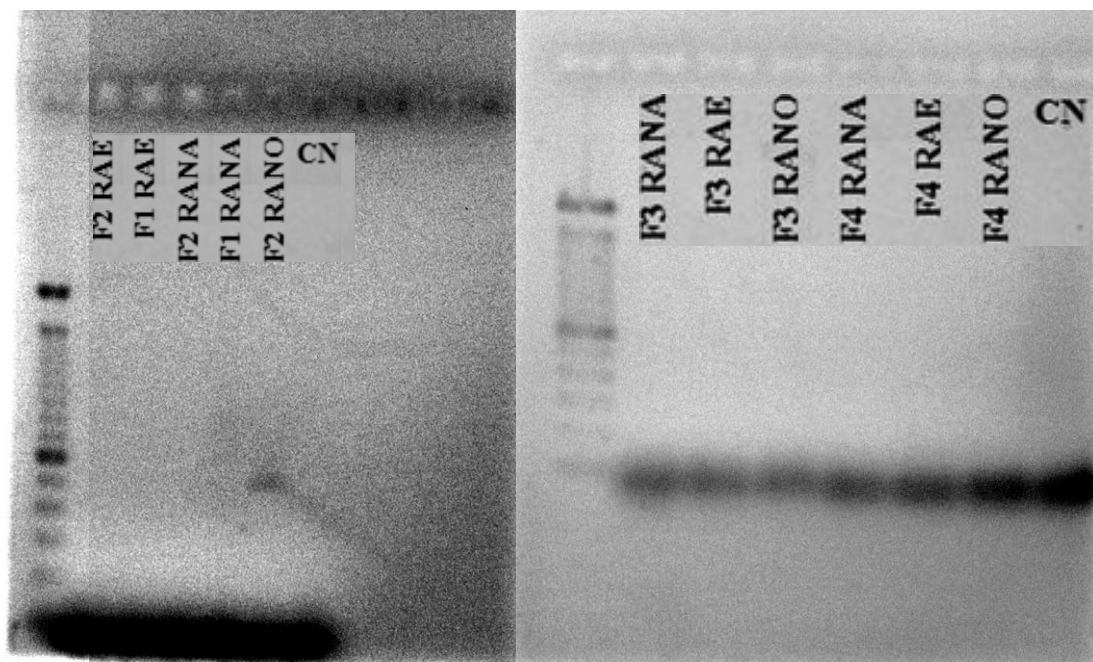


5.5.1.4 PCR de Anammox

O processo *Anammox* engloba a oxidação anaeróbia do íon amônio a nitrogênio gasoso, sob condições anóxicas, utilizando o nitrito como o acceptor final de elétrons (VAN DE GRAAF *et al.*, 1996; ARRIGO, 2005). Os micro-organismos *Anammox* são fisiologicamente diferenciados dos demais membros que oxidam o nitrogênio, pois são bactérias anaeróbias e quimiolitotróficas, como também constituem um importante grupo bacteriano com características muito raras ou únicas (SCHMID *et al.*, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2010).

A PCR para o Domínio *Bacteria* – *Anammox* foi realizada nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4. De acordo com os dados obtidos, conforme Figura 32, pode-se entender que houve presença *Anammox* apenas no reator anóxico durante a Fase 2 (TDH = 29,9 h e OD = 0,5-1,5 mg O₂.L⁻¹) do experimento. A não-amplificação do CN indica que não houve contaminação das amostras analisadas.

Figura 32 - PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 1, 2, 3 e 4 para o domínio Bacteria - *Anammox*



A presença de *Anammox* foi constatada na Fase 2 no interior do reator AE. Nesse mesmo período o experimento chegou a picos consecutivos (que duraram aproximadamente 30 dias), de 100% de desnitrificação com concentração de nitrato zero no efluente final (ANO). A aplicação do processo *Anammox* limita-se pela disponibilidade de biomassa *Anammox*, como também, pelo desafio relacionado ao cultivo e manutenção de amplas quantidades desses micro-organismos no reator. O isolamento e desenvolvimento das *Anammox*, a partir de um grupo de bactérias misto, necessitam de condições ótimas que propiciem, o seu desenvolvimento, ao mesmo tempo em que restringem o aumento dos demais tipos de micro-organismos (STROUS *et al.*, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2010). As condições aplicadas no reator AE na Fase 2, que apresentou as *Anammox*, estão descritas na Tabela 42. Não foi feito o procedimento da DGGE, pois a detecção da *Anammox* foi feita apenas em uma amostra no período experimental.

No reator anaeróbio, aeróbio e anóxico das Fases 3 e 4 não há coloração em nenhuma das amostras, mas é possível verificar a presença de dímeros que são considerados como “poluentes” na amostra, a contaminação é constatada pela intensidade de cor observada no controle negativo como verifica-se na Figura 32.

Tabela 42- Condições operacionais do reator anóxico da Fase 2 – presença de *Anammox*

TDH (h)	Q (L.d ⁻¹)	T (°C)	pH	OD (mgO ₂ .L ⁻¹)	Redox (mV)	NTK _{AF} (mgO ₂ .L ⁻¹)	NTK _{EF} (mgO ₂ .L ⁻¹)	Relação C/N
10	10,1	28	8,1	0,1	-77	12,7	6,2	10

5.5.2 Archaea

O método da PCR também foi aplicado para o Domínio *Archaea* e utilizados os indicadores específicos (*primers*) para categoria homônima nas amostras dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4. Perante o resultado positivo das amplificações na PCR conforme Figura 33, foi feita a DGGE para *Archaea*, como visto na Figura 34. A intensidade da coloração nas amostras analisadas indica a presença de população de *Archaea* nos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4. O fato da luminosidade estar mais representativa no reator anóxico da Fase 4 sugere que a presença mais intensa dessa população de micro-organismos (*Archaea*) se deu nesse reator. Tal situação pode indicar que a atividade metanogênica foi atingida por uma mistura microbiana de *Archaea* (ANDALIB *et al.*, 2012), pois as *Archaeas* metanogênicas detêm grande potencial de estabilizar a matéria orgânica e são micro-organismos anaeróbios estritos, isto é, se reproduzem principalmente em ambientes com oxigenação completamente ausente (CAMPOS *et al.*, 2006; NAKAYAMA, 2011).

Figura 33 - PCR dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4 para o domínio *Archaea*

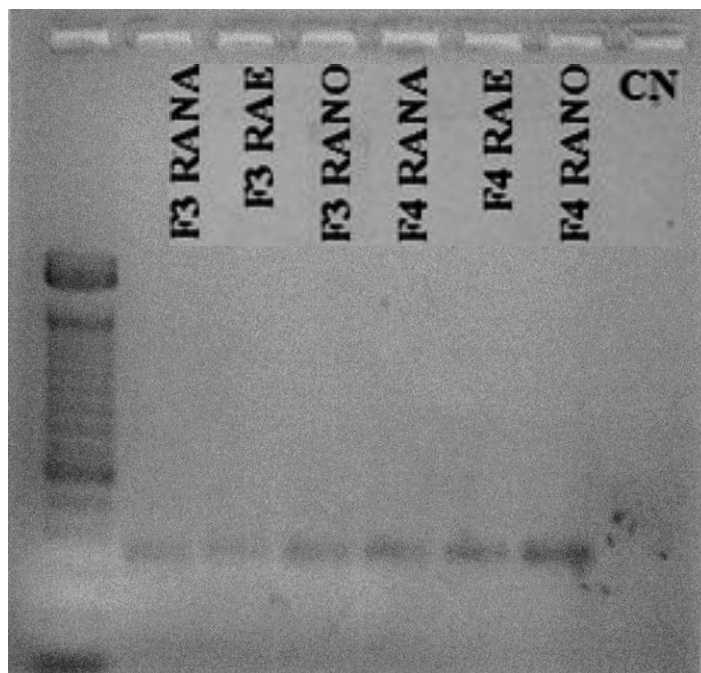
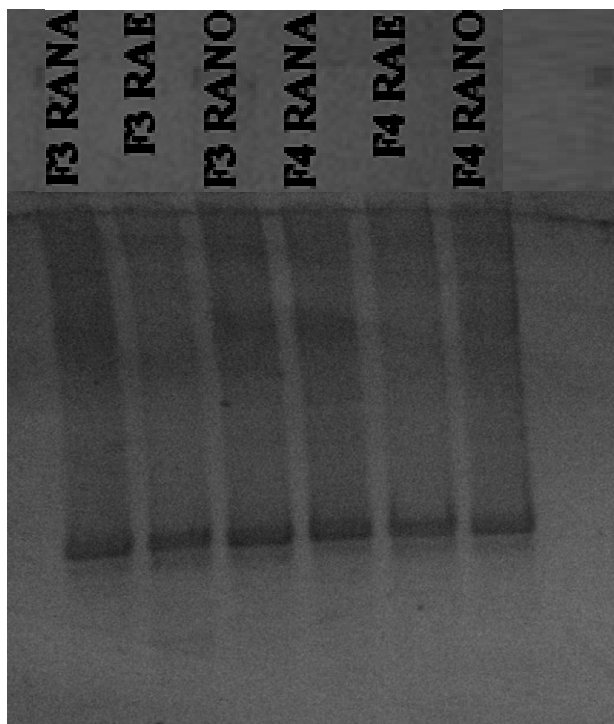


Figura 34 – Perfil de bandas das amostras de DGGE dos reatores ANA, AE e ANO das Fases 3 e 4 para o domínio *Archaea*



6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se inferir que o sistema de reatores anaeróbio-aeróbio-anóxico em série foi eficiente para a remoção de carbono e nitrogênio de efluente sintético, como também, na manutenção da temperatura e do pH na faixa mesofílica, além de ter mostrado condições de tamponamento do meio. A eficiência global de remoção no sistema foi, respectivamente, 88% e 52%, para DQO (bruta/filtrada) e NTK.

Os reatores (ANA, AE e ANO) permitiram a obtenção de boa eficiência quanto às funções planejadas para cada um no sistema. O reator anaeróbio no sistema removeu a matéria orgânica satisfatoriamente com DQO afluente (ANA) e DQO efluente (ANA) bruta/bruta de 227 e 54 mg O₂.L⁻¹ na Fase 1; 204 e 44 mg O₂.L⁻¹ na Fase 2; 190 e 36 mg O₂.L⁻¹ na Fase 3; e 230 e 33 mg O₂.L⁻¹ na Fase 4, respectivamente; bem como, e promoveu a conversão de N-NTK a N-NH₄⁺ de 5,8 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, 8,0 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, 8,0 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e 6,7 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ nas Fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. O reator aeróbio no sistema apresentou condições favoráveis à nitrificação para as Fases 1, 2, 3 e 4. O reator anóxico no sistema alcançou a desnitrificação na Fase 2, com a utilização da matéria orgânica residual através da relação DQO/NTK.

A maior remoção de carbono no sistema de reatores em série foi observada na Fase 4, cujas condições operacionais foram TDH por reator = 5h, OD no reator aeróbio = 1,1-2,5mg O₂.L⁻¹, COV = 0,303 (±0,047) kg DQO.m⁻³.d⁻¹ e eficiência de remoção matéria orgânica (DQO) bruta/filtrada de 90 (±5)%.

O pré-tratamento anaeróbio teve desempenho satisfatório na remoção de matéria orgânica em todo período experimental, com eficiência global de remoção de DQO bruta/filtrada de, aproximadamente, 85% para esse reator; esta remoção foi considerada extremamente importante para reduzir a competição na utilização de carbono entre micro-organismos heterotróficos e nitrificantes autotróficos no reator aeróbio. Nas Fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente, o pré-tratamento atingiu 83%, 86%, 88% e 83% de remoção de matéria orgânica (bruta/filtrada).

No reator aeróbio, a maior eficiência da nitrificação foi obtida com um TDH = 10h e concentração de OD = 1,1-2,1 mg O₂.L⁻¹, na Fase 3 do experimento. As variáveis verificadas

nessa fase foram eficiência de remoção de matéria orgânica (DQO bruta/filtrada) = 91%, taxa de conversão no reator anaeróbio de N-NTK a N-NH_4^+ de $8,0 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$. No entanto, foi observada uma diminuição na eficiência da desnitrificação, que pode estar relacionada com a proporção de DQO/NTK.

No reator anóxico, o melhor desempenho para desnitrificação ocorreu na Fase 2 com eficiência de remoção de nitrogênio de $88 (\pm 18) \%$. As condições operacionais aplicadas nessa fase foram TDH por reator = 10 h, relação DQO/NTK = 10, NTK afluyente (ANA) = $12,7 \text{ mg N-NTK} \cdot \text{L}^{-1}$, NTK efluente (ANO) = $6,2 \text{ mg N-NTK} \cdot \text{L}^{-1}$. Esta fase ocorreu durante 63 dias de experimento e em metade desse período (aproximadamente 30 dias) houve a desnitrificação completa com 100% de remoção e concentração de nitrato zero no efluente (ANO). A técnica de PCR (Biologia Molecular) detectou presença de *Anammox* no processo, o que pode indicar a justificativa do bom desempenho.

De acordo com a resposta dos testes de Biologia Molecular foi detectado no sistema nas Fases 1, 2, 3 e 4 a presença de bactérias oxidantes de amônia, bactérias oxidantes de nitrito e arqueas. A importante atuação desses micro-organismos na remoção de carbono e nitrogênio pode indicar o bom desempenho do sistema combinado ANA/AE/ANO.

O melhor desempenho de remoção simultânea (em uma mesma fase) no sistema para DQO (carbono) e NTK (nitrogênio) foi observado na Fase 3, cujas condições operacionais foram TDH por reator = 10 h, OD no reator aeróbio = $1,1\text{-}2,1 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, remoção de matéria orgânica (DQO) = $91 (\pm 5) \%$, taxa de conversão no reator anaeróbio de N-NTK a N-NH_4^+ de $8,0 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, relação DQO/NTK = 14 e eficiência de remoção de NTK de $87 (\pm 6) \%$.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A evolução realizada na área de remoção biológica de carbono e nitrogênio de efluentes até o momento é extremamente representativa, todavia ainda há fatores e processos que carecem de aprofundamento. Para a continuidade da pesquisa neste tema sugere-se:

Realizar o estudo em escala piloto com a finalidade de avaliar o comportamento do sistema ANA/AE/ANO nas condições operacionais utilizadas no tratamento de esgoto sanitário real;

Avaliar a performance do sistema através utilizando, também, amostras filtradas para a análise de DQO;

Estudar os AGVs gerados no processo de digestão anaeróbia com maior compreensão dos limitantes do processo de remoção da matéria orgânica;

Investigar o crescimento do biofilme, por meio da análise da concentração de sólidos voláteis (SV), para amostras coletadas com meio suporte;

Verificar um método de monitoramento e controle precisos da disponibilidade de OD no sistema de tratamento que propicie a avaliação contínua do processo;

Realizar Teste de Atividade Metanogênica Específica – AME de modo a analisar a produção de metano e a degradação da matéria orgânica;

Aprofundar a análise de Biologia Molecular das amostras a partir do sequenciamento das amostras amplificadas na PCR.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, G.; ZHANG, M.; LI, W.; ZHANG, J.; ZHENG, P. Performance stability of a lab-scale internal-loop airlift bio-particle reactor under substrate concentration shocks for simultaneous partial nitrification and anaerobic ammonia oxidation. **Separation and Purification Technology**, v. 141, p. 322-330, 2015.
- ABE, K.; KOMADA, M.; OOKUMA, A. Efficiency of removal of nitrogen, phosphorus and zinc from domestic wastewater by a constructed wetland system in rural areas: a case study. **Water Science and Technology**, v. 58 (12), p. 2427–2433, 2008.
- ABOOD, A.; BAO, J.; ABUDI, Z. Biological nutrient removal by internal circulation upflow sludge blanket reactor after landfill leachate pretreatment. **Journal Of Environmental Sciences-China**, v. 25(10), p. 2130-2137, 2013.
- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41 (8), p. 1709-1721, 2006.
- AIYUK, S.; FORREZ, I.; LIEVEN, D. K.; VERSTRAETE, W.; VAN HAANDEL, A.. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates-A review. **Bioresource Technology**, v. 97(17), p. 2225-2241, 2006.
- ALVAREZ, J. A., LEMA, J. M. A methodology for optimizing feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. **Bioresource. Technology**, v.101, p. 1153–1158, 2010.
- ANDALIB, M.; NAKHLA, G.; ZHU, J.; ANDALIB, M. High rate biological nutrient removal from high strength wastewater using anaerobic-circulating fluidized bed bioreactor (A-CFBBR). **Bioresource Technology**, v. 118, p. 526-535, 2012.
- APHA – American Public Health Association. Standard Methods for examination of water and wastewater. 22th ed. Washington, D.C.: ed. APHA, 2005.
- AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q.; CHERNICHARO, C. A. L. Aspectos práticos da demanda química de oxigênio teste (COD) aplicada à análise de efluentes anaeróbios. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 11, p. 295-304, 2006.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10 (2), p. 152-161, 2005.
- ARAÚJO, J. C.; CAMPOS, A. P.; CORREA M. M.; SILVA, E. C; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Enriquecimento de bactérias oxidantes de amônio anaeróbias - *Anammox*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.15 (2), 2010.
- ARRIGO, K. Marine microorganisms and global nutrient cycles. **Nature**, v. 438(7064), p. 122-122, 2005.
- ASLAN, S.; DAHAB, M. Nitrification and denitrification of ammonium-rich wastewater using fluidized-bed biofilm reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 156(1-3), p. 56-63, 2008.
- ASPÉ, E.; ROECKEL, M.; MARTÍ, C. Anaerobic treatment of fishery wastewater using a marine sediment inoculum. **Water Research**, v. 31(9), p. 2147-2160, 1997.

AUN, M. V. **Estudo da remoção de nitrogênio via nitrito e via nitrato em sistemas de lodo ativado alimentados por despejo com elevada concentração de fenol.** [Tese de Doutorado], Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 248p, 2007.

AYAZ, S. Ç.; AKÇAB, L.; AKTAŞA, Ö.; FINDIKA, N.; ÖZTÜRK, I. Pilot-scale anaerobic treatment of domestic wastewater in upflow anaerobic sludge bed and anaerobic baffled reactors at ambient temperatures. **Desalination and Water Treatment**, v. 46(1-3), p. 60-67, 2012.

BADRUZZAMAN, M.; PINZON, J.; OPPENHEIMER, J.; JACANGELO, J. G. Sources of nutrients impacting surface waters in Florida: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 109, p. 80-92, 2012.

BAL, A. S.; DHAGAT, N. N. Upflow anaerobic sludge blanket reactor-a review. **Journal of Environmental Health**, v. 43(2), p. 1-82, 2001.

BARCELOS, B. R. **Avaliação de diferentes inóculos na digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos orgânicos.** [Dissertação de Mestrado], Universidade de Brasília – UnB, 2009.

BASSIN, J. P.; DEZOTTI, M.; SANT'ANNA, G. L. Nitrification of industrial and domestic saline wastewaters in moving bed biofilm reactor and sequencing batch reactor. **Journal Hazard Mater**, v. 185, p. 242–248, 2011.

BAYRAM, A.; ÖNSOY, H.; BULUT, V.; AKINCI, G. Influences of urban wastewaters on the stream water quality: a case study from Gumushane Province, Turkey. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.185(2), p.1285-1303, 2013.

BEHERA, C. R.; SRINIVASAN, B.; CHANDRAN, K.; VENKATASUBRAMANIAN, V. Model based predictive control for energy efficient biological nitrification process with minimal nitrous oxide production. **Chemical Engineering Journal**, v. 268, p. 300-310, 2015.

BONIFASSIO, F. E. Implantação de um sistema de gestão ambiental nas Estações de nitrogênio amoniacal por meio de reator com cultura fixa em meio suporte operando em bateladas sequenciais. **Engenharia Ambiental**, v. 7(2), p. 190-203, 2010.

BORTOLI, M.; KUNZ, A.; SOARES, H. M.; BELLÍ FILHO, P.; COSTA, R. H. R. Emissão de óxido nitroso no processo de remoção de azoto biológico. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 17(1), p. 2, 2012.

BRASIL, CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº. 430.** Brasil: Brasília, 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 06 fev. 2015.

CALLADO, N.H.; FORESTI, E. **Tratamento de esgoto doméstico com remoção de nitrogênio e fósforo em reatores sequenciais em batelada.** In Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental – AIDIS, Porto Alegre, 2000.

CAMARGO, J.A; ALONSO A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. **Environ International**, v. 32(6), p. 831-49, 2006.

CAMPOS, C.; DO CARMO, F.; BOTELHO, C. G.; DA COSTA, C. C. Desenvolvimento e operação de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala de laboratório. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 30(1), p. 140-147, 2006.

CAO, Y. S.; ANG, C. M. Coupled UASB-activated sludge process for COD and nitrogen removals in municipal sewage treatment in warm climate. **Water Science Technology**, v. 60(11), p. 2829-39, 2009.

CARMEN, F.; ANUSKA, M. C.; LUIS, C. J.; RAMÓN, M. Post-treatment of fish canning effluents by sequential nitrification and autotrophic denitrification processes. **Process Biochemistry**, v. 48(9), p. 1368-1374, 2013.

CARRERA, J.; VICENT, T.; LAFUENTE, J. Effect of influent COD/N ratio on biological nitrogen removal (BNR) from high-strength ammonium industrial wastewater. **Process Biochemistry**, v. 39(12), p. 2035-2041, 2004.

CAVALCANTI, M. P. **Utilização de reatores híbridos para a remoção de carbono e nitrogênio em efluentes domésticos**. [Tese de Doutorado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2011.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology**, v. 99 (10) p. 4044-4064, 2008.

CHEN, J.; STROUS, M. Denitrification and aerobic respiration, hybrid electron transport chains and co-evolution. **BBA – Bioenergetics**, v. 1827(2), p. 136-144, 2013.

CHIDOZIE, C. N. A review of the upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, p. 22-24, 2014.

CHO, S.; FUJII, N.; LEE, T.; OKABE, S. Development of a simultaneous partial nitrification and anaerobic ammonia oxidation process in a single reactor. **Bioresource Technology**, v. 102(2), p. 652-659, 2011.

CHONG, S.; SEN, T. K.; KAYAALP, A.; ANG, H. M. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – a state-of-the-art review. **Water Research**, v. 46(11), p. 3434-3470, 2012.

CLAROS, J.; SERRALTA, J.; SECO, A.; FERRER, J.; AGUADO, D. Real-time control strategy for nitrogen removal via nitrite in a SHARON reactor using pH and ORP sensors. **Process Biochemistry**, v. 47(10), p. 1510-1515, 2012.

COELHO, N.; DROSTE, R.; KENNEDY, K. Evaluation of continuous mesophilic, thermophilic and temperature phased anaerobic digestion of microwaved activated sludge. **Water Research**, v. 45(9), p. 2822-2834, 2011.

CONLEY, D.J.; PAERL, H.W.; HOWART, R.W.; BOESCH, D.F.; SEITZINGER, S.P.; HAVENS, K. E.; LANCELOT, C.; LIKENS, G.E. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science**, v. 323 (5917), p. 1014–1015, 2009.

CONNOLLY, N.; PEARSON, R. C. Nutrient enrichment of a heterotrophic stream alters leaf litter nutritional quality and shredder physiological condition via the microbial pathway. **Hydrobiologia**, v. 718(1), p.85-92, 2013.

CUI, F.; LEE, S.; KIM, M. Removal of organics and nutrients from food wastewater using combined thermophilic two-phase anaerobic digestion and shortcut biological nitrogen removal. **Water Research**, v. 45(16), p. 5279-5286, 2011.

DAVEREY, A.; SU, S. H.; HUANG, Y. T.; LIN, J. G. Nitrogen removal from opto-electronic wastewater using the simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and

denitrification (SNAD) process in sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 225-231, 2013.

DAVISON, W.; WOOF, C. The dynamics of alkalinity generation by an anoxic sediment exposed to acid water. **Water Research**, v. 24(12), p. 1537-1543, 1990.

DELLA GIUSTINA, S. V.; SCHIAVO MIRANDA, L.; MONTEGGIA, L. Remoção de matéria orgânica e sólidos em suspensão por uma nova configuração de filtro aerado biológica no pós-tratamento de efluentes de reator UASB. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15(3), p. 257-266, 2010.

DI BELLA, G.; TORREGROSSA, M. Simultaneous nitrogen and organic carbon removal in aerobic granular sludge reactors operated with high dissolved oxygen concentration. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 706-713, 2013.

DIAS, J.; LOPES, W. S.; QUEIROZ, M. B.; OLIVEIRA, M. J. D.; BENTO, E. R. **Comportamento do pH e da alcalinidade no processo de digestão anaeróbia de efluentes oleosos**. 2008.

DINÇER, A. R.; KARGI, F. Kinetics of Sequential Nitrification and Denitrification Process. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 27, p. 37-42, 2000.

DONOSO-BRAVO, A.; MAILIER, J.; MARTIN, C.; RODRÍGUEZ, J.; ACEVES-LARA, C. A.; WOUWER, A. V. Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: A review. **Water Research**, v. 45(17), p. 5347-5364, 2011.

DURAND, P. In The European nitrogen assessment: sources, effects and policy perspectives. **Nitrogen processes in aquatic ecosystems**. p. 126-146, 2011.

EHRICH, S.; BEHRENS, D.; LEBEDEVA, E.; LUDWIG, W.; BOCK, E. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. **Archives of Microbiology**, v. 164, p. 16-23, 1995.

ERISMAN, J. W.; GALLOWAY, J. N.; SEITZINGER, S.; BLEEKER, A.; DISE, N. B.; PETRESCU, A.; ROXANA, M.; LEACH, A. M.; DE VRIES, W. Philosophical transactions of the Royal Society of London. **Biological Sciences**, v. 368(1621), p. 20130116, 2013.

FAN, J.; LI, H.; SHUANG, C.; LI, W.; LI, A. Dissolved organic matter removal using magnetic anion exchange resin treatment on biological effluent of textile dyeing wastewater. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26(8), p. 1567-1574, 2014.

FARRUGIA, B. Sistemas biológicos para tratamento de efluentes. **Revista TAE**, v. 5(1), p. 25, 2012.

FERNANDES, C. **Esgotos Sanitários**, Editora Universitária/UFPB, João Pessoa, 1997, 435p. Reimpressão Janeiro/2000.

FIA, F. R. L.; MATOS, A. T.; FIA, R. Biological systems coupled for treating wastewater from processing coffee cherries: I – Removal of organic matter. **Acta Scientiarum: Technology**, v. 35, p. 205-211, 2013.

FIGUEIRÊDO, M.C.B.; TEIXEIRA, A. S.; ARAÚJO, L. F. P.; ROSA, M. F.; PAULINO, W. D.; MOTA, S.; ARAÚJO, J.C. Avaliação da vulnerabilidade ambiental de reservatórios à eutrofização. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, p. 399-409, 2007.

FIGUEROA, M.; VAZQUEZ-PADIN, J.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.; MENDEZ, R. Is the CANON reactor an alternative for nitrogen removal from pre-treated swine slurry? **Biochemical Engineering Journal**, v. 65, p. 23-29, 2012.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; VAN HAANDEL, A.C.; ZAIAT, M; CAVALCANTI, P. F. F. **Fundamentos do tratamento anaeróbio**. In Campos, J. R. (org). Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. Rio de Janeiro: PROSAB, p29-52. 1999.

FRISON, N.; CHIUMENTI, A.; KATSOU, E.; MALAMIS, S.; BOLZONELLA, D.; FATONE, F. Mitigating off-gas emissions in the biological nitrogen removal via nitrite process treating anaerobic effluents. **Journal of Cleaner Production**, v. 93, p. 126-133, 2015.

FU, Z.; YANG, F.; ZHOU, F.; XUE, Y. Control of COD/N ratio for nutrient removal in a modified membrane bioreactor (MBR) treating high strength wastewater. **Bioresource Technology**, v. 100(1), p. 136-141, 2009.

GAO, Y.; PENG, Y.; ZHANG, J.; WANG, J.; YE, L. Using excess sludge as carbon source for enhanced nitrogen removal and sludge reduction with hydrolysis technology, **Water Science & Technology**, v. 62(7), p. 1536-1543, 2010.

GARBOSSA, L. H. P. **Avaliação de sistemas anaeróbio - aeróbio com biomassa imobilizada para remoção de matéria carbonácea e nitrogênio de esgoto sanitário e uso do biogás na desnitrificação**. [Tese de Doutorado], Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo – USP, 2006.

GARCIA, D.A. **Aplicación de Métodos Estadísticos Multivariantes para la Modelación la Monitorización de un Reactor Discontinuo Secuencial para el Tratamiento de Águas Residuales**. [Tesis doctoral], Universidad Politécnica de Valencia, España, p. 297, 2005.

GE, S. J.; WANG, S.; YANG, X.; QIU, S.; LI, B.; PENG, Y. Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. **Chemosphere**, v. 140, p. 85-98, 2015.

GE, S.; AGBAKPE, M.; WU, Z.; KUANG, L.; ZHANG, W.; WANG, X. Influences of surface coating, UV irradiation and magnetic field on the algae removal using magnetite nanoparticles. **Environmental Science Technology**, v. 49(2), p. 1190–1196, 2015.

GE, S.; PENG, Y.; QIU, S.; ZHU, A.; REN, N. Complete nitrogen removal from municipal wastewater via partial nitrification by appropriately alternating anoxic/aerobic conditions in a conditions in a continuous plug-flow step feed process. **Water Research**, v. 55, p. 95-105, 2014.

GE, S.; ZHU, Y.; LU, C.; WANG, S.; PENG, Y. Full-scale demonstration of step feed concept for improving an anaerobic/anoxic/aerobic nutrient removal process. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 305-313, 2012.

GERARDI, M. H. **Wastewater Bacteria**. John Wilwy & Sons, New Jersey, 2006.

GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S.; ROGALLA, F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307-314, 2014.

GOHIL, A.; NAKHLA, G. Treatment of tomato processing wastewater by an upflow anaerobic sludge blanket–anoxic–aerobic system. **Bioresource Technology**, v. 97(16), p. 2141-2152, 2006.

GOMEZ, C. Y. High-rate anaerobic treatment of domestic wastewater at ambient operating temperatures: A review on benefits and drawbacks. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 45(10), p. 1169-84, 2010.

GONÇALVES, F. B., SOUZA, A. P. **Disposição oceânica de esgotos sanitários: história e prática**. Rio de Janeiro: ABES, 1 ed. 1997.

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; MORILLO, J. A.; GARCIA-RUIZ, M. J.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; OSORIO, F.; MARTINEZ-TOLEDO, M. V.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Archaeal populations in full-scale autotrophic nitrogen removal bioreactors operated with different technologies: CANON, DEMON and partial nitrification/anammox. **Chemical Engineering Journal**, v. 277, p. 194-201, 2015.

GUO, J.; ZHANG, L.; CHEN, W.; MA, F.; LIU, H.; TIAN, Y. The regulation and control strategies of a sequencing batch reactor for simultaneous nitrification and denitrification at different temperatures. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 59–67, 2013.

GÜVEN, D. Effects of different carbon sources on denitrification efficiency associated with culture adaptation and C/N ratio. **Clean**, v. 37 (7), p. 565 – 573, 2009.

GÜVEN, D.; DAPENA, A.; KARTAL, B.; SCHMID, M. C.; MAAS, B.; VAN DE PAS-SCHOODEN, K.; SOZEN, S.; MENDEZ, R.; OP DEN CAMP, H. J.; JETTEN, M. S.; STRONS, M.; SCHMIDT, I. Propionate oxidation by and metanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. **Environmental Microbiology**, v. 71, p. 1066 – 1071, 2005.

HAMMES, F.; KALOGO, Y.; VERSTRAETE, W. Anaerobic digestion technologies for closing the domestic water, carbon and nutrient cycles. **Water Science Technology**, v. 41, p. 203–211, 2000.

HAN, Y.; SUNG, S.; DAGUE, Y. Temperature-phased anaerobic digestion of wastewater sludges. **Water Science and Technology**, v. 36 (6-7), p. 367-374, 1997.

HARPER, S. R.; POLAND, F. G. Recent development in hydrogen management during wastewater treatment. **Biotechnology e Bioengineering**, v. 28, p. 585-602, 1986.

HASEGAWA, F. A. **Remoção Combinada de DQO e Nitrogênio via nitrito de água residuária da suinocultura em um único reator SBR**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Florianópolis, SC, 2008.

HE, S.; NIU, Q.; MA, H.; ZHANG, Y.; LI, Y. Y. The Treatment Performance and the Bacteria Preservation of Anammox: A Review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226(5), p. 1-16, 2015.

HIDAKA, T.; YAMADA, H.; KAWAMURA, M.; TSUNO, H. Effect of dissolved oxygen conditions on nitrogen removal in continuously fedintermittent-aeration process with two tanks. **Water Science and Technology**, v. 45(12), p.181-188, 2002.

HIKUMA, M.; NAKAJIMA, M.; HIRAI, T.; MATSUOKA, H. Rapid Detection of Ammonia-oxidizing Bacteria in Activated Sludge Based on 16S-rRNA Gene by Using PCR and Fluorometry. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 7(5), p.323-326, 2002.

HOU, J.; YOU, G.; XU, Y.; WANG, C.; WANG, P.; MIAO, L.; AO, Y.; LI, Y.; LV, B. Effects of CeO₂ nanoparticles on biological nitrogen removal in a sequencing batch biofilm reactor and mechanism of toxicity. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 73-78, 2015.

HU, X.; XIE, L.; SHIM, H.; ZHANG, S.; YANG, D. Biological Nutrient Removal in a Full Scale Anoxic/Anaerobic/Aerobic/Pre-anoxic-MBR Plant for Low C/N Ratio Municipal Wastewater Treatment. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 22(4), p. 447-454, 2014.

HU, Z.; CHANDRAN, K.; GRASSO, D.; SMETS, B. F. Comparison of nitrification inhibition by metals in batch and continuous flow reactors. **Water Research**, v. 38, p. 3949–3959, 2004.

HUANG, M. H.; LI, Y. M.; GU, G. W.. Toxicity reduction of municipal wastewater by anaerobic-anoxic-aerobic process. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 23, p. 481-486, 2010.

HUBAUX, N.; WELLS, G.; MORGENROTH, E. Impact of coexistence of flocs and biofilm on performance of combined nitrification-anammox granular sludge reactors. **Water Research**, v. 68, p. 127-139, 2015.

IAMAMOTO, C. Y. **Remoção de nitrogênio de águas residuárias com elevada concentração de nitrogênio amoniacal em reator contendo biomassa em suspensão operado em batelada sequenciais e sob aeração intermitente**. [Tese de Doutorado]. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo – USP, 2006.

ITOI, S.; EBIHARA, N.; WASHIO, S.; SUGITA, H. Nitrite-oxidizing bacteria, *Nitrospira*, distribution in the outer layer of the biofilm from filter materials of a recirculating water system for the goldfish *Carassius auratus*. **Aquaculture**, v. 264(1-4), p. 297-308, 2007.

JAKSZYN, P.; GONZÁLEZ, C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. **World J. Gastroenterol.** v. 12, p. 4296–4303, 2006.

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

JEWELL, W. J. Anaerobic sewage treatment. **Environmental Science and Technology**, v. 21(1), p. 14-21, 1987.

JIA, W.; ZHANG, J.; XIE, H.; YAN, Y.; WANG, J.; ZHAO, Y.; XU, X. Effect of PHB and oxygen uptake rate on nitrous oxide emission during simultaneous nitrification denitrification process. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 232-238, 2012.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 3.ed., Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, 1995 – 681 p.

JUNIER, P.; MOLINA, V.; DORADOR, C.; HADAS, O.; KIM, O. S.; WITZEL, K. P.; IMHOFF, J. F. Phylogenetic and functional marker genes to study ammonia-oxidizing microorganisms (AOM) in the environment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85 (3), p. 425–440, 2010.

KARTAL, B.; KUENEN, J. G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Sewage Treatment with *Anammox*. **Science**, v. 328, p. 702, 2010.

KATIPOGLU-YAZAN, T.; UBAY COKGOR, E.; INSEL, G.; ORHON, D. Is ammonification the rate limiting step for nitrification kinetics? **Bioresource Technology**, v. 114, p. 117-125, 2012.

KELUSKAR, R.; NERURKAR, A.; DESAI, A. Development of a simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonia oxidation and denitrification (SNAD) bench scale process for removal of ammonia from effluent of a fertilizer industry. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 390-397, 2013.

KHIN, T.; ANNACHHATRE, A. P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22(7), p. 519-532, 2004.

KIM, Y. M.; LEE, D. S.; PARK, C.; PARK, D.; PARK, J. M. Effects of free cyanide on microbial communities and biological carbon and nitrogen removal performance in the industrial activated sludge process. **Water Research**, v. 45(3), p. 1267-1279, 2011.

KOMOROWSKA-KAUFMAN, M.; MAJCHEREK, H.; KLACZYŃSKI, E. Factors affecting the biological nitrogen removal from wastewater. **Process Biochemistry**, v. 41 p. 1015 – 1021, 2006.

KOTAY, S. M.; MANSELL, B. L.; HOGSETT, M.; PEI, H.; GOEL, R. Anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX) for side-stream treatment of anaerobic digester filtrate process performance and microbiology. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 110(4), p. 1180-1192, 2013.

KRUSE, M.; KEUTER, S.; BAKKER, E.; SPIECK, E.; EGGERS, T.; LIPSKI, A. Relevance and Diversity of Nitrospira Populations in Biofilters of Brackish RAS. **Plos One**, v. 8(5), 2013.

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

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

LATZA, U.; GERDES, S.; BAUR, X. Effects of nitrogen dioxide on human health: Systematic review of experimental and epidemiological studies conducted between 2002 and 2006. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 212(3), p. 271-287, 2009.

LAY, J. J.; LI, Y. Y.; NOIKE, T.; ENDO, J.; ISHIMOTO, S. Analysis of environmental factors affecting methane production from high-solids organic waste. **Japan Elsevier Science**, v. 36 (7), p. 493 – 500, 1997.

LEME, E. J. A. **Manual prático de tratamento de águas residuárias**. São Carlos: Edufscar, 2010. 595 p.

LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67(1), p. 3-28, 1995.

LETTINGA, G. Digestion and degradation, air for life. **Water Science Technology**, v. 44, p. 157–176, 2001.

LETTINGA, G.; REBAC, S.; ZEEMAN, G. Challenge anaerobic treatment of waste water psychrophilic. **Trends in Biotechnology**, v. 19 (9), p. 363-370, 2001.

LI, C.; YANG, J.; WANG, X.; WANG, E.; LI, B.; HE, R.; YUAN, H. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification–aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 18-25, 2015.

LI, X. X.; XU, K.; FU, W.; WANG, J.; ZHU, Y.; LI, C.; ZHOU, X. Simultaneous in-situ excess sludge reduction and removal of organic carbon and nitrogen by a pilot-scale continuous aerobic-anaerobic coupled (CAAC) process for deeply treatment of soybean wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 85, p. 30-37, 2014.

LI, X.; XIAO, Y.; LIAO, D.; ZHENG, W.; YI, T.; YANG, Q.; ZENG, G. Granulation of Simultaneous Partial Nitrification and Anammox Biomass in One Single SBR System. **Biochemistry and Biotechnology**, v. 163(8), p. 1053-1065, 2011.

LI, Y.; LI, H.; SUN, T.; WANG, X. Study on nitrogen removal enhanced by shunt distributing wastewater in a constructed subsurface infiltration system under intermittent operation mode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189(1), p. 336-341, 2011.

- LI, Z.; XU, X.; SHAO, B.; ZHANG, S.S.; YANG, F. L. Anammox granules formation and performance in submerged anaerobic membrane bioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 254, p. 9-16, 2014.
- LIM, J.; DO, H.; SHIN, S. G.; HWANG, S. Primer and probe sets for group-specific quantification of the genera *Nitrosomonas* and *Nitrospira* using real-time PCR. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 99(6), p.1374-1383, 2008.
- LIM, S. J.; KIM, T. H. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. **Biomass and Bioenergy**, v.60, p. 189-202, 2014.
- LIU, J.; JIAO, N.; TANG, K. L. J. An experimental study on the effects of nutrient enrichment on organic carbon persistence in the western Pacific oligotrophic gyre. *Biogeosciences*, v. 23, p. 5115-5122, 2014.
- LIU, T.; LI, D.; ZENG, H.; LI, X.; LIANG, Y.; CHANG, X.; ZHANG, J. Distribution and genetic diversity of functional microorganisms in different CANON reactors. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 574-580, 2012.
- LIU, Y.; SHI, H.; XIA, L.; SHI, H.; SHEN, T.; WANG, Z.; WANG, G.; WANG, Y. Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 101(3), p. 901-906, 2010.
- LU, H.; EKAMA, G.; WU, D.; FENG, J.; VAN LOOSDRECHT, M.; CHEN, G.; LU, H. SANI registered process realizes sustainable saline sewage treatment: Steady state model-based evaluation of the pilot-scale trial of the process. **Water Research**, v. 46(2), p. 475-490, 2012.
- LUOSTARINENA, S.; LUSTEA, S.; VALENTÍN, L.; RINTALAA, J. Nitrogen removal from on-site treated anaerobic effluents using intermittently aerated moving bed biofilm reactors at low temperatures. **Water Research**, v. 40(8), p. 1607-1615, 2006.
- MADSEN, M.; HOLM-NIELSEN, J. B.; ESBENSEN, K. H. Monitoring of anaerobic digestion processes: A review perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15(6), p. 3141-3155, 2011.
- MAGRÍ, A.; BÉLINE, F.; DABERT, P. Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing – An overview. **Journal of Environmental Management**, v. 131, p. 170-184, 2013.
- MALAMIS, S.; KATSOU, E.; FRISON, N.; DI FABIO, S.; NOUTSOPOULOS, C.; FATONE, F. Start-up of the completely autotrophic nitrogen removal process using low activity anammox inoculum to treat low strength UASB effluent. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 467-473, 2013.
- MALTA, T. S. **Aplicação de lodos de estações de tratamento de esgotos na agricultura: estudo do caso do município de Rio das Ostras - RJ**. [Dissertação de Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 2001. 68 p.
- MARINHO, I. C. **Otimização dos fatores que influenciam a biodegradação e adsorção do alquilbenzeno linear sulfonado no tratamento anaeróbio**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife-PE, 2015.
- MARTINEZ-SOSA, D.; HELMREICH, B.; NETTER, T.; PARIS, S.; BISCHOF, F.; HORN, H. Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) for municipal wastewater treatment under mesophilic and psychrophilic temperature conditions. **Bioresource Technology**, v.102(22), p. 10377-10385, 2011.

MAYER, M.; SMEETS, W.; BRAUN, R.; FUCHS, W. Enhanced ammonium removal from liquid anaerobic digestion residuals in an advanced sequencing batch reactor system. **Water Science & Technology**, v. 60(7), p. 1649-1660, 2009.

MEGER, D. G. **Material particulado suspenso e macroconstituintes iônicos em um reservatório de abastecimento: o caso do rio Passaúna, Curitiba, Paraná, Brasil**. [Dissertação de Mestrado] Centro Universitário Positivo – UNICENP; 2007. 144 p.

MENDONÇA, M. C. M. **Tratamento de água de produção em reator anaeróbio**. [Tese de Doutorado] Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; 2009. 155 p.

MENG, X.; LIU, D.; YANG, K.; SONG, X.; ZHANG, G.; YU, J.; ZHANG, J.; TANG, Y.; LI, K. A full scale anaerobic-anoxic-aerobic process coupled with low-dose ozonation for performance improvement. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 240-246, 2013.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse**. 4^a Ed., McGraw-Hill, Boston, 2003.

MIAO, L.; WANG, S.; LI, B.; CAO, T.; XUE, T.; PENG, Y. Advanced nitrogen removal via nitrite using stored polymers in a modified sequencing batch reactor treating landfill leachate. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 354-360, 2015.

MIKI, M. K. Práticas operacionais e de empreendimentos - Dilemas do UASB. **Revista DAE**. p. 25 - 37, 2010.

MODIN, O.; FUKUSHI, K.; RABAEY, K.; ROZENDAL, R. A.; YAMAMOTO, K. Redistribution of wastewater alkalinity with a microbial fuel cell to support nitrification of reject water. **Water Research**, v. 45(8), p. 2691-2699, 2011.

MOHARRAM, M. A.; ABDELHALIM, H. S.; ROZAIK; E. H. Anaerobic up flow fluidized bed reactor performance as a primary treatment unit in domestic wastewater treatment. **Housing and Building National Research Center Journal**, 2015.

MONBALLIU, A.; DESMIDT, E.; GHYSELBRECHT, K.; DE CLIPPELEIR, H.; VAN HULLE, S.; VERSTRAETE, W.; MEESSCHAERT, B. Enrichment of anaerobic ammonium oxidizing (Anammox) bacteria from OLAND and conventional sludge: Features and limitations. **Separation And Purification Technology**, v. 104, p. 130-137, 2013.

MONROY, O.; FAMA, G.; MERAZ, M.; MONTOLYA, L.; MACARIE, H. Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: state of the technology. **Water Research**, v. 34(6), p. 1803–1816, 2000.

MORAIS, J. C. **Avaliação da eficiência e dos problemas operacionais de uma estação de tratamento de esgotos ao longo de 13 anos de monitoramento**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2011, p. 127.

MOREIRA, E. I. R. **Remoção de compostos recalcitrantes de água para consumo humano pelo processo Fenton heterogêneo**. 2013.

MORRAS, M.; DOSTA, J.; GARCÍA-HERAS, J. Aerobic/anoxic post-treatment of anaerobically digested sewage sludge as an alternative to biological nitrogen removal from reject water. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38(5), p. 823-831, 2015.

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

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

MOYA, J.; HUILINIR, C.; PEREDO, K.; ASPE, E.; ROECKEL, M. Modeling of simultaneous denitrification - Anaerobic digestion - Organic matter aerobic oxidation and nitrification in an anoxic-anaerobic-aerobic compact filter reactor. **Journal of Biotechnology**, v. 160(3-4), p. 176-188, 2012.

MU, Y.; YU, H. Q.; WANG, Y. The role of pH in the fermentative H₂ production from an acidogenic granule-based reactor. **Chemosphere**, v. 64(3), p. 350-358, 2006.

NAKAYAMA, C. R.; KUHN, E.; ARAÚJO, A. C. V.; ALVALÁ, P. C.; FERREIRA, W. J.; VAZOLLER, R. F.; PELLIZARI, V. H. Revealing archaeal diversity patterns and methane fluxes in Admiralty Bay, King George Island, and their association to Brazilian Antarctic Station activities. **Deep-Sea Research Part II**, v. 58(1), pp.128-138, 2011.

NASEER, R.; ABUALHAIL, S.; XIWU, L. Biological nutrient removal with limited organic matter using a novel anaerobic–anoxic/oxic multi-phased activated sludge process. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20(1), p. 11-21, 2013.

NGUYEN, D.; NITAYAVARDHANA, S.; GADHAMSHETTY, V.; KHANAL, S. K. Automatic process control in anaerobic digestion technology: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 513-522, 2015.

NHAT, P. T.; BIEC, H. N.; TUYET MAI, N. T.; THANH, B. X.; DAN, N. P. Application of a partial nitrification and anammox system for the old landfill leachate treatment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, p. 144-150, 2014.

NITTAMI, T.; KURISU, F.; SATOH, H.; MINO, T. Analysis of the populations of denitrifying bacteria in activated sludge by PCR-DGGE analysis of the nirS nitrite reductase genes. **J. Japan Society on Water Environ**, v. 26, p. 583-588, 2003.

NOCKO, L. M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido à aeração intermitente**, [Dissertação de Mestrado] Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo: São Carlos. p. 130, 2008.

NOPHARATANA, A.; PULLAMMANAPPALLIL, P. C.; CLARKE, W. P. A dynamic mathematical model for sequential leach bed anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13(1), p. 21-33, 2003.

NYENJE, P. M.; FOPPEN, J. W.; UHLENBROOK, S.; KULABAKO, R.; MUWANGA, A. Eutrophication and nutrient release in urban areas of sub-Saharan Africa — A review. **Science of the Total Environment**, v. 408(3), p. 447-455, 2010.

OCZKOWSKI, A.; NIXON, S. Increasing nutrient concentrations and the rise and fall of a coastal fishery: a review of data from the Nile Delta, Egypt. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 77, p. 309–319, 2008.

ORMEROD, S. J.; DURANCE, I. Restoration and recovery from acidification in upland Welsh streams over 25 years. **Journal Ecology**, v. 46, p. 164–174, 2009.

OYANEDEL-CRAVER, V.; LAZAROVA, V.; GARRIDO, J. M. Comparative study between a hybrid system and a biofilm system for the treatment of ammonia and organic matter in wastewaters. **Journal of Environmental Engineering**, v. 135 (5), p. 351–358, 2009.

PAREDES, D.; KUSCHK, P.; MBWETTE, T. S. A.; STANGE, F.; MÜLLER, R. A.; KÖSER, H. New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment – A Review. **Engineering in Life Sciences**, v. 7(1), p. 13–25, 2007.

PARK, H.; ROSENTHAL, A.; JEZEK, R.; RAMALINGAM, K.; FILLOS, J.; CHANDRAN, K. Impact of inocula and growth mode on the molecular microbial ecology of anaerobic ammonia oxidation (anammox) bioreactor communities. **Water Research**, v. 44(17), p. 5005-5013, 2010.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. F.; PEREIRA, C. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água**. Colombo: Embrapa, 2011.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MONTERANI, F. Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. **An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 4(3), p. 157-168, 2009.

PEREIRA-RAMIREZ, O.; QUADRO, M. S.; ANTUNES, R. M.; KOETZ, P. R. Influence of recirculation flow and alkalinity on the performance of an uasb reactor on Piggery slurry treatment. **Agrociencia**, v. 10 (1), p. 103-110, 2004.

PERVIN, H. M.; DENNIS, P. G.; LIM, H. J.; TYSON, G. W.; BATSTONE, D. J.; BOND, P. L. Drivers of microbial community composition in mesophilic and thermophilic temperature-phased anaerobic digestion pre-treatment reactors. **Water Research**, v. 47(19), p. 7098-7108, 2013.

PURKHOLD, U.; POMMERENING-RÖSER, A.; JURETSCHKO, S.; SCHMID, M. C.; KOOPS, P.; WAGNER, M. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 5368-5382, 2000.

RENTERIA, L. M. M. **Spatial and temporal patterns of autotrophic nitrogen oxidizers in environmental biotechnology**. [Master of Environmental sanitation], Faculty of Bioscience Engineering, Universiteit Gent, Bélgica, 2012.

RIBEIRO, N. J. S. **Estudos dinâmicos do processo de digestão anaeróbia com vista ao desenvolvimento de um sistema inteligente de supervisão baseado em conhecimento**. Universidade do Minho, 1999.

SAHARIAH, B.; CHAKRABORTY, S. Kinetic analysis of phenol, thiocyanate and ammonia-nitrogen removals in an anaerobic-anoxic-aerobic moving bed bioreactor system. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 190(1-3), p. 260-267, 2011.

SANT'ANNA JUNIOR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciencia, 2010.

SANTÍN, I.; PEDRET, C.; VILANOVA, R.; MENESES, M. Removing violations of the effluent pollution in a wastewater treatment process. **Chemical Engineering Journal**, v. 279, p. 207-219, 2015.

SANTOS, M. V. A. **Filtros de pedra de fluxo horizontal como pós-tratamento de lagoa de estabilização: remoção de sólidos suspensos e cianobactérias**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2014.

SATTAYATEWA, C.; PAGILLA, K.; SHARP, R.; PITT, P. Fate of organic nitrogen in four biological nutrient removal wastewater treatment plants. **Water Environment Research**, v. 82 (12), p. 2306–2315, 2010.

SCHAUBROECK, T.; DE CLIPPELEIR, H.; WEISSENBACHER, N.; DEWULF, J.; BOECKX, P.; VLAEMINCK, S. E.; WETT, B. Environmental sustainability of an energy self-sufficient sewage treatment plant: Improvements through DEMON and co-digestion. **Water Research**, v. 74, p. 166–179, 2015.

SCHMID, M.; SCHMITZ-ESSER, S.; JETTEN, M.; WAGNER, M. 16S-23S rDNA intergenic spacer and 23S rDNA of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: implications for phylogeny and in situ detection. **Environmental Microbiology**, v. 3(7), p.450-459, 2001.

SCHRAMM, A.; DE BEER, D.; WAGNER, M.; AMANN, R. Identification and activities in situ of *Nitrosospora* and *Nitrospira* spp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 3480–3485, 1998.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H.V. M.; LETTINGA, G. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65(3), p. 175–190, 1998.

SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO – SAAE. **Sistemas de Tratamento de Esgoto**. Aracruz-ES, 2006.

SHOJI, T.; NITTAMI, T.; ONUKI, M.; SATOH, H.; MINO, T. Microbial community of biological phosphorus removal process fed with municipal wastewater under different electron acceptor conditions. **Water Science Technology**, v.54(1), p.81-9, 2006.

SILVA, J. B. **Biodegradabilidade Anaeróbia de água de produção de petróleo**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2009.

SILVA, K. K. B. **Avaliação do desempenho de sistemas de tratamento aeróbio e anaeróbio e das características do lodo de esgoto doméstico**. [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2004.

SILVA, S. A., MARA, D. D. **Tratamento biológico de águas residuárias: lagoas de estabilização**. 1. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1979.

SILVEIRA, G. S. Estudo de co-digestão anaeróbia de lamas domésticas com o efluente da indústria da fermentação da levedura do pão da empresa mauri fermentos. [Dissertação de Mestrado], Universidade Nova de Lisboa, 2009.

SOUTO, G. D. B. **Lixiviado de aterros sanitários brasileiros – estudo de remoção de nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“Stripping”)**. [Tese de Doutorado], Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2009.

SOUZA, L. F. C. **Fatores interferentes na degradação anaeróbia do alquilbenzeno linear sulfonado**. [Tese de Doutorado], Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2013.

SPANNING, R.; RICHARDSON, D.J.; FERGUSON, S.J. Introduction to the Biochemistry and Molecular Biology of Denitrification. **Biology of the Nitrogen Cycle**. p. 198-217, 2007.

SPINOLA, A. L. G. **Biofilmes aeróbios para remoção de nitrogênio em células de fluxo, submetidos a diferentes velocidades superficiais e taxas de carregamento.** [Dissertação de Mestrado], Universidade de São Paulo, 2009.

STROUS, M.; PELLETIER, E.; MANGENOT, S.; RATTEI, T.; LEHNER, A.; TAYLOR, M.; HORN, M.; DAIMS, H.; BARTOL-MAVEL, D.; WINCKER, P.; BARBE, V.; FONKNECHTEN, N.; VALLENET, D. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. **Nature**, v. 440, p. 790–794, 2006.

STROUS, M.; FUERST, J. A.; KRAMER, E. H. M.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; WEBB, R.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Missing lithotroph identified as new planctomycete. **Nature**, v. 400, p. 446–449, 1999.

SU, C.; ZHU, L.; ZHANG, C.; QI, X.; GUO, Y.; GAO, R. Microbial community of aerobic granules for ammonium and sulphide removal in a sequencing batch reactor. **Biotechnology Letters**, v. 34(5), p. 883–888, 2013.

SUMINO, T.; KAZUICHI, I.; HAJIME, I.; YUKO, S. B.; TOYOKAZU, Y. Nitrogen removal from wastewater using simultaneous nitrate reduction and anaerobic ammonium oxidation in single reactor. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 102(4), p. 346–351, 2006.

SUN, S. P.; PELLICER, C.; MERKEY, B.; ZHOU, Q.; XIA, S. Q.; YANG, D. H.; SUN, J. H.; SMETS, B. S. Effective Biological Nitrogen Removal Treatment Processes for Domestic Wastewaters with Low C/N Ratios: A Review. **Environmental Engineering Science**, v. 27(2), p. 111–126, 2010.

SUNEETHI, S.; JOSEPH, K. Anammox process start up and stabilization with an anaerobic seed in Anaerobic Membrane Bioreactor (AnMBR). **Bioresource Technology**, v. 102(19), p. 860–886, 2011.

SUNG, S.; SANTHA, H. Performance of temperature-phased anaerobic digestion (TPAD) system treating dairy cattle wastes. **Water Research**, v. 37 (7), p. 1628–1636, 2003.

SURAMPALLI, R. Y.; TYAGI, R. D.; SCHEIBLE, O. K.; HEIDMAN, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 61(2), p. 151–157, 1997.

THAUER, R. K.; JUNGERMANN, K.; DECKER, K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 41(1), p. 100, 1977.

TONG, H.; YIN, K.; GIANNIS, A.; GE, L.; WANG, J. Influence of temperature on carbon and nitrogen dynamics during in situ aeration of aged waste in simulated landfill bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 149(8), 2015.

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

TORRES, P.; FORESTI, E. Domestic sewage treatment in a pilot system composed of UASB and SBR reactors. **Water Science Technology**, v. 44 (4), p. 247–253, 2001.

UEMURA, S.; HARADA, H. Treatment of sewage by a UASB reactor under moderate to low temperature conditions. **Bioresource Technology**, v. 72(3), p. 275–282, 2000.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Municipal nutrient removal technologies - Reference document. EPA/832/R-08/006, 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Nutrient control design Manual – State of technology review report. EPA/600/R. -08/012, 2009.

UWIDIA, I. E.; ADEMOROTI, C. M. A. Characterisation of Domestic Sewage from an Estate in Warri, Nigeria. **International Journal of Chemistry**, v. 3(3), p. , 2011.

VAN DE GRAAF, A. A.; TROMANS, J. W.; VANDERSCHUREN, L.; JUKUI, B. H. Autotrophic growth of anaerobic ammoniumoxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. **Microbiology**, v. 142, p. 2187-2196, 1996.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Anaerobic sewage treatment**. A practical guide for regions with a hot climate. Wiley, New York, 1994.

VAN HULLE, S. W. H.; VANDEWEYER, H. J. P.; MEESSCHAERT, B. D.; VANROLLEGHEM, P. A.; DEJANS, P.; DUMOULIN, A. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. **Chemical Engineering Journal**, v. 162(1), p. 1-20, 2010.

VAN LOOSDRECHT, M.; BRDJANOVIC, D. Anticipating the next century of wastewater treatment. **Science**, v. 344(6191), p. 1452-1453, 2014.

VARAS, R.; GUZMÁN-FIERRO, V.; GIUSTINIANOVICH, E.; BEHAR, J.; FERNÁNDEZ, K.; ROECKEL, M. Startup and oxygen concentration effects in a continuous granular mixed flow autotrophic nitrogen removal reactor. **Bioresource Technology**, v. 190, p., 2015.

VÁZQUEZ-PADÍN, J.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R.; REVSBECH, N. P. Microbial community distribution and activity dynamics of granular biomass in a CANON reactor. **Water Research**, v. 44(15), p. 4359-4370, 2010.

VERSTRAETE, W.; VANDEVIVERE, P. New Applications More Spacious and anaerobic digestion. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 29 (2), p. 151-173, 1999.

VILLANO, M.; SCARDALA, S.; AULENTA, F.; MAJONE, M. Carbon and nitrogen removal and enhanced methane production in a microbial electrolysis cell. **Bioresource Technology**, v.130, p. 366-371, 2013.

VLAEMINCK, H.; DE CLIPPELEIR, W. V. Microbial resource management of one-stage partial nitrification/anammox. **Microbial Biotechnology**, v. 5(3), p. 433-448, 2012.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. v.1. 3ed. Belo Horizonte, Minas Gerais: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 2005.

VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. **IWA Publishing**, 2005.

WAN, C.; YANG, X.; LEE, D. J.; LIU, X.; SUN, S.; CHEN, C. Partial nitrification of wastewaters with high NaCl concentrations by aerobic granules in continuous-flow reactor. **Bioresource Technology**, v. 152, p.1-6, 2014.

WANG, J.; LU, H.; CHEN, G. H.; LAU, G. N.; TSANG, W. L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. A novel sulfate reduction, autotrophic denitrification, nitrification integrated (SANI) process for saline wastewater treatment. **Water Research**, v. 43(9), p. 2363(10), 2009.

WEBER, M. I. **Avaliação da eficiência de um reator anaeróbio de Leito fluidizado para o tratamento de resíduos Líquidos da indústria de refrigerantes.** [Dissertação de Mestrado], Universidade Federal do Paraná – UFPR, 2006.

WEYER, P.; CERHAN, J.; KROSS, B. C. Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the Iowa Women's Health Study. **Epidemiology**, v. 12, p. 327–38, 2001.

WOLFE, A.; PATZ, J. Reactive nitrogen and human health: Acute and long-term implications. **Ambio**, v. 31(2), p. 120-125, 2002.

YAMAKI, A.; KUDOH, J.; SHIMIZU, N.; SHIMIZU, Y. A novel nuclear localization signal in the human single-minded proteins SIM1 and SIM2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 313(3), p. 482-488, 2004.

YAMASAKI, B. **Análise do processo de nitrificação de lixiviado de Aterro Sanitário em um sistema com reator anóxico e aeróbio com e sem adição de fonte externa de carbono para desnitrificação.** Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

YANG, S.; YANG, F. Nitrogen removal via short-cut simultaneous nitrification and denitrification in an intermittently aerated moving bed membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 195, p. 318-323, 2011.

YAO, S.; NI, J.; MA, T.; LI, C. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature by a newly isolated bacterium, *Acinetobacter* sp HA2. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 80-86, 2013.

YE R.W.; THOMAS S.M. Microbial nitrogen cycles: physiology, genomics and applications. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4(3), p. 307-12, 2001.

YENIGÜN, O.; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry**, v. 48(5-6), p. 901-911, 2013.

YOU, J.; DAS, A.; DOLAN, E.; YOU, J. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. **Water Research**, v. 43(7), p. 1801-1809, 2009.

YU, Y. C.; GAO, D. W.; TAO Y. Anammox start-up in sequencing batch biofilm reactors using different inoculating sludge. **Microbiology and Biotechnology**, v. 97(13), p. 6057-6064, 2013.

ZANETTI, L.; FRISON, N.; NOTA, E.; TOMIZIOLI, M.; BOLZONELLA, D.; FATONE, F. Progress in real-time control applied to biological nitrogen removal from wastewater. A short-review. **Desalination**, v. 286, p. 1-7, 2012.

ZAYED, G.; WINTER, J. Inhibition of methane production from whey by heavy metals - protective effect of sulfide. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 53(6), p. 726-731, 2000.

ZENG, W.; LI, L.; YANG, Y.; WANG, S.; PENG, Y. Nitritation and denitritation of domestic wastewater using a continuous anaerobic-anoxic-aerobic (A(2)O) process at ambient temperatures. **Bioresource Technology**, v. 101(21), p. 8074-8082, 2010.

ZHANG, J.; WU, P.; HAO, B.; YU, Z. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001. **Bioresource Technology**, v. (102)21, p. 9866-9869, 2011.

ZHAO, B.; AN, Q.; HE, Y.; GUO, J. N₂O and N₂ production during heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* strain NR. **Bioresource Technology**, v. 116, p. 379-385, 2012.

ZHOU, X.; LI, Y.; ZHAO, Y. Removal characteristics of organics and nitrogen in a novel four-stage biofilm integrated system for enhanced treatment of coking wastewater under different HRTs. **RSC Advances**, v. 4(30), p. 15620-15629, 2014.

ZHOU, Z.; XING, C.; AN, Y.; HU, D.; QIAO, W.; WANG, L. Inhibitory effects of sulfide on nitrifying biomass in the anaerobic–anoxic–aerobic wastewater treatment process. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 89(2), p. 214-219, 2014.

ZHU, G. B.; WANG, S.Y.; WANG, W.D.; WANG, Y.; ZHOU, L. L.; JIANG, B.; OP DEN CAMP, H. J. M.; RISGAARD-PETERSEN, N.; SCHWARK, L.; PENG, Y. Z.; HEFTING, M. M.; JETTEN, M. S. M.; YIN, C. Q. Hotspots of anaerobic ammonium oxidation at land-freshwater interfaces. **Nature Geoscience**, v. 6(2), p. 103-107, 2013.

ZINATIZADEH, A. A. L.; YOUNESI, H.; BONAKDARI, H.; PIRSAHEB, M.; PAZOUKI, M.; NAJAFPOUR, G.D.; HASNAIN, M. Effects of process factors on biological activity of granular sludge grown in an UASFF bioreactor. **Renewable Energy**, v. 34(5), p. 1245-1251, 2009.