

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ, CAMPUS DE CASCAVEL**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**DESAMONIFICAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE DIGESTATO DE BIODIGESTOR DE  
LODOS DA SUINOCULTURA PARA A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO**

**ANGÉLICA CHINI**

**CASCAVEL – PR**  
**FEVEREIRO - 2019**

**ANGÉLICA CHINI**

**DESAMONIFICAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE DIGESTATO DE BIODIGESTOR DE  
LODOS DA SUINOCULTURA PARA A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Airton Kunz

Co-orientadora: Prof. Dr. Helen Treichel

**CASCADEL – PR  
FEVEREIRO - 2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA<sup>1</sup>

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Chini, Angélica

Desamonificação para o tratamento de digestato de biodigestor de lodos da suinocultura para a remoção de nitrogênio / Angélica Chini; orientador(a), Airton Kunz; coorientador(a), Helen Treichel, 2019.

135 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2019.

1. anammox. 2. dejetos suíno. 3. digestão anaeróbia. 4. tratamento de efluentes. I. Kunz, Airton. II. Treichel, Helen. III. Título.

<sup>1</sup> Silvana de Araújo Vaillões – revisão de inglês, português e normas do programa. Abril de 2019.

## ANGÉLICA CHINI

Desamonificação no tratamento de digestato de biodigestor de lodos (CSTR) da  
suinocultura para remoção de nitrogênio

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em  
cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia  
Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, linha de  
pesquisa Saneamento Ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



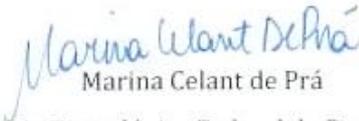
Orientador(a) - Ailton Kunz

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Luana Mattos de Oliveira Cruz

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)



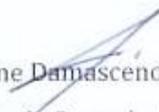
Marina Celant de Prá

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)



Silvia Renata Machado Coelho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Cascavel, 13 de fevereiro de 2019.

## BIOGRAFIA

Angélica Chini possui graduação em Engenharia Ambiental pela Universidade do Contestado (2012), *campus* de Concórdia – SC. Foi bolsista de iniciação científica na Empresa Suínos e Aves, com sede em Concórdia – SC, atuando principalmente na área de tratamento de efluentes da suinocultura. Tem experiência em análises de compostos nitrogenados, processos de remoção de nitrogênio e bactérias anaeróbias oxidadoras de amônio. Possui mestrado no programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola (PGEAGRI), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, na área de concentração de recursos hídricos e saneamento ambiental (RHESA), na linha de pesquisa de saneamento ambiental. Realizou doutorado com bolsa CAPES, no programa de pós-graduação e na linha de pesquisa citados anteriormente.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, Inácio, minha mãe, Angela, meu irmão, Henrique, e minha cunhada, Fabiana, pelo apoio e o incentivo que em mim depositaram;

Ao Maurício, pelo carinho, companheirismo, apoio e compreensão nos momentos de ausência;

Ao orientador, professor Dr. Airton Kunz, pela orientação, apoio no desenvolvimento do trabalho, exemplo de profissionalismo e dedicação, enorme contribuição com o meu aprendizado e a amizade;

À co-orientadora, professora Dr. Helen Treichel, pelas importantes contribuições feitas a esse trabalho e pelos ensinamentos;

Aos funcionários da Embrapa Suínos e Aves e aos docentes e funcionários do departamento de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UNIOESTE, pelo apoio para a realização do trabalho e principalmente pela contribuição para o aprendizado;

Ao pessoal do laboratório LEAA da Embrapa Suínos e Aves, fundamentais na realização dos estudos;

Aos amigos Fabiane, Alice, Camila, Bruno e Gizelle, que, além das contribuições científicas, fizeram com que os dias de trabalho no laboratório fossem mais leves;

A todos os meus amigos e familiares que, direta ou indiretamente, auxiliaram e não foram citados acima.

À CAPES, pela concessão da bolsa, e ao projeto SISTRATES FUNTEC-BNDES, pelo suporte financeiro.

A todos, MUITO OBRIGADA!

# DESAMONIFICAÇÃO COMO TRATAMENTO DE DIGESTATO DE BIODIGESTOR DE LODOS DA SUINOCULTURA PARA A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO

## RESUMO GERAL

A produção suinícola brasileira, em escala industrial, ocorre seguindo o modelo de sistema de animais confinados, o qual se caracteriza pela concentração de grandes quantidades de animais em pequenas áreas territoriais. Nesse modelo, ocorre a geração de elevado volume de efluentes ricos em nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo), que necessitam de manejo correto. Assim, para a remoção de nutrientes, os processos biológicos são amplamente utilizados. No que diz respeito à remoção do nitrogênio, há os processos convencionais (nitrificação/desnitrificação) e os avançados, por exemplo, a desamonificação. Esse trabalho foi dividido em duas etapas, sendo que, na primeira, foram estudados processos de separação sólido-líquido (SSL) para digestato de biodigestor de lodo suinícola. Para isso, foram testados os seguintes processos: sedimentação, centrifugação e floculação química. Os resultados dessa etapa mostraram a possibilidade de aplicar diferentes processos de SSL em digestato, como um pré-tratamento para a redução de sólidos e carbono total. O processo ideal para esse tipo de efluente, visando posterior remoção de nitrogênio da fração líquida por desamonificação, foi a centrifugação, com remoção de 90% de carbono total e 83% de sólidos totais. Na segunda etapa, buscou-se estudar o impacto da relação C/N (do digestato obtido na etapa anterior) na eficiência de remoção de nitrogênio e na comunidade de microrganismos em um reator de desamonificação. Foi possível aplicar o digestato no processo de desamonificação com eficiência média acima de 50% em todas as fases experimentais. A relação C/N em que se obteve maior eficiência de remoção de nitrogênio foi de 0,5 e concentração de carbono de  $0,57 \text{ gCOT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , chegando a obter 72% de remoção de nitrogênio. Observou-se também que a comunidade de micro-organismos sofreu mudanças no decorrer do experimento. Os resultados obtidos neste trabalho podem servir de subsídio para que as plantas de tratamento de efluentes alcancem rendimentos maiores, por meio da utilização das frações obtidas nos processos de SSL e para o desenvolvimento de sistemas de desamonificação em escala real.

**Palavras-chave:** Anamox; Dejeito suíno; Digestão anaeróbia; Tratamento de efluentes; Remoção de nitrogênio.

# NITROGEN REMOVAL BY DEAMMONIFICATION AS A TREATMENT OF DIGESTATE FROM SLUDGE BIODIGESTOR TREATING SWINE MANURE

## ABSTRACT

Brazilian swine production, in industrial scale, works in a concentrated animal feeding operation (CAFO) model, which is characterized by the large animal concentration in small productive areas. Consequently, there is a high effluents generation volume that is rich in nutrients (mainly nitrogen and phosphorous) and needs a correct management. Thus, biological nutrients removal processes are widely used. Anaerobic digestion is the main technology used in agroindustry wastewater to remove organic matter. For nitrogen removal, there are conventional process (nitrification/ denitrification) and advanced processes, such as deammonification. This research was divided into two steps: the first was to study the solid-liquid separation (SLS) process of swine manure as digestate to biodigester. The processes tested were: settling, centrifugation and chemical flocculation. The results showed the possibility of applying different SLS processes in the digestate as a pretreatment for solids and carbon reduction. The best process performance for this effluent, aiming subsequent nitrogen removal from liquid fraction by deammonification, was centrifugation reaching a carbon and total solids removal of 90% and 83% respectively. The second step, was aimed to study the C/N ratio impact (using digestate obtained in previous step) over the nitrogen removal efficiency and in the microorganism community in a deammonification reactor. It was possible to apply the digestate in deammonification process with average efficiency above 50% in all experimental phases. The best C/N ratio tested was 0.5 and carbon concentration of 0,57 gTOC L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, with a maximum nitrogen removal efficiency of 72%. Changes in the microorganism community were also observed. The results obtained in this thesis can support wastewater treatment plants to achieve higher yields, through the use of SLS fractions and for development of a full scale deammonification systems.

**Keywords:** anaerobic digestion; anammox; nitrogen removal; swine manure; wastewater treatment.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS .....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
3 HIPÓTESES .....	17
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
4.1 Suinocultura.....	19
4.2 Problema ambiental do nitrogênio.....	20
4.3 Arranjos de sistemas de tratamento de efluentes suinícolas.....	21
4.3.1 Digestão anaeróbia.....	24
4.3.2 Preparação do digestato para o processo de desamonificação. ....	25
4.3.2.1 Sedimentação .....	27
4.3.2.2 Centrifugação.....	28
4.3.2.3 Floculação química .....	29
4.3.3 Nitrificação e desnitrificação.....	30
4.3.4 Anammox.....	31
4.3.5 Desamonificação .....	33
4.3.5.1 Tratamento de digestato de biodigestor de lodos via desamonificação .....	35
5 REFERÊNCIAS .....	39
6 ARTIGO 1: VIABILIDADE DOS PROCESSOS DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA REMOÇÃO DE CARBONO E SÓLIDOS COMO TRATAMENTO DE DIGESTATO .....	52
6.1 Introdução.....	53
6.2 Material e métodos .....	54
6.2.1 Coleta do digestato .....	54
6.2.2 Procedimento experimental.....	54
6.2.3 Design experimental .....	55
6.2.4 Métodos analíticos .....	55
6.3 Resultados e discussão .....	56
6.3.1 Caracterização do digestato.....	56
6.3.2 SSL por sedimentação.....	57
6.3.3 SSL por centrifugação.....	57

6.3.4 SSL por floculação química.....	62
6.3.5 Comparação dos processos de SSL.....	66
6.4 Conclusões.....	67
6.5 Agradecimentos.....	67
6.6 Referências.....	68
7 ARTIGO 2: DESEMPENHO DO PROCESSO E MODULAÇÃO DA COMUNIDADE DE MICRORGANISMOS EM FUNÇÃO DO TOC EM UM REATOR DE DESAMONIFICAÇÃO QUE TRATA DIGESTATO DE REATOR DE LODOS DE SUÍNOS.....	72
7.1 Introdução.....	73
7.2 Material e métodos.....	75
7.2.1 Sistema Experimental.....	75
7.2.2 Biomassa inicial e características do digestato.....	75
7.2.3 Métodos analíticos.....	76
7.2.4 Avaliação da comunidade de microrganismos.....	77
7.3 Resultados e discussão.....	78
7.3.1 Remoção de nitrogênio nas diferentes fases experimentais.....	78
7.3.2 Efeito COT no desempenho do reator.....	80
7.3.3 Comunidade microbiana.....	83
7.4 Conclusões.....	85
7.5 Agradecimentos.....	86
7.6 Referências.....	86
8 CONCLUSÕES GERAIS.....	90
9 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	92
APÊNDICE 1.....	93
APÊNDICE 2.....	111

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Alternativas de rotas tecnológicas para o tratamento de dejetos suínos. ....	22
<b>Figura 2</b> Separação comum e tecnologias de separação física de efluentes. F - entrada do efluente, L - saída do líquido clarificado e S - saída dos sólidos. Os nomes para os dispositivos são: I. Peneira rotativa, II. Peneira estática de escova rotativa, III. Tela vibratória, IV. Prensa parafuso, V. Prensa de correia, VI. Peneira estática. ....	26
<b>Figura 3</b> Representação esquemática de um modelo do processo de coagulação e floculação química. ....	26
<b>Figura 4</b> Divisão da matéria sólida do dejetos suíno em frações que podem ser removidos pelas principais categorias de separação ou processo de separação. ....	27
<b>Figura 5</b> Representação de uma centrífuga de modelo decanter .....	28

### ARTIGO 1: VIABILIDADE DOS PROCESSOS DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA REMOÇÃO DE CARBONO E SÓLIDOS COMO TRATAMENTO DE DIGESTATO

<b>Figura 1</b> Pareto para a remoção de NAT (a), NTK (b), ST (c), SF (d), SV (e), P (f) e C (g) nos testes de centrifugação.....	61
<b>Figura 2</b> Superfícies de resposta para NAT, NTK, SV e P para os ensaios de floculação química. O aumento da intensidade da cor nos gráficos corresponde ao aumento da eficiência de remoção. TA = tanino e PAM = poliacrilamida.....	65

### ARTIGO 2: MUDANÇA NA COMUNIDADE MICROBIANA EM FUNÇÃO DO COT EM PROCESSO DE DESAMONIFICAÇÃO TRATANDO DIGESTATO DE BIODIGESTOR DE LODO

<b>Figura 1</b> Visão geral do processo anammox e desnitrificação, com seus genes funcionais nas vias do metabolismo do nitrogênio. Adaptado de D. Wang et al., (2018) .....	74
<b>Figura 2</b> Compostos nitrogenados e eficiência de remoção de nitrogênio total durante as fases experimentais. Fase I: Efluente sintético; fase II: relação C/N de 0,5 e fase III relação C/N de 1.....	78
<b>Figura 3</b> Coeficientes estequiométricos teóricos comparados aos coeficientes calculados durante as fases experimentais.....	80

<b>Figura 4</b> Carbono orgânico total (COT) no afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção durante as fases experimentais. Fase I: efluente sintético; fase II: relação C/N de 0,5; fase III: relação C/N de 1.....	81
<b>Figura 5</b> Abundância relativa de microrganismos pelos gêneros ao longo das fases experimentais.....	84

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Premissas e hipóteses com respectivos objetivos específicos vinculados ao item 2.2, que fundamentaram o trabalho .....	17
<b>Tabela 2</b> Quantidade estimada de dejetos suínos produzidos diariamente de acordo com o sistema de produção.....	19
<b>Tabela 3</b> Caracterização dos efluentes agropecuários de acordo com o tipo de animal .....	21
<b>Tabela 4</b> Velocidade de crescimento de microrganismos reportado na literatura .....	35
<b>Tabela 5</b> Principais características do digestato em função de resíduos utilizados no biodigestor .....	36

### ARTIGO 1: VIABILIDADE DOS PROCESSOS DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA REMOÇÃO DE CARBONO E SÓLIDOS COMO TRATAMENTO DE DIGESTATO

<b>Tabela 1</b> Matriz do delineamento DCCR 22 (valores codificados e reais), com as respostas relacionadas a força gravitacional (gforce) e tempo (Ctime). Resultados em % correspondem à eficiência de remoção.....	59
<b>Tabela 2</b> Matriz do planejamento fatorial (valores codificados e reais) e as respostas em relação aos testes de floculação química. Os valores entre parênteses são os volumes de tanino (TA) e poliacrilamida (PAM) adicionados. Resultados em (%) correspondem à eficiência de remoção.....	63
<b>Tabela 3</b> Modelos matemáticos para as respostas NAT, NTK, SV e P em processo de SSL por floculação química.....	63
<b>Tabela 4</b> Relação entre concentração final e inicial obtida em ensaios de sedimentação, floculação química e centrifugação ( $C_f/C_0$ ) .....	66

### ARTIGO 2: MUDANÇA NA COMUNIDADE MICROBIANA EM FUNÇÃO DO COT EM PROCESSO DE DESAMONIFICAÇÃO TRATANDO DIGESTATO DE BIODIGESTOR DE LODO

<b>Tabela 1</b> Condições operacionais para o reator de desamonificação nas diferentes fases operacionais.....	76
<b>Tabela 2</b> Composição do digestato tratado via processo de desamonificação.....	76
<b>Tabela 3</b> Parâmetros de desempenho do reator de desamonificação durante diferentes fases operacionais.....	78

<b>Tabela 4</b> Diversidade da comunidade de microrganismos por filo ao longo das fases experimentais.....	83
--	----

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

**Anammox** – do inglês *Anaerobic ammonium oxidation*

**BOA** – Bactérias oxidadoras de amônia

**BON** – Bactérias oxidadoras de nitrito

**CANON** – do inglês *Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite*

**CSTR** – do inglês *Continuous Stirred Tank Reactor*

**DA** – Digestão anaeróbia

**EGSB** – do inglês *Expanded Granular Sludge Bed*

**NP** – Nitritação parcial

**SBR** – do inglês *Sequencing batch reactor*

**SPACs** – Sistemas de produção de animais confinados

**SSL** – Separação sólido-líquido

## 1 INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma das cadeias produtivas de maior expressão na agropecuária brasileira, tendo grande importância econômica e social. Na busca de maior produtividade, com redução de custos e otimização do controle sanitário, foram adotados os Sistemas de Produção de Animais Confinados (SPACs), em que ocorre uma grande concentração de animais em pequenas áreas.

Devido ao modelo de produção adotado, a quantidade de dejetos gerada é elevada, possuindo grande potencial poluidor devido à alta carga de nutrientes, principalmente, nitrogênio e carbono, tornando-se o grande desafio de manejo dessa atividade, uma vez que a geração de grande volume de efluentes pode causar problemas de armazenamento, distribuição e poluição ambiental. Conseqüentemente, cresce a necessidade de alternativas para redução dos impactos ambientais, como o tratamento e/ou reaproveitamento dos resíduos. No manejo da concentração do carbono, cresceu o foco na aplicação da digestão anaeróbia, pois, além de efetuar a redução dos constituintes orgânicos, também permite o aproveitamento energético.

A digestão anaeróbia é uma prática consolidada na remoção de carbono de fácil biodegradabilidade, podendo gerar efluentes com baixa relação carbono/nitrogênio (C/N). Atualmente, um dos modelos de biodigestor mais barato é o de lagoa coberta, porém, ele comporta uma carga de sólidos inferior ao modelo CSTR (do inglês "*Continuous Stirred Tank Reactor*"), que suportam cerca de 12% de sólidos totais. Com isso, dada a eficiência do biorreator CSTR em comportar concentrações superiores de sólidos aos demais modelos, esse é amplamente utilizado para potencializar a produção de biogás.

Tendo em vista isso, o digestato pode ainda conter alta concentração de sólidos em função do modelo de reator utilizado e, também, do regime de operação do biodigestor, o que pode ocasionar dificuldades na remoção do nitrogênio.

Nesse sentido, o processo anammox é uma alternativa para remoção de altas concentrações de nitrogênio presentes no efluente dos biodigestores. Porém, para ser aplicado, é necessária uma etapa anterior, a nitrificação parcial (NP), na qual aproximadamente metade do nitrogênio amoniacal é convertido em nitrito, a fim de proporcionar ao processo anammox as condições estequiométricas requeridas. Sendo assim, as culturas de bactérias com atividade anammox e oxidadoras de amônio coexistem, de maneira que tais processos combinados recebem o nome de desamonificação.

O processo de desamonificação tem grande potencial de aplicabilidade, quando comparado aos demais processos, como o de nitrificação/desnitrificação, devido ao seu custo relativamente baixo de investimento e economia de energia. Porém, a aplicação de digestato de biodigestor de lodos para esse processo não foi investigada ainda.

Sabendo disso, a Embrapa Suínos e Aves exerce um importante papel no desenvolvimento de pesquisas na área de tratamento de dejetos suínos. Com relação ao processo de digestão anaeróbia e configuração de reatores anaeróbios, houve avanço significativo nos últimos anos, buscando analisar possíveis interferentes do processo e o tratamento do digestato (AMARAL et al., 2016a, 2014, 2016b; CESTONARO DO AMARAL et al., 2014; MARCHIORO et al., 2018; PERAZZOLI et al., 2016; STEINMETZ et al., 2016; TÁPPARO et al., 2018; VENTURIN et al., 2018; VIANCELLI et al., 2013). Com essa visão, a Embrapa iniciou suas pesquisas acerca das bactérias com atividade anammox em meados de 2005 (KUNZ et al., 2007; SCHIERHOLT NETO et al., 2006). Nos anos seguintes, foi testada a configuração de biorreatores e condições operacionais (CASAGRANDE et al., 2011, 2013; CHINI et al., 2014b; DE PRÁ et al., 2013, 2015, 2016; KUNZ et al., 2007; SCHEEREN et al., 2011; SCUSSIATO et al., 2015; VIANCELLI et al., 2017, 2011).

Visando à sua futura aplicação em efluentes da suinocultura, os estudos foram direcionados para o processo de nitrificação parcial e anammox em duas etapas, posteriormente, em um único reator, a qual vem sendo otimizada pelo grupo de pesquisa (CHINI et al., 2014a, 2016, 2015, DE PRÁ et al., 2012a, 2012b; SCUSSIATO et al., 2015).

Todavia, tendo em vista todas as reações envolvidas e os diversos micro-organismos responsáveis pelo processo, bem como o conhecimento acumulado, sabe-se que qualquer mudança pode causar inibição ou desequilíbrio do sistema. Diversos são os fatores (concentração de nutrientes, sólidos e outros interferentes do processo) que influenciam no sistema, tornando a aplicação de digestato de biorreator de lodo ao processo de desamonificação um desafio para a implementação em larga escala.

Nesse contexto, o desafio deste trabalho foi tratar, via processo de desamonificação, o resíduo de um digestor de lodo de uma planta de tratamento de dejetos suínos. Para isso, inicialmente, necessitou-se estudar como inserir o digestato, com alta concentração de sólidos e carbono para o processo anammox, no biorreator de desamonificação. Posteriormente, analisar o comportamento dos micro-organismos responsáveis pelo processo de desamonificação com o tratamento desse efluente.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a eficiência do processo de desamonificação, bem como o comportamento das principais bactérias desse processo, no tratamento do digestato de um biodigestor de lodo com alta concentração de sólidos, carbono e rico em nitrogênio.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Estudar processos de separação sólido-líquido; escolher três deles para a preparação do digestato de um biorreator de lodos, modelo CSTR.
2. Verificar se a centrifugação é a melhor estratégia de SSL para digestato de biorreator de lodos de um sistema de tratamento de efluentes da suinocultura.
3. Verificar se o processo de desamonificação pode ser estabelecido em um sistema de reator único e avaliar se há influência do digestato na eficiência de remoção de nitrogênio desse biorreator.
4. Verificar se ocorrem mudanças na população microbiana do biorreator de desamonificação.
5. Estudar se a concentração de carbono interfere no processo de desamonificação.

### 3 HIPÓTESES

Com base na análise da literatura e nas premissas, foram formuladas as hipóteses que fundamentam este trabalho, as quais estão sumarizadas na Tabela 1.

**Tabela 1** Premissas e hipóteses com respectivos objetivos específicos vinculados ao item 2.2, que fundamentaram o trabalho

Premissas	Hipóteses	Objetivos específicos
Os processos de separação sólido-líquido (SSL) utilizados são diversos, como filtração, filtração pressurizada, centrifugação, sedimentação, floculação, dentre outros (AKHIAR et al., 2017; COCOLO et al., 2016; HJORTH et al., 2010; ILMI et al., 2017). Visto que esses processos são eficientes na remoção de sólidos de resíduos da biodigestão, acredita-se que é possível a sua utilização em digestato de biorreatores de lodos.	A SSL é eficiente na redução de sólidos e carbono de digestato de biodigestor de lodo, permitindo viabilizar um pós-tratamento via desamonificação.	1
A gama de processos possíveis de serem utilizados é grande, com diferentes eficiências de remoção dos sólidos e carbono obtidas. Porém, o que mais se sobressai aos demais, em diversos tipos de resíduos, é a centrifugação (FERNANDES et al., 2012; MEIXNER et al., 2015; POPOVIC et al., 2017), a qual é capaz de gerar efluente com uma quantidade menor de sólidos, favorecendo o pós-tratamento pelo processo de desamonificação.	Centrifugação é a melhor técnica de SSL para posterior tratamento via processo de desamonificação.	2
A desamonificação vem demonstrando ser aplicável no pós-tratamento de digestato de diversos tipos de efluentes, como esgoto sanitário, efluentes agropecuários e outros que apresentam altas concentrações de nitrogênio (DAI et al., 2015; PICHEL et al., 2018; SCHAUBROECK et al., 2015). Os efluentes de biorreatores de lodos também apresentam altas concentrações de nitrogênio. A desamonificação pode ser uma alternativa para o tratamento desses resíduos.	O processo de desamonificação é aplicável ao tratamento de digestato de biorreator de lodos.	3
A população microbiana é selecionada de acordo com as condições ambientais e a presença de subs-	As características do digestato interferem	3 e 4

---

tratos essenciais para o seu crescimento (por exemplo: amônio, nitrito, nitrato, carbono, oxigênio dissolvido) (DU et al., 2019; LI et al., 2018a; ZHANG et al., 2019b) . Uma vez que a disponibilidade pode variar de acordo com as estratégias operacionais utilizadas, as populações microbianas também sofrerão mudanças.

na dinâmica da população microbiana envolvida no processo de desamonificação, alterando a prevalência dos gêneros de bactérias anammox.

---

É sabido que micro-organismos heterotróficos possuem uma alta afinidade com o carbono orgânico; e, também, que apresentam crescimento maior que micro-organismos anammox (CHINI et al., 2016; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016). Dessa forma, a adição de algum tipo de carbono, provindo do digestato, pode desfavorecer o crescimento de bactérias com atividade anammox, o que pode diminuir a eficiência de remoção de nitrogênio no biorreator.

O carbono exerce influência sobre a comunidade microbiana anammox.

4 e 5

---

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Suinocultura

A suinocultura é uma atividade de grande importância econômica. Estima-se que, no ano de 2015, o mundo contava com 1,2 trilhão de suínos. O Brasil é responsável pela produção de 39 milhões de cabeças, o que o torna o quarto maior produtor mundial de carne suína. Esse volume, em 2018, contribuiu com mais de R\$ 60 bilhões para o PIB do país (MARTINS; SANTOS FILHO; TALAMINI, 2018). A produção nacional de 3,75 milhões de toneladas de carne, em 2017, encontra-se distribuída na maioria das regiões brasileiras, sendo que 67,5% da produção de suínos está concentrada na região sul do país (ABPA, 2018).

Essa elevada expressão está relacionada com o aumento da produtividade e da diminuição dos custos, por meio do uso de novas tecnologias de produção, que são os grandes responsáveis pelo crescimento cada vez maior da produtividade e que geram uma enorme concentração de suínos em pequenas instalações físicas (GIONGO et al., 2018).

Em consequência do uso dos sistemas de confinamento, também conhecidos como SPAC's, pode ocorrer o aumento dos impactos ambientais, devido à alta geração de resíduos, os quais não conseguem ser totalmente absorvidos pelo ambiente em razão de possuírem elevadas cargas de nutrientes, matéria orgânica, entre outros, gerando grandes desafios que envolvem a sustentabilidade ambiental da produção de suínos (KUNZ; MIELE; STEINMETZ, 2009; VIVAN et al., 2010).

O volume total de dejetos produzidos depende das fases de desenvolvimento do suíno (tabela 2). Cada uma delas cria, em relação aos resíduos, problemas de armazenamento, distribuição, manejo e poluição ambiental, sendo que as quantidades de fezes e urina dos suínos são afetadas por fatores zootécnicos, ambientais e nutricionais (MITO et al., 2018).

**Tabela 2** Quantidade estimada de dejetos suínos produzidos diariamente de acordo com o sistema de produção

<b>Categoria</b>	<b>Efluentes (L animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>)</b>
Ciclo completo	47,1
Unidade de produção de leitões	22,8
Unidade de produção desmamados	16,2
Crechário	2,3
Crescimento – terminação	4,5

Fonte: MITO et al., (2018).

Com base nos dados apresentados anteriormente, pode-se fazer uma estimativa do volume de dejetos produzidos por plantéis por dia. Sabe-se que 80% da suinocultura sul brasileira adota a prática de armazenagem dos dejetos em lagoas ou tanques abertos; já o restante (20%), utiliza a prática de biodigestão e, posteriormente, ambos aplicam o efluente como fertilizante vegetal e/ou condicionador do solo (CHERUBINI et al., 2014; KUNZ et al., 2009). Quando a geração de efluentes supera a capacidade de suporte do solo ou as recomendações dos órgãos de fiscalização ambiental, são necessárias alternativas de tratamento para remoção ou aproveitamento desses nutrientes (GATIBONI et al., 2018; SARDÁ et al., 2018).

#### 4.2 Problema ambiental do nitrogênio

O nitrogênio é um nutriente essencial para qualquer célula viva, pois faz parte das proteínas e aminoácidos. No meio ambiente, esse elemento encontra-se mais frequentemente na forma de amônia ( $\text{NH}_3$ ) ou íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ou gás  $\text{N}_2$  (STÜEKEN et al., 2016). O íon nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) é pouco encontrado, ou presente em baixas concentrações, por ser um composto intermediário na redução do nitrato a nitrogênio gasoso.

O nitrogênio amoniacal pode apresentar graves implicações ambientais, pois necessita de uma alta demanda de oxigênio, já que, para oxidar 1 mg de  $\text{NH}_3$ , são necessários 4,6 mg de oxigênio ( $\text{O}_2$ ) (VAN DER STAR et al., 2011). O íon  $\text{NH}_4^+$  é a forma de nitrogênio inorgânico mais abundante encontrada nas águas residuárias, cujo equilíbrio com a forma não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) é dependente do pH, conforme Equação 01 (STEIN; KLOTZ, 2016; STÜEKEN et al., 2016).



A forma ionizada é predominante em valores de pH menores ou iguais a 7, muito comuns em águas naturais. Já com relação a valores de pH, na faixa de 8 a 9,5, a fração na forma não ionizada cresce acentuadamente de cerca de 8 para 70%. Acima de pH 9,3, a forma não ionizada é dominante.

O nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) pode causar metahemoglobinemia, que ocorre pela oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  à  $\text{Fe}^{3+}$ , formando metahemoglobina, que é incapaz de se ligar ao  $\text{O}_2$ , dessa forma, impedindo as trocas gasosas no organismo humano, o que afeta principalmente bebês (síndrome do bebê azul). Também, no organismo humano, o nitrito, quando se combina com aminas secundárias, forma nitrosaminas que apresentam poder mutagênico e carcinogênico (FOWLER et al., 2013). Além disso, o aporte de nitrogênio e fósforo em corpos d'água ace-

lera a multiplicação de organismos aquáticos fotossintetizantes, os quais resultam em uma aceleração do processo de eutrofização (PAPPU et al., 2017).

Conforme demonstrado na tabela 3, os níveis de contaminação por efluentes da suinocultura estão relacionados à sua característica, que possui elevada concentração de matéria orgânica e nutrientes, mesmo quando comparados aos dejetos de outros animais da produção intensiva. O nitrogênio está presente em elevada quantidade nos dejetos de suínos, o qual torna o manejo dessa atividade um desafio. Isso porque a atividade suinícola gera um grande volume de efluentes, resultando em problemas de armazenamento, distribuição e poluição ambiental (TECHIO et al., 2011).

**Tabela 3** Caracterização dos efluentes agropecuários de acordo com o tipo de animal

Variáveis (kg dejetos/ 1000 kg de animal vivo)	Tipo de animal			
	Gado de leite	Gado de corte	Frango de corte	Suíno
Dejeto total	86	58	85	84
Sólidos totais	12	8,5	22	11
Sólidos voláteis	10	7,2	12	8,5
DBO	1,6	1,6	-	3,1
DQO	11	7,8	16	8,4
NTK	0,45	0,34	1,1	0,52
N-NH <sub>3</sub>	0,079	0,086	-	0,29
P-total	0,094	0,092	0,3	0,18

\*Todos os valores em peso úmido.

Fonte: (KUNZ; BORTOLI; HIGARASHI, 2008).

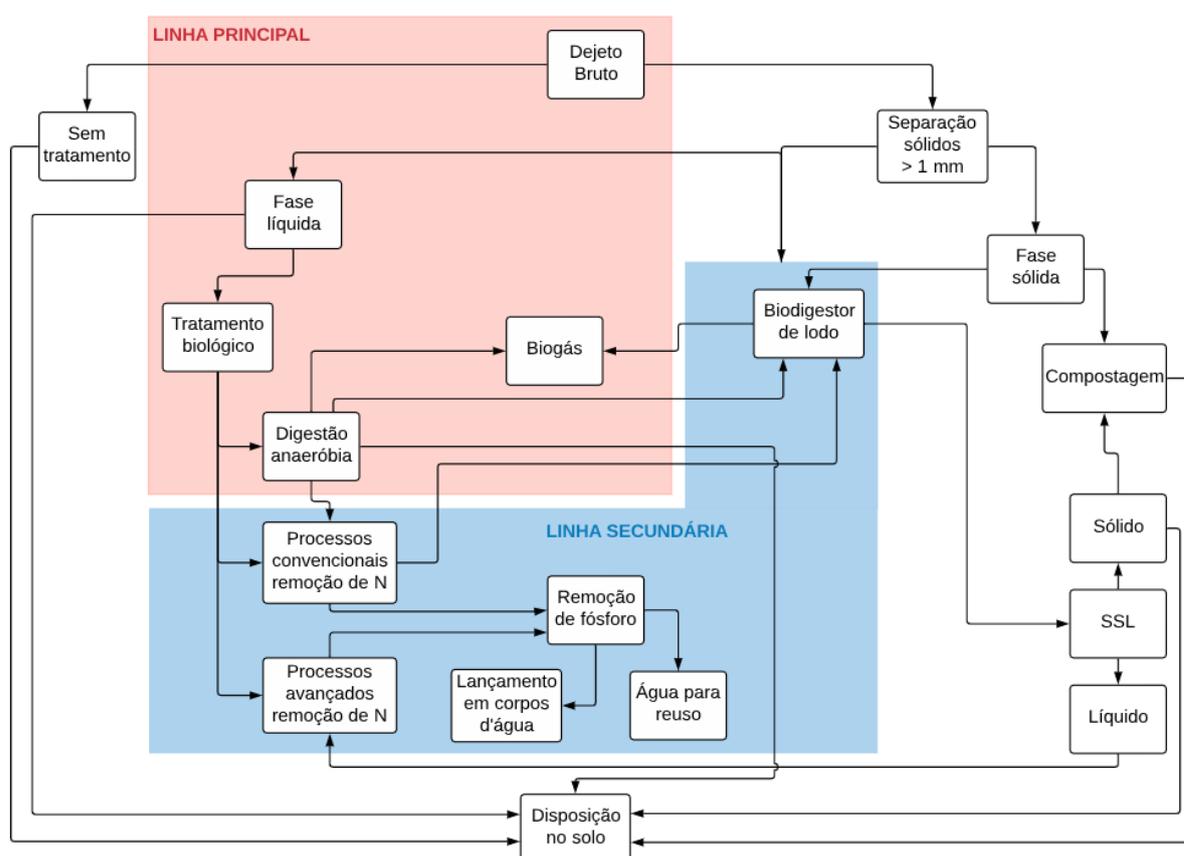
Sabendo disso, quando a disposição dos efluentes no solo não é possível, em função dos riscos ambientais advindos da sobrecarga de nutrientes e da falta de áreas para dispor a elevada quantidade de dejetos gerados, fica evidente a necessidade de se buscar alternativas de tratamento que não dependam do uso exclusivo dos dejetos, como fertilizantes de lavouras (KUNZ; MIELE; STEINMETZ, 2009).

#### 4.3 Arranjos de sistemas de tratamento de efluentes suinícolas

Em função do exposto, nota-se que a disposição diretamente no solo sofre uma grande pressão dos órgãos ambientais, devido aos impactos ambientais; torna-se, assim, necessário, em muitos casos, o tratamento dos efluentes suinícolas. A integração de processos físicos, físico-químicos e biológicos é de fundamental importância para garantir uma melhor qualidade do efluente final (CHEN, 2016; GUVEN et al., 2019; MASSOUD; TARHINI; NASR, 2009).

A figura 1 ilustra as possíveis rotas de tratamento de efluentes suinícolas, visando a não-sobrecarga de reatores biológicos. A escolha da rota de tratamento está ligada diretamente à qualidade do efluente final necessário, ou seja, o destino desejado, o qual pode ser a disposição no solo, lançamento em corpos d'água ou água para reúso (SUZIN et al., 2018).

A primeira etapa é a separação grosseira de sólidos; a simples adoção dessa medida reduz a complexidade das frações, permitindo que cada uma delas possa ser destinada ao tratamento e/ou armazenamento mais adequado (KUNZ; STEINMETZ; BORTOLI, 2010). A proporção de sólidos separados nessa etapa corresponde de 40 a 50% da matéria orgânica total do efluente de entrada (FORESTI; ZAIAT; VALLERO, 2006). A separação de sólidos grosseiros é uma interessante etapa, visto que se pode tratar a parte líquida e sólida de maneira mais adequada, mesmo que isso ocorra pelo mesmo processo (ex. digestão anaeróbia).



**Figura 1** Alternativas de rotas tecnológicas para o tratamento de dejetos suínos.

Fonte: KUNZ, (2010) (adaptado).

Conforme demonstrado na figura proposta acima, muitas vezes, é necessário o uso de vários processos no tratamento do mesmo efluente, assim, conforme o fluxo do líquido vai sendo tratado, tem-se a linha principal (*mainstream*) e a linha paralela (*sidestream*) de tratamento (LI et al., 2018b; YANG et al., 2018).

Dentre os processos biológicos para a remoção de carbono, a digestão anaeróbia foi a que se destacou e se consolidou como uma fonte alternativa de energia aos combustíveis fósseis (SIDDIQUE; WAHID, 2018). O alto interesse em aumentar a produção de metano e biogás direcionou as pesquisas para o desenvolvimento de reatores mais eficientes (ex. CSTR), bem como para mistura com outros substratos (BOLZONELLA et al., 2018; TÁPPARO et al., 2018; WU et al., 2019). Sendo assim, estudou-se o tratamento das frações sólida e líquida em separado, de forma que demonstraram ser uma estratégia para aumentar a produção de metano e biogás (AMARAL et al., 2016b).

A etapa de separação da fração sólida da líquida é uma configuração proposta neste trabalho, a qual foi modificada da figura original de Kunz (2010). A SSL é proposta para remoção dos sólidos e carbono presentes no digestato, visando à adequação do efluente para posterior remoção de nitrogênio.

Há vários trabalhos que relatam o uso de diversos processos de SSL para preparação do efluente, tais como: filtração, filtração pressurizada, centrifugação, sedimentação, floculação, dentre outras (AKHIAR et al., 2017; COCOLO et al., 2016; HJORTH et al., 2010; ILMI et al., 2017; KOZA, 2012; MØLLER; SOMMER; AHRING, 2002; TAMBONE et al., 2017; ZAREBSKA et al., 2017; ZHANG; LIN; HU, 2018).

Diferentes eficiências de remoção dos sólidos e carbono são obtidas por meio do uso desses processos de SSL, porém, o uso da centrifugação se sobressai aos demais em diversos tipos de resíduos (AL SEADI et al., 2013; GAZSÓ et al., 2017; ILMI et al., 2017; MEIXNER et al., 2015; POPOVIC et al., 2017). Visto que o processo de centrifugação já é utilizado de maneira eficiente em sistemas de tratamento, acredita-se que é possível a sua utilização como pós-tratamento de digestato de biorreatores de lodos, favorecendo o pós-tratamento para a remoção de nitrogênio.

Diversos são os processos biológicos aeróbios e anóxicos disponíveis para a remoção de nitrogênio. Contudo, os arranjos de processos de tratamento se diferem, devido ao envolvimento de processos biológicos e diferentes abordagens. Assim, torna-se fundamental conhecer as vantagens, bem como as limitações de cada qual, para, assim, alcançar o objetivo desejado (MCCARTY, 2018; VAN KESSEL et al., 2018).

Quanto aos processos biológicos de remoção de nitrogênio, ressalta-se o processo convencional: nitrificação e desnitrificação (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016). Porém, nos últimos anos, está sendo desenvolvido o uso de tecnologias de tratamento mais eficientes. Para isso, vários processos alternativos vêm sendo estudados, como é o caso da nitrificação parcial, oxidação anaeróbia da amônia (anammox) e seus sistemas combinados (desamonificação) (CHINI et al., 2016; DE PRÁ et al., 2012a, 2016; FENG et al., 2017; MAGRÍ et al., 2017; VIANCELLI et al., 2017).

Reduções significativas da demanda de oxigênio, baixa produção de lodo, menor demanda de energia elétrica e ausência da necessidade de carbono orgânico indicam o

processo anammox como mais vantajoso perante os processos tradicionais de nitrificação/desnitrificação (GIONGO et al., 2018; MA et al., 2016; VAN DER STAR et al., 2011).

A combinação dos processos de nitrificação parcial e anammox é uma eficiente abordagem econômica para a remoção biológica de nitrogênio de efluentes suínolas, porém, sua aplicação como tratamento em *mainstream* ainda é um desafio. Por isso, em efluentes desse tipo, a combinação desses processos é utilizada no tratamento *sidestream* (LI et al., 2018b).

Por fim, a última etapa de tratamento é a remoção e recuperação de fósforo, a qual é possível por meio de vários processos, como: a separação física, tratamento biológico, adsorção e precipitação química (FERNANDES et al., 2012; LI et al., 2019; PENG et al., 2018a; SPERLICH et al., 2010; SUZIN et al., 2018; WANG; TONG; WANG, 2018). A remoção e recuperação do fósforo geralmente é realizada por precipitação seguida de separação física, na qual o produto final pode ser utilizado como fertilizante ou como suplemento de fósforo na alimentação animal; isso é uma preocupação importante, uma vez que as fontes de fósforo estão se tornando escassas (MELIA et al., 2017; SUZIN et al., 2018).

#### 4.3.1 Digestão anaeróbia

A principal tecnologia utilizada na agricultura para a remoção de matéria orgânica de dejetos suínos é a digestão anaeróbia (DA). O processo de DA é uma eficiente alternativa, na qual a matéria orgânica facilmente biodegradável é convertida em biogás (AMARAL et al., 2016b; ATELGE et al., 2018).

Esse processo envolve um ecossistema de diversos microrganismos, que trabalham interativamente na conversão de matéria orgânica em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia. Os microrganismos atuantes no processo têm velocidade de crescimento e inibição diferentes e a inoperância de um determinado grupo pode inativar todo o processo (TÁPPARO et al., 2018; WU et al., 2019).

A configuração mais utilizada para a degradação do carbono são os reatores do tipo CSTR; aproximadamente 90% dos reatores erguidos na Europa são desse modelo (SHAH et al., 2015). Isso ocorre, pois tal modelo de reator promove maior contato entre a biomassa e as partículas de substrato (MAO et al., 2015). Segundo Cantrell et al., (2008); na maioria dos casos, o reator CSTR apresenta uma produção de biogás até 10 vezes superior, comparada ao biodigestor de lagoa coberta. O diferencial responsável pelo aumento da produtividade está relacionado diretamente com maior controlabilidade de processo, como agitação e operação a condições mesofílicas ou termofílicas. Reatores CSTR têm a necessidade de um substrato com elevada concentração de sólidos totais, suportando até cerca de 12% (KARIYAMA; ZHAI; WU, 2018).

Como a concentração de SV em dejetos de suínos, via de regra, está entre 1 e 3%, com a finalidade de incrementar o sólido volátil de reatores do tipo CSTR, diversas estratégias são utilizadas, a saber: a codigestão com culturas energéticas (PABÓN-PEREIRA et al., 2014), lodos de estação de tratamento de efluentes (TAMPIO; SALO; RINTALA, 2016), concentrar os sólidos voláteis presentes no dejetos por meio de separação de fases (AMARAL et al., 2016b), adição de carcaças (TÁPPARO et al., 2018) e resíduo alimentar (MAHMOODI-ESHKAFTAKI; EBRAHIMI, 2019).

#### **4.3.2 Preparação do digestato para o processo de desamonificação.**

O material digerido usualmente é utilizado sem qualquer tratamento adicional. Porém, o armazenamento, transporte, manuseio e aplicação do digerido como fertilizante resultam em custos significativos para os agricultores em comparação com seu valor de fertilizante; isso se deve ao grande volume e baixo teor de matéria seca (MS) (SHI et al., 2018). Além do mais, o digestato possui altas concentrações de nitrogênio facilmente disponível, podendo inviabilizar a aplicação diretamente no solo.

Essas condições tornam o processamento do digestato muito atrativo, o qual envolve a aplicação de diferentes tecnologias (WU et al., 2019). As tecnologias aplicadas são, na sua maioria, comparáveis às tecnologias existentes no tratamento de águas residuais.

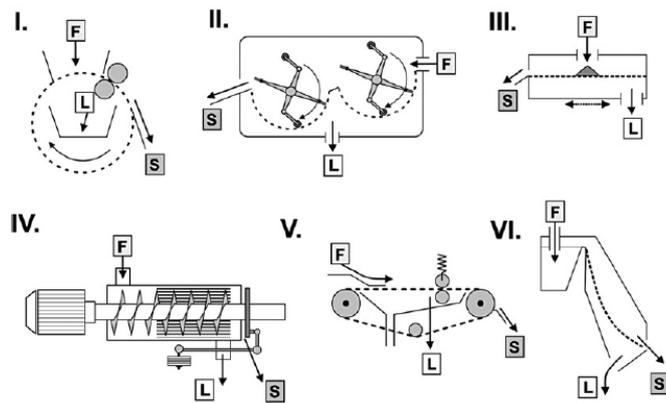
O processamento do digestato pode ser realizado de duas maneiras: condicionamento e tratamento. O condicionamento visa produzir biofertilizantes padronizados (sólidos e líquidos), nos quais a qualidade e a comercialização são melhoradas (POPOVIC et al., 2017). Já o tratamento, é aplicado para remover nutrientes e matéria orgânica que restou, gerando mais biogás e permitindo um pós-tratamento da parte líquida para posterior lançamento em corpos d'água ou reúso desse efluente (PEPÉ SCIARRIA et al., 2019).

A desamonificação já foi aplicada com sucesso no tratamento de efluentes com diversas relações C/N, como: águas residuárias (PICHEL et al., 2018; WAKI et al., 2018), lixiviado de aterro (PENG et al., 2018b; YUAN et al., 2018), esgoto doméstico (MIAO et al., 2018; ZHANG et al., 2018a), efluente sintético (CHINI et al., 2016; ZHANG et al., 2019b), industrial (MIRGHORAYSHI; ZINATIZADEH; VAN LOOSDRECHT, 2018) e digestato (LI et al., 2016; RISBERG et al., 2017).

As relações C/N, geralmente utilizadas nestes trabalhos, são de até 0,8, visando à supressão de microrganismos heterotróficos. Porém, é um desafio a aplicação de um processo para remoção de nitrogênio de digestato de biorreator de lodo, devido à concentração de sólidos e carbono, as quais devem ser consideradas e não somente a relação C/N. Assim, o primeiro passo para o tratamento do digestato é separar a fase sólida da líquida, por meio de processos de separação sólido-líquido (SSL), os quais utilizam diferentes tecnologias e um variado grau técnico.

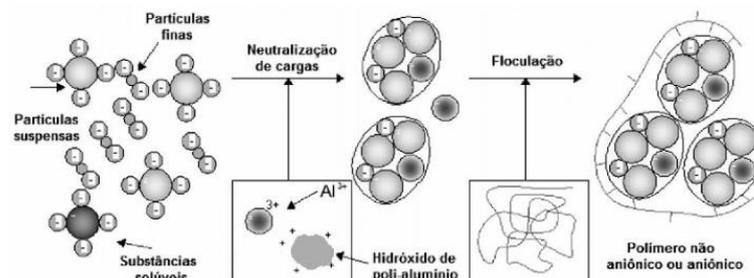
O uso da SSL em efluentes produz duas frações, uma sólida e outra líquida. A fração sólida pode ser vendida como fertilizante, que pode ser seco e peletizado, compostado e utilizado como condicionador de solo, fins industriais ou digerido para produção de energia (AL SEADI et al., 2013; PABÓN-PEREIRA et al., 2014). A fração líquida contém principalmente nitrogênio, a qual pode ser aplicada como fertilizante em áreas com deficiência de nitrogênio ou destinada a um pós-tratamento (ILMI et al., 2017).

Uma gama de processos de SSL estão disponíveis, incluindo processos físicos (figura 2) e químicos (figura 3). Dentre esses, pode-se citar o uso de separadores, prensa parafuso, centrifugação, sedimentação, floculação química, filtração, osmose reversa, dentre outros (AKHIAR et al., 2017; BALDÉ et al., 2018; COCOLO et al., 2016; MEIXNER et al., 2015).



**Figura 2** Separação comum e tecnologias de separação física de efluentes. **F** - entrada do efluente, **L** - saída do líquido clarificado e **S** - saída dos sólidos. Os nomes para os dispositivos são: I. Peneira rotativa, II. Peneira estática de escova rotativa, III. Tela vibratória, IV. Prensa parafuso, V. Prensa de correia, VI. Peneira estática.

Fonte: BURTON, (2007).



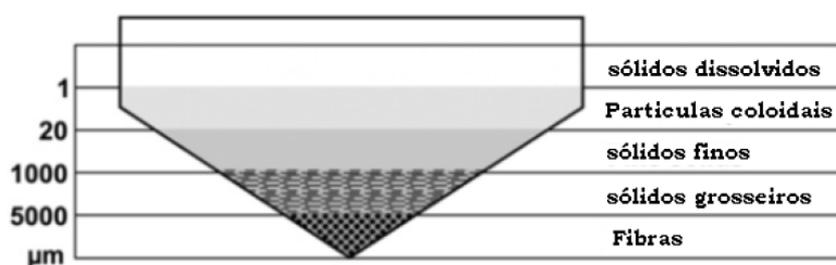
**Figura 3** Representação esquemática de um modelo do processo de coagulação e floculação química.

Fonte: DEZOTTI, (2008).

As variações de processos de SSL baseiam-se na densidade ou no tamanho da partícula. A diferença de densidade permite a utilização dos processos de gravidade, flota-

ção ou força gravitacional. Já a SSL por tamanho envolve processos de filtração (NAKAMURA; NAKAMURA; MATSUMOTO, 2018). Ambos os métodos têm vantagens e desvantagens, por isso, entender o efluente e o produto final necessário irá auxiliar na escolha do melhor processo.

Do sólido total presente nos efluentes, é possível dividi-lo em diversas frações em função do diâmetro das partículas, ou seja, uma fração com as partículas em suspensão (coloides, finos, grosseiros e fibras) e outra com os sólidos dissolvidos (Figura 4). As partículas, com diâmetro superior a 1mm, são caracterizadas como sólidos mais grosseiros; com o uso de peneiras e prensas, obtém-se melhor eficiência de separação (BURTON, 2007).



**Figura 4** Divisão da matéria sólida do dejetos suíno em frações que podem ser removidos pelas principais categorias de separação ou processo de separação.

Fonte: BURTON, (2007).

#### 4.3.2.1 Sedimentação

A sedimentação é uma opção atraente para separação, devido ao baixo custo e tecnologia simples. A maioria consiste em um recipiente cilíndrico no topo e cônico na parte inferior, no qual o efluente é adicionado no topo e os sólidos se depositam no fundo da parte cônica, podendo ser removidos (BITTELLI et al., 2019).

A sedimentação é utilizada usualmente na separação de partículas com diâmetro inferior a 1 mm (figura 4) (BURTON, 2007). Ela atua na remoção dos sólidos em suspensão. Essa separação das partículas sólidas, com densidade superior à do líquido, ocorre por meio da ação da gravidade, tendo como resultado o sobrenadante e o sedimentado, ou seja, um líquido clarificado e o lodo, respectivamente (STAZI; TOMEI, 2018). A velocidade de sedimentação aumenta com a densidade do sólido quando comparada com a do líquido, mas diminui com o aumento da viscosidade, variando de acordo com o tipo de lodo (HJORTH et al., 2010).

A sedimentação dos sólidos de dejetos suíno foi estudada durante 4 horas, com MS inicial entre 0,5 – 4%; a sedimentação estava completa com 1 hora de experimento. Já com MS de 6%, foi de 4 horas. Observou-se que a remoção de MS foi maior para 1% e 2% (60% de remoção), enquanto que a remoção de MS foi 30% para 0,5 e 4% e apenas 5% o lodo

com 6% de MS. Notou-se, também, que, conforme diminuía-se a quantidade de sólidos, melhor era a sedimentabilidade do lodo (LICHTFOUSE et al., 2010).

O equipamento empregado na sedimentação é o decantador, o qual apresenta diferentes configurações, que possuem variações no formato do tanque e nas formas de remoção do lodo. Normalmente, o efluente é inserido pelo topo circular, de forma que, com a base cônica, ocorre a remoção do lodo (HJORTH et al., 2010).

#### 4.3.2.2 Centrifugação

O processo de separação por centrifugação é baseado na aplicação da força gravitacional sobre as partículas, o que pode aumentar a eficiência de separação, reduzindo o tempo necessário para atingir uma determinada eficiência (MEIXNER et al., 2015).

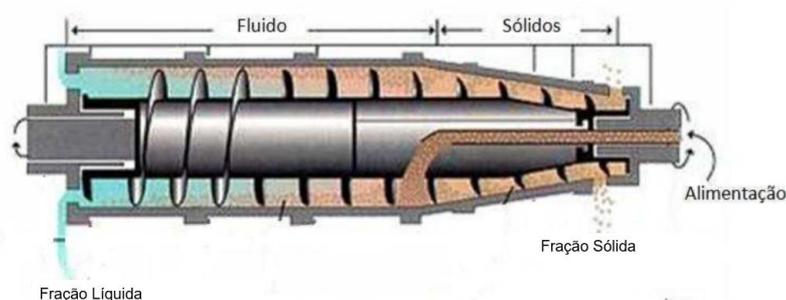
Assim, qualquer partícula que apresente um movimento circular uniforme, submetida a uma força centrífuga (gravitacional), que tem como referência o centro da trajetória circular, é representada pela equação 7 (WILSON; WALKER, 2010).

$$F_c = m * \omega^2 * R \quad \text{Eq. (06)}$$

Em que: m – massa do corpo;  $\omega$  – velocidade; R – raio da rotação.

Quanto maior for o número de rotações por segundo, maior será a força centrífuga aplicada na partícula e, quanto maior o raio da circunferência, maior a força centrífuga. Quando uma suspensão é submetida a uma velocidade ou a um número de rotações por minuto (RPM), a força centrífuga faz com que as partículas se afastem radialmente do eixo da rotação (COCOLO et al., 2016).

O modelo de centrífuga mais usual no tratamento de efluentes é do tipo *decanter*, são unidades simples e compactas (figura 5). Esse equipamento consiste em uma rosca transportadora dentro de um tambor rotativo, operando com o princípio de submeter o fluido a altas forças centrífugas (1500 a 4000 rpm), separando em frações (H. B. MOLLER; J. D. HANSEN; C. A. G. SORENSEN, 2007).



**Figura 5** Representação de uma centrífuga de modelo decanter

Fonte: H. B. MOLLER; J. D. HANSEN; C. A. G. SORENSEN, (2007) (adaptado).

#### 4.3.2.3 Floculação química

Esse processo caracteriza-se pela aglomeração de impurezas que se encontram em suspensão fina (estado coloidal) ou dissolvidas em partículas maiores para que possam sedimentar com mais facilidade, removendo-as do meio. O fenômeno de aglomeração deve-se à desestabilização das cargas superficiais das partículas em suspensão provocada pela adição de produtos químicos, os quais neutralizam as forças elétricas superficiais e anulam as forças repulsivas (DEZOTTI, 2008).

A floculação química (figura 3) acontece em duas etapas: a coagulação e a floculação. A coagulação refere-se à adição do coagulante no efluente, havendo formação de espécies hidrolisadas com carga positiva. Essas espécies são transportadas para que ocorra o contato com o material particulado. A etapa subsequente consiste na floculação, na qual ocorre a aglomeração dos coloides descarregados, até a formação de flocos que sedimentam a uma velocidade adequada (HJORTH; CHRISTENSEN; CHRISTENSEN, 2008).

Os reagentes utilizados nesse processo são coagulantes e os coadjuvantes. Os coagulantes empregados são sais orgânicos, geralmente, ferro e alumínio, que são capazes de produzir hidróxidos gelatinosos insolúveis, os quais se envolvem e absorvem impurezas. Já os reagentes coadjuvantes são aceleradores da floculação, capazes de formar partículas mais densas, beneficiando a coagulação, além de aumentar a decantação e o enrijecimento dos flocos (BITTON, 2005).

Também, como coagulantes e coadjuvantes, os polieletrólitos têm sido utilizados com sucesso. Os polieletrólitos são polímeros orgânicos, de origem sintética ou natural, que apresentam solubilidade em água, podendo apresentar características de carga neutra, positiva ou negativa; são divididos em não-iônicos, catiônicos e aniônicos (SÁNCHEZ-MARTÍN; BELTRÁN-HEREDIA; SOLERA-HERNÁNDEZ, 2010)

O uso desses polímeros na SSL é crescente por gerarem subprodutos de menor toxicidade e risco ambiental, em comparação com subprodutos do uso de sais inorgânicos, que contêm altas concentrações de metais. Embora o custo desses polímeros seja maior que o dos sais (ex: sulfato de alumínio), as dosagens requeridas são reduzidas, igualando-se o custo no final (DEZOTTI, 2008).

Os polieletrólitos de acrilamidas (poliacrilamidas) são produzidos sinteticamente por meio da copolimerização de monômeros do ácido acrílico ou monômeros de sais de acrilamida. Dentre o grupo de polieletrólitos naturais, destacam-se os taninos vegetais, que representam um grupo de compostos fenólicos de grande interesse econômico e ecológico, por serem de fonte renovável (HJORTH; CHRISTENSEN; CHRISTENSEN, 2008).

A utilização do tanino combinado com a poliacrilamida em dejetos suíno, testada em diversas concentrações (0,75 a 1,8 g L<sup>-1</sup> de tanino e 0,5 a 1,3 mg L<sup>-1</sup> poliacrilamida), demonstrou-se eficiente (acima de 90%) na remoção de material em suspensão e demanda química de oxigênio (DQO). Foi observado, também, que houve aumento na velocidade de sedimentação do lodo, além da formação de flocos maiores e mais compactos à medida que as concentrações de tanino foram aumentadas (STEINMETZ et al., 2007).

Por fim, Kunz; Steinmetz; Bortoli (2010), utilizando 2,5 mL L<sup>-1</sup> de tanino e 0,25 mgL<sup>-1</sup> de poliacrilamida, obtiveram como resultado um volume de lodo de 275 mL L<sup>-1</sup>, os quais também observaram a formação de flocos maiores, mais definidos e com boa sedimentabilidade, obtendo uma eficiência de remoção de DQO de 76%.

### 4.3.3 Nitrificação e desnitrificação

O processo de nitrificação é a conversão de amônia para nitrato, por meio de ação microbiana. Esse processo é dividido em duas etapas, a nitritação e a nitratação. A nitritação (Equação 02) é a conversão da amônia em nitrito, que ocorre pelo grupo de bactérias oxidadoras de amônia (BOA). Já a nitratação (Equação 03) é a conversão do nitrito para nitrato, via bactérias oxidadoras de nitrito (BON) (CUI et al., 2016).

No caso de posterior alimentação do processo anammox, deve haver somente cerca de 50% da conversão do íon amônio a nitrito, tornando, assim, a estequiometria de acordo com o desejável pelo processo anammox, a qual se chama nitritação parcial (DE PRÁ et al., 2012a; WU, 2017).



Os dois mols de H<sup>+</sup> gerados no produto final da reação de nitrificação são responsáveis por converter CaCO<sub>3</sub> em ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), que, por sua vez, acaba se dissociando em H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>. A nitrificação apresenta a tendência de consumir alcalinidade, o qual é estimado em 7,14 g de carbonato de cálcio para cada grama de amônio oxidado, em que, para cada mol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (14 g/mol) oxidado, são gerados 2 mols de H<sup>+</sup> e consumido 1 mol de CaCO<sub>3</sub> (100 g/mol) (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

Dessa forma, o processo precisa ocorrer com condições controladas, pois os produtos do metabolismo dessas bactérias podem aumentar a toxicidade do meio (DE PRÁ et al., 2012a; GIONGO et al., 2018). Assim, é de grande importância conhecer o funcionamento do processo e os efeitos que alguns fatores causam na conversão do nitrogênio amoniacal, tendo em vista o controle da temperatura, pH e oxigênio dissolvido, já que são os principais interferentes (WU, 2017; YAN et al., 2019).

Ao contrário do processo de nitrificação, a desnitrificação não exige bactérias específicas; isso ocorre devido ao processo ser realizado por diversos micro-organismos, predominantemente por bactérias heterotróficas, anaeróbias facultativas, que utilizam o nitrato e/ou nitrito, ao invés do oxigênio, como acceptor de elétrons (LEI et al., 2019).

A desnitrificação é a redução do nitrato, gerado na nitrificação, para nitrogênio gasoso, em que uma das condições deve ser a ausência de  $O_2$  e presença de uma fonte de carbono. Assim, ocorre em quatro estágios, conforme equação 04 (RIOS-DEL TORO; CERVANTES, 2016):



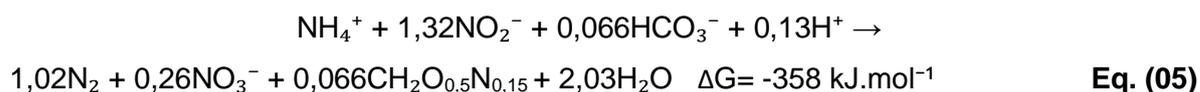
Cada um desses estágios é catabolizado por enzimas específicas, podendo ser mais de um tipo de redutase por etapa. As reações ocorrem por microrganismos heterotróficos, que, em sua síntese celular, necessitam de matéria orgânica. Normalmente, as enzimas necessárias para a desnitrificação são produzidas exclusivamente sob ou próximas a condições anaeróbias, sendo inibidas quando expostas ao oxigênio dissolvido (TANG et al., 2019b; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016) .

Além disso, a alcalinidade, também, exerce um papel importante na desnitrificação, uma vez que as etapas do processo consomem íons  $H^+$  do meio, implicando no aumento da alcalinidade do meio. O valor estimado de  $CaCO_3$  que deixa de ser consumido é de 3,57g por grama de nitrogênio gerado, uma vez que, para 6 mols de  $H^+$ , 300mg de  $CaCO_3$  deixam de ser consumidos, gerando 84g de nitrogênio gasoso (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

Nota-se que a quantidade de íons  $H^+$  gerados na nitrificação é o dobro da quantidade de íons  $H^+$  consumidos na desnitrificação. Dessa forma, o controle do pH e eventual suplementação de alcalinidade mostra-se importante para que não haja inibição das bactérias, durante o processo, devido à acidez do meio (PAPPU et al., 2017)

#### 4.3.4 Anammox

Na remoção de nitrogênio amoniacal de efluentes, o processo de oxidação anaeróbia do amônio (anammox, do inglês: *Anaerobic Ammonium Oxidation*) é tido como um dos avanços tecnológicos mais inovadores (MAGRÍ et al., 2017; PEETERS; VAN NIFTRIK, 2019; VIANCELLI et al., 2017). Esse processo é uma rota alternativa que consiste na oxidação do íon amônio a nitrogênio gasoso, via micro-organismos específicos, tendo o nitrito como acceptor de elétrons, o que produz uma pequena quantidade de nitrato (equação 05) (LI et al., 2018a; SCHEEREN et al., 2011).



Estima-se, pela máxima atividade das bactérias e do fator de conversão de substrato em biomassa, que o tempo de duplicação para essas bactérias seja de 4 a 7 dias, tendo assim uma velocidade de crescimento lenta; com isso, o processo produz pouco volume de lodo (ZHANG et al., 2017).

Os micro-organismos responsáveis por essa reação são quimiolitotóxicos e sofrem inibição reversível na presença de oxigênio (VAN DE GRAAF et al., 1995; ZHANG et al., 2018b). Além disso, há vários fatores que interferem no processo, como: temperatura, pH, nitrito, nitrato, amônio, carbono e sólidos (JIN et al., 2012; ZHANG et al., 2019a).

Uma das maiores vantagens do processo está na capacidade de remoção de altas cargas de nitrogênio com baixo tempo de retenção hidráulica (TRH) (MANONMANI; JOSEPH, 2018). Casagrande et al. (2013) conseguiram atingir taxas de remoção de nitrogênio na ordem de  $16,24 \text{ kg N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , operando com TRH de 0,2 horas.

Na presença de determinadas quantidades de matéria orgânica (acima de  $300 \text{ mg DQO L}^{-1}$ ), bactérias com atividade anammox têm dificuldade de competir por nitrito com os micro-organismos heterotróficos, os quais apresentam velocidades de crescimento muito superiores aos micro-organismos com atividade anammox (SANCHO et al., 2019). Todavia, existem diferentes pontos de vista na literatura a respeito da concentração de carbono orgânico a partir da qual os micro-organismos desnitrificantes inibem o processo anammox (WANG et al., 2019).

Coradi (2014) reporta que uma relação C/N acima de 2,0 causa inativação dos micro-organismos anammox. Zhang et al. (2012) reportam que a relação C/N ideal para o processo é de 0,65, porém, Chen et al. (2016) alcançaram uma relação de 2 como ideal. Winkler; Kleerebezem; Van Loosdrecht (2012) encontram estabilidade do processo com uma relação C/N máxima de 0,5.

Uma taxa de remoção de nitrogênio de 95% foi obtida em relações C/N inferiores a 1,28, com 51% de diminuição da atividade anammox e aumento de 49% na desnitrificação (JIA et al., 2012). A remoção de nitrogênio foi mantida entre 80 – 85%, elevando a relação C/N gradualmente de 1 até 3 (LACKNER et al., 2014). Já para conseguir manter os processos anammox e desnitrificação, coexistindo em um reator SBR, foi fundamental uma relação C/N abaixo de 1,57 (TAKEKAWA et al., 2014).

De acordo com o disponível na literatura, a relação C/N apropriada, para que o processo de desnitrificação coexista e não se sobressaia o processo anammox, na remoção de nitrogênio, deve ser na faixa de 0,5 – 3. Porém, para que não haja crescimento de bactérias heterotróficas, é indicado o uso de relação C/N até 0,5 (ZHOU et al., 2018). Todavia, com

base em estudos prévios e análise da literatura, deve-se considerar a concentração inicial de carbono de nitrogênio, o que influencia diretamente na relação C/N.

Os dados na literatura com relação a DQO são variáveis; concentrações de DQO em torno de  $0,3 \text{ g L}^{-1}$  inativam o processo anammox (CHAMCHOI; NITISORAVUT; SCHMIDT, 2008) e, acima de  $0,3 \text{ g L}^{-1}$ , cessam completamente a atividade anammox (MOLINUEVO et al., 2009). Porém, Tomar; Gupta; Mishra (2015) testaram que a concentração de DQO pode ser aumentada até  $0,6 \text{ g L}^{-1}$ , mantendo a coexistência de anammox e desnitrificantes. Já Ruscaleda et al. (2008) obtiveram eficiência de 85% via anammox com a adição de  $0,4 \text{ g L}^{-1}$  de DQO.

Os valores e razões apresentados na literatura evidenciam alta variabilidade, pois estão fortemente ligados à biodisponibilidade da matéria orgânica, ou seja, está relacionado com o tipo de molécula orgânica predominante do efluente. Assim, com base nos trabalhos envolvendo relações C/N, DQO e carbono, percebe-se que as bactérias com atividade anammox e organismos desnitrificantes podem coexistir e ser fundamentais para o tratamento com altas concentrações de material orgânico, lentamente biodegradável (WANG et al., 2019). Nessas águas residuárias, em particular, o crescimento de organismos heterotróficos desnitrificantes é limitado pela baixa biodisponibilidade de carbono orgânico.

Assim, percebe-se que o processo anammox é bastante promissor para o tratamento de efluentes com baixo carbono, por isso, o desafio é adaptá-lo a efluentes agroindustriais, em função da necessidade específica de substrato (SCHEEREN et al., 2011).

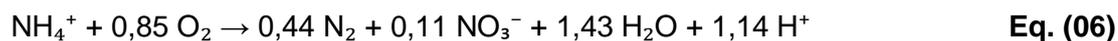
#### 4.3.5 Desamonificação

Um dos arranjos de tecnologias proposto para o tratamento de efluentes é a combinação dos processos de nitrificação parcial e anammox em um mesmo reator, desse modo, criando um conjunto de bactérias para eliminação do nitrogênio (CHINI et al., 2016; PEETERS; VAN NIFTRIK, 2019). A combinação desses dois processos tem recebido diferentes nomes, como desamonificação (DAI et al., 2019), PNA PN+AMX (do inglês *partial nitrification-anammox*) (MIAO et al., 2018; WU, 2017) e CANON (do inglês *Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) (LI et al., 2018a).

O processo de desamonificação foi primeiramente proposto em dois reatores como forma de ser facilmente operado, para ser economicamente viável em plantas de tratamento maiores, quando comparado aos processos de nitrificação/desnitrificação (CONNAN et al., 2018). Todavia, com o desenvolvimento de outras tecnologias, o sistema de reator único passou a ser o mais utilizado. Esse fato efetivou-se em razão da sua simplicidade, bem como por utilizar menos material, espaço físico e por ser de simples controle (VAN DER STAR et al., 2011).

Logo, a remoção de nitrogênio pela desamonificação em reator único é competitiva em relação ao custo de investimento, pois pode ser alcançada com menor aeração, espaço e energia (LI et al., 2018a).

No processo de desamonificação, os grupos de bactérias nitrificantes e anammox devem cooperar ao longo do processo, de forma a perfazerem um consórcio efetivo para remoção de nitrogênio (PICHEL et al., 2018). A estequiometria para o processo de desamonificação está descrita abaixo, na equação 06 (FENG et al., 2017; SLIEKERS et al., 2002).



O processo de desamonificação em reator único consiste na oxidação parcial da amônia a nitrito, sob condição de oxigênio limitado e, subsequentemente, a conversão desse nitrito juntamente com o amônio remanescente a nitrogênio gasoso (CHINI et al., 2016).

Considerando-se que bactérias com atividade anammox são reversivelmente inibidas por baixas concentrações de oxigênio ( $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ), para que esse processo possa ocorrer em um único reator, as BOA deve remover todo o oxigênio (HAUCK et al., 2016).

Assim, um processo de desamonificação eficiente significa manter o controle dos possíveis fatores que influenciam no desempenho do processo. Controlando o crescimento excessivo de nitrificantes (suprimir a atividade das BON, sem reduzir a atividade das BOA) e desnitrificantes, além de fortalecer os micro-organismos anammox (LI et al., 2018a).

Altas concentrações de ambos os substratos (amônia  $> 700 \text{ mg L}^{-1}$  e nitrito  $> 350 \text{ mg L}^{-1}$ ) inibem o processo anammox, mas esse é geralmente mais sensível a altas concentrações de nitrito (FENG et al., 2017). Durante o processo de desamonificação, o acúmulo de nitrito é o ponto chave, porque, além de ser substrato, pode ser um agente inibidor para o processo anammox.

O nitrito causou efeito inibitório de 50%, com concentrações variando de 100 a 400  $\text{mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$  (LOTTI; et al., 2012). PUYOL et al. (2014) mostraram que o nitrito é o principal inibidor do anammox e não o ácido nitroso livre, uma vez que o pH do processo é mantido acima de 7,1 e, nessa condição, a concentração de ácido nitroso livre é inferior à concentração que pode ser inibitória. Já para concentrações de nitrogênio em torno de  $450 \text{ mg N L}^{-1}$ , houve uma inibição de 10% e, para  $750 \text{ mg N L}^{-1}$ , a inibição aumentou para 50% (MA et al., 2017). Os autores também observaram que, dentro das concentrações citadas, o efeito inibitório é reversível.

Por ser o aceptor de elétrons no processo anammox, bem como na desnitrificação, pode haver uma competição pelo nitrito entre ambos os processos. Uma vez que as bactérias heterotróficas são capazes de crescer mais rapidamente (Tabela 4) do que as autotróficas, tendo assim uma competição, isso pode impedir as devidas reações químicas (LEAL et al., 2016).

**Tabela 4** Velocidade de crescimento de microrganismos reportado na literatura

Microrganismo	$\mu_{\max}$ (d <sup>-1</sup> )	Referência
BOA	0,77	(ZOPPAS; BERNARDES;
BON	1,08	MENEGUZZI, 2016)
Bactérias heterotróficas	7,2	(KUNZ et al., 2012)
Anammox	0,11	(ZHANG et al., 2017)

Porém, dentre os fatores a serem considerados que influenciam o processo de desamonificação, a concentração de matéria orgânica é muito mais relevante do que a relação C/N. Isso se deve ao fato de não haver um consenso na literatura, relatando o quanto e de que forma a concentração de carbono afeta o processo de desamonificação, tendo em vista que os trabalhos focam somente em relação C/N (conforme mencionado no tópico anterior) (ZHANG et al., 2019b).

#### 4.3.5.1 Tratamento de digestato de biodigestor de lodos via desamonificação

Algumas etapas devem ser seguidas para a aplicação do processo de desamonificação (*sidestream*) em escala real no tratamento de digestato de biodigestores de lodos (*mainstream*). Inicialmente, entende-se que é necessário conhecer as características do digestato para possibilitar estudos com relação ao preparo de digestatos (principalmente, de biodigestor de lodo), em razão da importância de diminuir ou ao menos estabilizar a interferência de fatores externos.

A literatura não tem estudos detalhados acerca das características de digestato de biodigestores de lodo. Por isso, é interessante avaliar as características do digestato gerado a partir da digestão de diversos resíduos, usualmente encontrados na literatura (tabela 5).

Os valores para DQO alternam de 0,2 a 20 g L<sup>-1</sup>; esses valores são bem variáveis, pois o método leva em consideração tanto a fração biodegradável quanto a inerte (MCLEOD; OTHMAN; PARTHASARATHY, 2018).

Alguns estudos relatam que, em altas cargas orgânicas, o crescimento de bactérias com atividade anammox foi suprimido pelo crescimento de desnitrificantes, devido à competição por nitrito e espaço (LI et al., 2011; TANG et al., 2010; WANG et al., 2019). Concentrações de DQO acima de 0,3 g L<sup>-1</sup> tendem a reduzir consumo de nitrito via processo anammox e a desnitrificação torna-se a rota dominante na remoção de nitrito (TANG et al., 2011).

Yamamoto et al. (2011) relataram que a taxa de remoção de nitrogênio (via anammox) não foi significativamente diminuída, utilizando o efluente de um reator de nitrificação parcial (NP) com 0,2 g L<sup>-1</sup> de carbono orgânico total (COT). De Prá et al. (2012a) testaram concentrações de COT em um reator de NP, tendo recomendado trabalhar com cargas abaixo de 2 kgTOC m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>. Quando altas concentrações de matéria orgânica e amônio

**Tabela 5** Principais características do digestato em função de resíduos utilizados no biodigestor

<b>DQO</b> <b>(g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>NTK</b> <b>(g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>NAT</b> <b>(g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>ST</b> <b>(g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>pH</b>	<b>Resíduo tratado</b>	<b>Referência</b>
15,1 ± 1,9	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,1	19,3 ± 0,5	8,0	Dejeto suíno e glicerol bruto	(ASTALS; NOLLA-ARDEVOL; MATA-ALVAREZ, 2012)
1,0 ± 0,5	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,1	-	8,9	Aterro sanitário	(PENG et al., 2018b)
9,8 ± 1,2	2,8 ± 0,2	2,5 ± 0,2	-	8,1	Dejeto suíno e grama	(SVEHLA et al., 2017)
0,4 ± 0,04	0,5 ± 0,06	0,4 ± 0,01	-	7,61	Dejeto suíno	(ZHANG et al., 2012)
4,57 ± 0,8	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	-	7,8	Dejeto suíno	(DENG et al., 2012)
20,3 ± 0,7	-	0,9 ± 0,1	29,4 ± 1,8	7,51	Esgoto municipal e industrial	(MCLEOD; OTHMAN; PARTHASARATHY, 2018)
0,18	-	0,05	-	-	Esgoto municipal	(TANG et al., 2019a)
0,22 ± 0,07	0,6 ± 0,08	0,6 ± 0,08	-	8,01	Dejeto suíno	(LUO et al., 2019)
6,5 ± 0,2	-	0,05 ± 0,01	-	-	Resíduo alimentar	(YANG et al., 2019)
2,7 ± 0,1	-	1,2 ± 0,02	-	7,9	Esgoto municipal	(BARUA et al., 2018)
2,9 ± 0,3	-	2,6 ± 1,3	45,9 ± 2,0	-	Dejeto suíno	(SHI et al., 2019)
5,9	2,4	-	-	-	Resíduo alimentar	(SHIN et al., 2015)
0,2 ± 0,02	-	0,75 ± 0,06	-	8,3	Esgoto municipal	(JENNI et al., 2014)
0,5 ± 0,1	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,01	-	7,09	Resíduo alimentar	(GUVEN, 2018)
-	-	0,5 ± 0,02	8,6 ± 1,1	7,7	Esgoto municipal	(JIANG et al., 2014)

coexistem, as BOA não conseguem competir com as bactérias heterotróficas, as quais tendem a ser eliminadas, assim, suprimindo a NP.

Contudo, para a concentração de sólidos no processo de desamonificação, os valores médios encontrados estão em torno de 0,2 - 0,3 g SST L<sup>-1</sup> (LACKNER et al., 2014). A variação da carga de sólidos pode ocasionar graves problemas operacionais, no entanto, dados acerca disso são incipientes.

Acredita-se que essa variação de dados deve-se ao fato de que somente a porção, cuja biodegradabilidade é baixa, permanece no digestato, bem como os compostos nitrogenados contidos nas águas residuárias, principalmente o íon amônio (varia de 0,8 a 5,0 g L<sup>-1</sup>) (SHI et al., 2018). Por isso, torna-se necessário encontrar soluções de tratamento desse tipo de efluente, antes de serem lançados em corpos d'água ou reutilizados na agricultura.

Os dados apresentados podem ser utilizados como base de avaliação das características de digestato, com a finalidade de comparar com digestato, provindo de biodigestores de lodo, os quais contêm quantidade de sólidos superior aos comentados acima (JIANG et al., 2014).

Visando à diminuição da influência da concentração de sólidos e de carbono, os processos de SSL são sugeridos em diversas fases do tratamento de efluentes. O processo que se sobressai, no tratamento de efluentes suínicos, aos demais é a centrifugação (MEIXNER et al., 2015; POPOVIC et al., 2017; SHI et al., 2019), a qual é capaz de gerar efluente com uma quantidade menor de carbono e sólidos. A sedimentação e a floculação química também são uma opção atraente para separação por serem tecnologias simples (COCOLO et al., 2016).

Kindaichi et al. (2016) estudaram o efeito da matéria orgânica sobre o processo em questão, tendo utilizado efluente de laticínios, além de empregar os métodos de centrifugação, filtração 0,45 mm e posterior diluição, para obter uma relação C/N de 0,75. Dessa forma, constataram que, conforme houve a substituição do efluente sintético pelo efluente real, a eficiência de remoção de nitrogênio teve um decréscimo de até 40%.

Scaglione et al. (2015), os quais estudaram a remoção de nitrogênio, pelo processo de desamonificação em reatores separados, de digestato suínico, utilizaram o método de centrifugação como SSL, sendo que permaneceu uma concentração de sólidos suspensos totais de 0,3 g L<sup>-1</sup> e relação C/N máxima foi de 1,9. Assim, obtiveram 90% de remoção de nitrogênio com uma carga de 0,6 g N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Diante disso, com base nos trabalhos apresentados, entende-se que a eficiência na remoção de carbono e sólidos dos processos de SSL são comprovadas para vários tipos de efluentes, exceto para digestato de biodigestores de lodo, com vistas a aplicação em processos de remoção de nitrogênio por desamonificação. Essa remoção requer níveis baixos de carbono e sólidos, com valores em torno de 0,4 g L<sup>-1</sup> e 0,3 g L<sup>-1</sup>, respectivamente, a fim de não inibir a atividade anammox. Por isso, faz-se necessário um estudo aprofundado com

relação a esses métodos e do respectivo efluente gerado no tratamento via desamonificação.

## 5 REFERÊNCIAS

- ABPA. **Relatório Anual - 2018**. brasilia. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>>. Acesso em: 15/12/2018.
- AKHIAR, A.; BATTIMELLI, A.; TORRIJOS, M.; CARRERE, H. Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. **Waste Management**, [s. l.], v. 59, p. 118–128, 2017.
- AL SEADI, T.; DROSG, B.; FUCHS, W.; RUTZ, D.; JANSSEN, R. 2013. **Biogas digestate quality and utilization**,. [s.l: s.n.]
- AMARAL, A. C. do; KUNZ, A.; TÁPPARO, D. C. .; GASPARETO, T. C.; STEINMETZ, R. L. R. Influência da carga orgânica volumétrica na recuperação de metano em um reator cstr tratando dejetos suíno. In: XLV CONBEA 2016a, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis.
- AMARAL, A. C. Do; KUNZ, A.; RADIS STEINMETZ, R. L.; SCUSSIATO, L. A.; TÁPPARO, D. C.; GASPARETO, T. C. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 168, p. 229–235, 2016. b.
- AMARAL, A. C. Do; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; CANTELLI, F.; SCUSSIATO, L. A.; JUSTI, K. C. Swine effluent treatment using anaerobic digestion at different loading rates. **Engenharia Agrícola**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 567–576, 2014.
- ASTALS, S.; NOLLA-ARDEVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 110, p. 63–70, 2012.
- ATELGE, M. R.; KRISA, D.; KUMAR, G.; ESKICIOGLU, C.; NGUYEN, D. D.; CHANG, S. W.; ATABANI, A. E.; AL-MUHTASEB, A. H.; UNALAN, S. Biogas Production from Organic Waste: Recent Progress and Perspectives. **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 0, 2018.
- BALDÉ, H.; VANDERZAAG, A. C.; BURTT, S. D.; WAGNER-RIDDLE, C.; EVANS, L.; GORDON, R.; DESJARDINS, R. L.; MACDONALD, J. D. Ammonia emissions from liquid manure storages are affected by anaerobic digestion and solid-liquid separation. **Agricultural and Forest Meteorology**, [s. l.], v. 258, n., p. 80-88, nov., 2017, 2018.
- BARUA, S.; ZAKARIA, B. S.; CHUNG, T.; HAI, F. I.; HAILE, T.; AL-MAMUN, A.; DHAR, B. R. Microbial Electrolysis Followed by Chemical Precipitation for Effective Nutrients Recovery from Digested Sludge Centrate in WWTPs. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], 2018.
- BITTELLI, M.; ANDRENELLI, M. C.; SIMONETTI, G.; PELLEGRINI, S.; ARTIOLI, G.; PICCOLI, I.; MORARI, F. Shall we abandon sedimentation methods for particle size analysis in soils? **Soil and Tillage Research**, [s. l.], v. 185, n., p. 36-46, ago., 2018, 2019.
- BITTON, G. **Wastewater microbiology**. 3. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.
- BOLZONELLA, D.; FATONE, F.; GOTTARDO, M.; FRISON, N. Nutrients recovery from anaerobic digestate of agro-waste: Techno-economic assessment of full scale applications. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 216, p. 111–119, 2018.
- BURTON, C. H. The potential contribution of separation technologies to the management of livestock manure. **Livestock Science**, [s. l.], v. 112, n. 3, p. 208–216, 2007.

CANTRELL, K. B.; DUCEY, T.; RO, K. S.; HUNT, P. G. Livestock waste-to-bioenergy generation opportunities. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 17, p. 7941–7953, 2008.

CASAGRANDE, C. G.; KUNZ, A.; DE PRÁ, M. C.; BRESSAN, C. R.; SOARES, H. M. High nitrogen removal rate using ANAMMOX process at short hydraulic retention time. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 67, n. 5, p. 968–975, 2013.

CASAGRANDE, C. G.; KUNZ, A.; SOARES, H. M.; DE PRÁ, M.; SCHIERHOLT NETO, G. Establishment of Anammox Process in Sludge Samples Collected from swine wastewater treatment system. **Engenharia Agrícola**, [s. l.], n. 31, p. 1170–1178, 2011.

CESTONARO DO AMARAL, A.; KUNZ, A.; RADIS STEINMETZ, R. L.; JUSTI, K. C. Zinc and copper distribution in swine wastewater treated by anaerobic digestion. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 141, p. 132–137, 2014.

CHAMCHOI, N.; NITISORAVUT, S.; SCHMIDT, J. E. Inactivation of ANAMMOX communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) and denitrification. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 9, p. 3331–3336, 2008.

CHEN, C.; SUN, F.; ZHANG, H.; WANG, J.; SHEN, Y.; LIANG, X. Evaluation of COD effect on anammox process and microbial communities in the anaerobic baffled reactor (ABR). **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 216, p. 571–578, 2016.

CHEN, G. Challenges in Water Resources and Wastewater Treatment. **International Journal of Water and Wastewater Treatment**, [s. l.], v. 2.2, n. 2, 2016.

CHERUBINI, E.; ZANGHELINI, G. M.; ALVARENGA, R. A. F.; FRANCO, D.; SOARES, S. R. Life cycle assessment of swine production in Brazil: A comparison of four manure management systems. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 87, n. C, p. 68–77, 2014.

CHINI, A.; KUNZ, A.; SCUSSIATO, L. A.; DIAS, J. R.; VIANCELLI, A.; VANOTTI, M. Deammonification Activity in Different Reactors Configurations Submitted To High Recirculation Rates. **IV Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management**, [s. l.], p. 2013–2016, 2015.

CHINI; KUNZ, A. ; TÁPPARO, D. ; SCUSSIATO, L. A. . Aeration strategies to improve nitrogen removal using deammonification process in EGSB reactor. **XI Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia**, [s. l.], p. 0–3, 2014. a.

CHINI; KUNZ, A.; VIANCELLI, A.; SCUSSIATO, L. A.; DIAS, J. R.; JACINTO, I. C. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 227, n. 2, 2016.

CHINI; KUNZ, A.; VIANCELLI, A.; SCUSSIATO, L. A.; DOS SANTOS, G. P. Estudo cinético de consumo de nitrogênio pelo processo anammox. **XLII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA**, [s. l.], v. a, p. 3–6, 2014. b.

COCOLO, G.; HJORTH, M.; ZAREBSKA, A.; PROVOLO, G. Effect of acidification on solid-liquid separation of pig slurry. **Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 143, p. 20–27, 2016.

CONNAN, R.; DABERT, P.; MOYA-ESPINOSA, M.; BRIDOUX, G.; BÉLINE, F.; MAGRÍ, A. Coupling of partial nitrification and anammox in two- and one-stage systems: Process operation, N<sub>2</sub>O emission and microbial community. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 203, p. 559–573, 2018.

CORADI, M. **Avaliação de estratégias de aeração e influência da matéria orgânica no desempenho do processo de desamonificação**. 2014. Tese apresentada na Universidade

Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2014.

CUI, F.; PARK, S.; MO, K.; LEE, W.; LEE, H.; KIM, M. Experimentation and mathematical models for partial nitrification in aerobic granular sludge process. **KSCE Journal of Civil Engineering**, [s. l.], v. 00, n. 0000, p. 1–7, 2016.

DAI, F.; DE PRÁ, M. C.; VANOTTI, M. B.; GILMORE, K. R.; CUMBIE, W. E. Microbial characteristics of nitrifiers, denitrifiers and anammox bacteria on different support media to treat space mission wastewater. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 232, n. June 2018, p. 943–951, 2019.

DAI, W.; XU, X.; LIU, B.; YANG, F. Toward energy-neutral wastewater treatment: A membrane combined process of anaerobic digestion and nitritation-anammox for biogas recovery and nitrogen removal. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 279, p. 725–734, 2015.

DE PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; PERONDI, T.; CHINI, A. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using the partial nitritation process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 87, n. 12, p. 1641–1647, 2012. a.

DE PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; PERONDI, T.; CHINI, A.; SOARES, H. M. Partial nitritation + ANAMMOX process for nitrogen removal from swine wastewater. **ASABE Annual International Meeting**, [s. l.], v. 7004, n. 11, 2012. b.

DE PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; SCUSSIATO, L. A.; COLDEBELLA, A.; VANOTTI, M.; SOARES, H. M. Kinetic models for nitrogen inhibition in anammox process on deammonification system. In: IV SYMPOSIUM ON AGRICULTURAL AND AGROINDUSTRIAL WASTE MANAGEMENT 2015, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro.

DE PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; SCUSSIATO, L. A.; COLDEBELLA, A.; VANOTTI, M.; SOARES, H. M. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 202, n., p. 33–41, 2016.

DE PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; SCUSSIATO, L. A.; SOARES, H. M. Influência da concentração de nitrogênio em reatores com atividade anammox durante o start-up do sistema. **III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais**, [s. l.], n. 2, p. 12–15, 2013.

DENG, L.; CHEN, Z.; YANG, H.; ZHU, J.; LIU, Y.; LONG, Y.; ZHENG, D. Biogas fermentation of swine slurry based on the separation of concentrated liquid and low content liquid. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 45, n. 0, p. 187–194, 2012.

DEZOTTI, M. **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Série Escola Piloto de Engenharia Química, 2008.

DU, R.; CAO, S.; LI, B.; ZHANG, H.; LI, X.; ZHANG, Q.; PENG, Y. Step-feeding organic carbon enhances high-strength nitrate and ammonia removal via DEAMOX process. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 360, n. 100, p. 501–510, 2019.

FENG, Y.; LU, X.; AL-HAZMI, H.; MAKINIA, J. An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 541–568, 2017.

FERNANDES, G. W.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; SZOGI, A.; VANOTTI, M.; DE MORAES FLORES, É. M.; DRESSLER, V. L. Chemical phosphorus removal: A clean strategy for piggery wastewater management in Brazil. **Environmental Technology (United**

**Kingdom**), [s. l.], v. 33, n. 14, p. 1677–1683, 2012.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M. Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 3–19, 2006.

FOWLER, D.; COYLE, M.; SKIBA, U.; SUTTON, M. A.; CAPE, J. N.; REIS, S.; SHEPPARD, L. J.; JENKINS, A.; GRIZZETTI, B.; GALLOWAY, J. N.; VITOUSEK, P.; LEACH, A.; ALEXANDER, F.; BUTTERBACH-BAHL, K.; DENTENER, F.; STEVENSON, D.; AMANN, M.; FOWLER, D.; COYLE, M.; SKIBA, U.; SUTTON, M. A.; CAPE, J. N.; REIS, S.; SHEPPARD, L. J.; JENKINS, A.; GRIZZETTI, B.; GALLOWAY, N.; VITOUSEK, P.; LEACH, A.; BOUWMAN, A. F.; BUTTERBACH-BAHL, K.; DENTENER, F.; STEVENSON, D.; AMANN, M. The global nitrogen cycle in the twenty-first century The global nitrogen cycle in the twenty- first century. **Philosophical transactions of the royal society**, [s. l.], v. 368, 2013.

GATIBONI, L. C.; SCHMITT, D. E.; CASSOL, P. C.; COMIN, J. J.; HEIDEMANN, J. C.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, R. da S. Samples disturbance overestimates phosphorus adsorption capacity in soils under long-term application of pig slurry. **Archives of Agronomy and Soil Science**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 03650340.2018.1562274, 2018.

GAZSÓ, Z.; HÁZI, F.; KENYERES, I.; VÁCI, L. Full-scale wastewater treatment plant simulation for real-time optimization. **Water Practice and Technology**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 848–856, 2017.

GIONGO, A.; BORTOLI, M.; PRÁ, M. C. De; VERUCK, M.; KUNZ, A. SWINE WASTEWATER NITROGEN REMOVAL AT DIFFERENT C / N RATIOS USING THE MODIFIED LUDZACK-ETTINGER PROCESS removal , total organic animal production wastewater The swine industry has been presented strong growth and thus is producing large volumes of effluen. **Engenharia Agrícola**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 968-977, 2018.

GUVEN, H. High-rate activated sludge processes for municipal wastewater treatment : the effect of food waste addition and hydraulic limits of the system. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], 2018.

GUVEN, H.; DERELI, R. K.; OZGUN, H.; ERSAHIN, M. E.; OZTURK, I. Towards sustainable and energy efficient municipal wastewater treatment by up-concentration of organics. **Progress in Energy and Combustion Science**, [s. l.], v. 70, p. 145–168, 2019.

H. B. MOLLER; J. D. HANSEN; C. A. G. SORENSEN. Nutrient Recovery by Solid-Liquid Separation and Methane Productivity of Solids. **Transactions of the ASABE**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 193-200, 2007.

HAUCK, M.; MAALCKE-LUESKEN, F. A.; JETTEN, M. S. M.; HUIJBREGTS, M. A. J. Removing nitrogen from wastewater with side stream anammox: What are the trade-offs between environmental impacts? **Resources, Conservation and Recycling**, [s. l.], v. 107, p. 212–219, 2016.

HJORTH, M.; CHRISTENSEN, M. L.; CHRISTENSEN, P. V. Flocculation, coagulation, and precipitation of manure affecting three separation techniques. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 18, p. 8598–8604, 2008.

HJORTH, M.; CHRISTENSEN, K. V; CHRISTENSEN, M. L.; SOMMER, S. G. Soli-liquid separation of animal slurry in theory and practice. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, [s. l.], v. 30, n. 30, p. 153–180, 2010.

ILMI, M.; KLOEKHORST, A.; WINKELMAN, J. G. M.; EUVERINK, G. J. W.; HIDAYAT, C.;

HEERES, H. J. Process intensification of catalytic liquid-liquid solid processes: Continuous biodiesel production using an immobilized lipase in a centrifugal contactor separator. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 321, p. 76–85, 2017.

JENNI, S.; VLAEMINCK, S. E.; MORGENROTH, E.; UDERT, K. M. Successful application of nitrification/anammox to wastewater with elevated organic carbon to ammonia ratios. **Water Research**, [s. l.], v. 49, p. 316–326, 2014.

JIA, L.; GUO, J. S.; FANG, F.; CHEN, Y. P.; ZHANG, Q. Effect of organic carbon on nitrogen conversion and microbial communities in the completely autotrophic nitrogen removal process. **Environmental Technology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 1141–1149, 2012.

JIANG, A.; ZHANG, T.; ZHAO, Q. B.; LI, X.; CHEN, S.; FREAR, C. S. Evaluation of an integrated ammonia stripping, recovery, and biogas scrubbing system for use with anaerobically digested dairy manure. **Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 119, p. 117–126, 2014.

JIN, R. C.; YANG, G. F.; YU, J. J.; ZHENG, P. The inhibition of the Anammox process: A review. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 197, p. 67–79, 2012.

KARIYAMA, I. D.; ZHAI, X.; WU, B. Influence of mixing on anaerobic digestion efficiency in stirred tank digesters: A review. **Water Research**, [s. l.], v. 143, p. 503–517, 2018.

KINDAICHI, T.; AWATA, T.; MUGIMOTO, Y.; RATHNAYAKE, R. M. L. D.; KASAHARA, S.; SATOH, H. Effects of organic matter in livestock manure digester liquid on microbial community structure and in situ activity of anammox granules. **Chemosphere**, [s. l.], v. 159, p. 300–307, 2016.

KOZA, C. R. **Development of solid-liquid separation technologies in bioprocessing**. 2012. [s. l.], 2012.

KUNZ, A. TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES DA PRODUÇÃO ANIMAL. **Simpósio Produção Animal e Recursos Hídricos**, [s. l.], p. 33–45, 2010.

KUNZ, A.; BORTOLI, M.; HIGARASHI, M. M. Avaliação Do Manejo De Diferentes Substratos Para Compostagem De Dejetos Líquidos De Suínos. **Acta Ambiental Catarinense**, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 7–19, 2008.

KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R. L. R. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 100, n. 22, p. 5485–5489, 2009.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R.; DAMASCENO, S.; COLDEBELA, A. Nitrogen removal from swine wastewater by combining treated effluent with raw manure. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 69, n. 6, p. 352–356, 2012.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; BORTOLI, M. Separação sólido-líquido em efluentes da suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 14, n. 11, p. 1220–1225, 2010.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; RAMME, M. A.; COLDEBELLA, A. Effect of storage time on swine manure solid separation efficiency by screening. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 100, n. 5, p. 1815–1818, 2009.

KUNZ, A.; VANOTTI, M.; SZOGI, A.; GARCIA, M. C.; NETO, F. S.; SOARES, H. M. DEVELOPMENT OF ANAMMOX PROCESS FOR ANIMAL WASTE TREATMENT: EXPERIENCES IN BRAZIL. **International Symposium on Air Quality and Waste Management for Agriculture**, [s. l.], n. 2, p. 2–5, 2007.

LACKNER, S.; GILBERT, E. M.; VLAEMINCK, S. E.; JOSS, A.; HORN, H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full-scale partial nitritation/anammox experiences - An application survey. **Water Research**, [s. l.], v. 55, n. 0, p. 292–303, 2014.

LEAL, C. D.; PEREIRA, A. D.; NUNES, F. T.; FERREIRA, L. O.; COELHO, A. C. C.; BICALHO, S. K.; MAC CONELL, E. F. A.; RIBEIRO, T. B.; DE LEMOS CHERNICHARO, C. A.; DE ARAÚJO, J. C. Anammox for nitrogen removal from anaerobically pre-treated municipal wastewater: Effect of COD/N ratios on process performance and bacterial community structure. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 211, p. 257–266, 2016.

LEI, X.; JIA, Y.; CHEN, Y.; HU, Y. Simultaneous nitrification and denitrification without nitrite accumulation by a novel isolated *Ochrobactrum anthropic* LJ81. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 272, n. September 2018, p. 442–450, 2019.

LI, B.; BOIARKINA, I.; YU, W.; HUANG, H. M.; MUNIR, T.; WANG, G. Q.; YOUNG, B. R. Phosphorous recovery through struvite crystallization: Challenges for future design. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 648, p. 1244–1256, 2019.

LI, J.; LI, J.; GAO, R.; WANG, M.; YANG, L.; WANG, X.; ZHANG, L.; PENG, Y. A critical review of one-stage anammox processes for treating industrial wastewater: Optimization strategies based on key functional microorganisms. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 265, n. May, p. 498–505, 2018. a.

LI, X.; GUO, J.; DONG, R.; AHRING, B. K.; ZHANG, W. Properties of plant nutrient: Comparison of two nutrient recovery techniques using liquid fraction of digestate from anaerobic digester treating pig manure. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 544, p. 774–781, 2016.

LI, X.; KLAUS, S.; BOTT, C.; HE, Z. Status, Challenges, and Perspectives of Mainstream Nitritation-Anammox for Wastewater Treatment. **Water Environment Research**, [s. l.], v. 90, n. 7, p. 634–649, 2018. b.

LI, Z.; MA, Y.; HIRA, D.; FUJII, T.; FURUKAWA, K. Factors affecting the treatment of reject water by the anammox process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 10, p. 5702–5708, 2011.

LICHTFOUSE, E.; HAMELIN, M.; NAVARRETE, M.; DEBAEKE, P. **Sustainable Agriculture**. 2010. ed. New York.

LOTTI, T.; VAN DER STAR, W. R. L.; KLEEREBEZEM, R.; LUBELLO, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. **Water Research**, [s. l.], v. 46, p. 2559–2569, 2012.

LUO, Z.; WANG, D.; YANG, J.; HUANG, H.; SU, G. Nitrogen removal from digested piggery wastewater using fermented superphosphate within the pretreatment stage and an MAP fertilizer pot test. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 212, p. 372–380, 2019.

MA, B.; WANG, S.; CAO, S.; MIAO, Y.; JIA, F.; DU, R.; PENG, Y. Biological nitrogen removal from sewage via anammox: Recent advances. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 200, p. 981–990, 2016.

MA, H.; NIU, Q.; ZHANG, Y.; HE, S.; LI, Y. Y. Substrate inhibition and concentration control in an UASB-Anammox process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 238, p. 263–272, 2017.

MAGRÍ, A.; GIOVANNINI, F.; CONNAN, R.; BRIDOUX, G.; BÉLINE, F. Nutrient management from biogas digester effluents: a bibliometric-based analysis of publications

and patents. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 1739–1756, 2017.

MAHMOODI-ESHKAFTAKI, M.; EBRAHIMI, R. Assess a new strategy and develop a new mixer to improve anaerobic microbial activities and clean biogas production. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 206, p. 797–807, 2019.

MANONMANI, U.; JOSEPH, K. Granulation of anammox microorganisms for autotrophic nitrogen removal from wastewater. **Environmental Chemistry Letters**, [s. l.], p. 1–21, 2018.

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X.; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 45, p. 540–555, 2015.

MARCHIORO, V.; STEINMETZ, R. L. R.; DO AMARAL, A. C.; GASPARETO, T. C.; TREICHEL, H.; KUNZ, A. Poultry Litter Solid State Anaerobic Digestion: Effect of Digestate Recirculation Intervals and Substrate/Inoculum Ratios on Process Efficiency. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, [s. l.], v. 2, n. August, p. 1–10, 2018.

MARTINS, F. M. .; SANTOS FILHO, J. I. dos;; TALAMINI, D. J. D. . Conjuntura econômica da suinocultura brasileira. **Anuário 2019 da Suinocultura Industrial**, [s. l.], v. 285, p. 74, 2018.

MASSOUD, M. A.; TARHINI, A.; NASR, J. A. Decentralized approaches to wastewater treatment and management: Applicability in developing countries. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 652–659, 2009.

MCCARTY, P. L. What is the Best Biological Process for Nitrogen Removal: When and Why? **Environmental Science & Technology**, [s. l.], p. acs.est.7b05832, 2018.

MCLEOD, J. D.; OTHMAN, M. Z.; PARTHASARATHY, R. Process intensification of anaerobic digestion: Influence on mixing and process performance. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 274, p. 533–540, 2018.

MEIXNER, K.; FUCHS, W.; VALKOVA, T.; SVARDAL, K.; LODERER, C.; NEUREITER, M.; BOCHMANN, G.; DROSG, B. Effect of precipitating agents on centrifugation and ultrafiltration performance of thin stillage digestate. **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 145, p. 154–160, 2015.

MELIA, P. M.; CUNDY, A. B.; SOHI, S. P.; HOODA, P. S.; BUSQUETS, R. Trends in the recovery of phosphorus in bioavailable forms from wastewater. **Chemosphere**, [s. l.], v. 186, p. 381–395, 2017.

MIAO, Y.; PENG, Y.; ZHANG, L.; LI, B.; LI, X.; WU, L.; WANG, S. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 334, n., p. 664-672, Oct., 2018.

MIRGHORAYSHI, M.; ZINATIZADEH, A. A.; VAN LOOSDRECHT, M. Evaluating the process performance and potential of a high-rate single airlift bioreactor for simultaneous carbon and nitrogen removal through coupling different pathways from a nitrogen-rich wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], 2018.

MITO, J. Y. de L.; KERKHOFF, S.; SILVA, J. L. G.; VENDRAME, M. G.; STEINMETZ, R. L. R.; KUNZ, A. **Metodologia para estimar o potencial de biogás e biometano a partir de plantéis suínos e bovinos no Brasil** 2018. p. 56.

MOLINUEVO, B.; GARCÍA, M. C.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Anammox for

ammonia removal from pig manure effluents: Effect of organic matter content on process performance. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 100, n. 7, p. 2171–2175, 2009.

MØLLER, H. B.; SOMMER, S. G.; AHRING, B. K. Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 85, n. 2, p. 189–196, 2002.

NAKAMURA, K.; NAKAMURA, J.; MATSUMOTO, K. Filtration and backwashing behaviors of the deep bed filtration using long length poly-propylene fiber filter media. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, [s. l.], v. 94, p. 31–36, 2018.

PABÓN-PEREIRA, C. P.; DE VRIES, J. W.; SLINGERLAND, M. A.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B. Impact of crop-manure ratios on energy production and fertilizing characteristics of liquid and solid digestate during codigestion. **Environmental Technology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 35, n. 19, p. 2427–2434, 2014.

PAPPU, A. R.; BHATTACHARJEE, A. S.; DASGUPTA, S.; GOEL, R. Nitrogen Cycle in Engineered and Natural Ecosystems—Past and Current. **Current Pollution Reports**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 120–140, 2017.

PEETERS, S. H.; VAN NIFTRIK, L. Trending topics and open questions in anaerobic ammonium oxidation. **Current Opinion in Chemical Biology**, [s. l.], v. 49, p. 45–52, 2019.

PENG, L.; DAI, H.; WU, Y.; PENG, Y.; LU, X. A comprehensive review of phosphorus recovery from wastewater by crystallization processes. **Chemosphere**, [s. l.], v. 197, p. 768–781, 2018. a.

PENG, W.; PIVATO, A.; LAVAGNOLO, M. C.; RAGA, R. Digestate application in landfill bioreactors to remove nitrogen of old landfill leachate. **Waste Management**, [s. l.], 2018. b.

PEPÈ SCIARRIA, T.; VACCA, G.; TAMBONE, F.; TROMBINO, L.; ADANI, F. **Nutrient recovery and energy production from digestate using microbial electrochemical technologies (METs)**. [s.l.] : Elsevier Ltd, 2019. v. 208. 2019.

PERAZZOLI, S.; BRUCHEZ, B. M.; MICHELON, W.; STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; NUNES, E. O.; DA SILVA, M. L. B. Optimizing biomethane production from anaerobic degradation of *Scenedesmus* spp. biomass harvested from algae-based swine digestate treatment. **International Biodeterioration and Biodegradation**, [s. l.], v. 109, p. 23–28, 2016.

PICHEL, A.; MORENO, R.; FIGUEROA, M.; LUIS CAMPOS, J.; MÉNDEZ, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; VAL DEL RÍO, Á. How to cope with NOB activity and pig manure inhibition in a partial nitrification-anammox process? **Separation and Purification Technology**, [s. l.], 2018.

POPOVIC, O.; GIOELLI, F.; DINUCCIO, E.; ROLLÈ, L.; BALSARI, P. Centrifugation of digestate: The effect of chitosan on separation efficiency. **Sustainability (Switzerland)**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 1–9, 2017.

PUYOL, D.; CARVAJAL-ARROYO, J. M.; SIERRA-ALVAREZ, R.; FIELD, J. A. Nitrite (not free nitrous acid) is the main inhibitor of the anammox process at common pH conditions. **Biotechnology Letters**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 547–551, 2014.

RIOS-DEL TORO, E. E.; CERVANTES, F. J. Coupling between anammox and autotrophic denitrification for simultaneous removal of ammonium and sulfide by enriched marine sediments. **Biodegradation**, [s. l.], v. 27, n. 2–3, p. 107–118, 2016.

RISBERG, K.; CEDERLUND, H.; PELL, M.; ARTHURSON, V.; SCHNÜRER, A. Comparative

characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. **Waste Management**, [s. l.], v. 61, p. 529–538, 2017.

RUSCALLEDA, M.; LÓPEZ, H.; GANIGUÉ, R.; PUIG, S.; BALAGUER, M. D.; COLPRIM, J. Heterotrophic denitrification on granular anammox SBR treating urban landfill leachate. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 58, n. 9, p. 1749–1755, 2008.

SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; BELTRÁN-HEREDIA, J.; SOLERA-HERNÁNDEZ, C. Surface water and wastewater treatment using a new tannin-based coagulant. Pilot plant trials. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 91, n. 10, p. 2051–2058, 2010.

SANCHO, I.; LOPEZ-PALAU, S.; ARESACOCHAGA, N.; CORTINA, J. L. New concepts on carbon redirection in wastewater treatment plants: A review. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 647, p. 1373–1384, 2019.

SARDÁ, L. G.; HIGARASHI, M. M.; NICOLOSO, R. da S.; DE OLIVEIRA, P. A. V.; FALKOSKI, C.; RIBEIRO, S. M. S.; COLDEBELLA, A. Methane emission factor of open deposits used to store swine slurry in Southern Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 657–663, 2018.

SCAGLIONE, D.; FICARA, E.; CORBELLINI, V.; TORNOTTI, G.; TELI, A.; CANZIANI, R.; MALPEI, F. Autotrophic nitrogen removal by a two-step SBR process applied to mixed agro-digestate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 176, p. 98–105, 2015.

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**, [s. l.], v. 74, p. 166–179, 2015.

SCHEEREN, M. B.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DRESSLER, V. L. The ANAMMOX process as an alternative for treatment of water with high containing nitrogen | O processo ANAMMOX como alternativa para tratamento de águas residuárias, contendo alta concentração de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 1289–1297, 2011.

SCHIERHOLT NETO, G. F.; KUNZ, A.; VANOTTI, M.; SOARES, H. M.; MATTEI, R. Aclimação E Acompanhamento Da Atividade De Lodos De Efluentes De Suinocultura Para Remoção De Nitrogênio Pelo Processo De Oxidação Anaeróbia De Amônia ( Anammox ). **30th Congreso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental**, [s. l.], n. 2, p. 0–7, 2006.

SCUSSIATO, L. A.; KUNZ, A.; AMARAL, A. C.; CHINI, A.; DE PRÁ, M. C.; JACINTO, I. C. Nitrogen removal by deammonification process using egsb reactor. **IV Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management**, [s. l.], p. 5–8, 2015.

SHAH, F. A.; MAHMOOD, Q.; RASHID, N.; PERVEZ, A.; RAJA, I. A.; SHAH, M. M. Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 42, p. 627–642, 2015.

SHI, L.; SIMPLICIO, W. S.; WU, G.; HU, Z.; HU, H.; ZHAN, X. Nutrient Recovery from Digestate of Anaerobic Digestion of Livestock Manure: a Review. **Current Pollution Reports**, [s. l.], 2018.

SHI, L.; XIE, S.; HU, Z.; WU, G.; MORRISON, L.; CROOT, P.; HU, H.; ZHAN, X. Nutrient recovery from pig manure digestate using electro dialysis reversal: Membrane fouling and feasibility of long-term operation. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 573, n. August 2018, p. 560–569, 2019.

SHIN, D. Y.; CHO, H. U.; UTOMO, J. C.; CHOI, Y. N.; XU, X.; PARK, J. M. Biodiesel production from *Scenedesmus bijuga* grown in anaerobically digested food wastewater effluent. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 184, p. 215–221, 2015.

SIDDIQUE, M. N. I.; WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 194, p. 359–371, 2018.

SLIEKERS, A. O.; DERWORT, N.; CAMPOS GOMEZ, J. L.; STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. **Water Research**, [s. l.], v. 36, n. 10, p. 2475–2482, 2002.

SPERLICH, A.; WARSCHKE, D.; WEGMANN, C.; ERNST, M.; JEKEL, M. Treatment of membrane concentrates: Phosphate removal and reduction of scaling potential. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 61, n. 2, p. 301–306, 2010.

STAZI, V.; TOMEI, M. C. Enhancing anaerobic treatment of domestic wastewater: State of the art, innovative technologies and future perspectives. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 635, p. 78–91, 2018.

STEIN, L. y.; KLOTZ, M. G. The nitrogen cycle. **Current Biology**, [s. l.], v. 26, p. 83–101, 2016.

STEINMETZ, R. L. R. ; KUNZ, A. ; RAMME, M. ; DRESSLER, V. L. ;; FLORES, É. M. de M. Separação sólido-líquido em efluentes da suinocultura com uso de extratos tanantes modificados e aplicação de modelos de. **Revista AIDIS**, [s. l.], v. 1, n. 2, 2007.

STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; DA SILVA, M. L. B.; KUNZ, A.; DO AMARAL, A. C.; TÁPPARO, D. C.; SOARES, H. M. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 219, p. 21–28, 2016.

STÜEKEN, E. E.; KIPP, M. A.; KOEHLER, M. C.; BUICK, R. The evolution of Earth's biogeochemical nitrogen cycle. **Earth-Science Reviews**, [s. l.], v. 160, p. 220–239, 2016.

SUZIN, L.; ANTES, F. G.; BEDENDO, G. C.; BORTOLI, M.; KUNZ, A. Chemical Removal of Phosphorus from Swine Effluent : the Impact of Previous Effluent Treatment Technologies on Process Efficiency. **Water, Air & Soil Pollution**, [s. l.], p. 229–341, 2018.

SVEHLA, P.; RADECHOVSKA, H.; PACEK, L.; MICHAL, P.; HANC, A.; TLUSTOS, P. Nitrification in a completely stirred tank reactor treating the liquid phase of digestate: The way towards rational use of nitrogen. **Waste Management**, [s. l.], v. 64, p. 96–106, 2017.

TAKEKAWA, M.; PARK, G.; SODA, S.; IKE, M. Simultaneous anammox and denitrification (SAD) process in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 174, p. 159–166, 2014.

TAMBONE, F.; ORZI, V.; D'IMPORZANO, G.; ADANI, F. Solid and liquid fractionation of digestate: Mass balance, chemical characterization, and agronomic and environmental value. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 243, n. July, p. 1251–1256, 2017.

TAMPIO, E.; SALO, T.; RINTALA, J. Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 169, p. 293–302, 2016.

TANG, C. J.; ZHENG, P.; WANG, C. H.; MAHMOOD, Q. Suppression of anaerobic ammonium oxidizers under high organic content in high-rate Anammox UASB reactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 101, n. 6, p. 1762–1768, 2010.

TANG, C. J.; ZHENG, P.; WANG, C. H.; MAHMOOD, Q.; ZHANG, J. Q.; CHEN, X. G.; ZHANG, L.; CHEN, J. W. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. **Water Research**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 135–144, 2011.

TANG, Y.; ALAM, M. S.; KONHAUSER, K. O.; ALESSI, D. S.; XU, S.; TIAN, W.; LIU, Y. Influence of pyrolysis temperature on production of digested sludge biochar and its application for ammonium removal from municipal wastewater. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 209, p. 927–936, 2019. a.

TANG, Y.; YU, G.; ZHANG, X.; WANG, Q.; TIAN, D.; TIAN, J.; NIU, S.; GE, J. Environmental variables better explain changes in potential nitrification and denitrification activities than microbial properties in fertilized forest soils. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 647, p. 653–662, 2019. b.

TÁPPARO, D. C.; VIANCELLI, A.; AMARAL, A. C. Do; FONGARO, G.; STEINMETZ, R. L. R.; MAGRI, M. E.; BARARDI, C. R. M.; KUNZ, A. Sanitary effectiveness and biogas yield by anaerobic co-digestion of swine carcasses and manure. **Environmental Technology**, [s. l.], v. 3330, p. 1–9, 2018.

TOMAR, S.; GUPTA, S. K.; MISHRA, B. K. A novel strategy for simultaneous removal of nitrogen and organic matter using anaerobic granular sludge in anammox hybrid reactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 197, p. 171–177, 2015.

VAN DE GRAAF, A. A. .; MULDER, A.; BRUIJN, P. D. E.; JETTEN, M. S. M.; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Anaerobic Oxidation of Ammonium Is a Biologically Mediated Process Downloaded from <http://aem.asm.org/> on December 23 , 2014 by Imperial College London Library. [s. l.], v. 61, n. 4, p. 1246–1251, 1995.

VAN DER STAR, W. R. L. .; ABMA, W. R. .; KARTAL, B.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. APPLICATION OF THE ANAMMOX PROCESS. In: washington.

VAN KESSEL, M. A.; STULTIENS, K.; SLEGGERS, M. F.; GUERRERO CRUZ, S.; JETTEN, M. S.; KARTAL, B.; OP DEN CAMP, H. J. Current perspectives on the application of N-damo and anammox in wastewater treatment. **Current Opinion in Biotechnology**, [s. l.], v. 50, p. 222–227, 2018.

VENTURIN, B.; FRUMI CAMARGO, A.; SCAPINI, T.; MULINARI, J.; BONATTO, C.; BAZOTI, S.; PEREIRA SIQUEIRA, D.; MARIA COLLA, L.; ALVES, S. L.; PAULO BENDER, J.; LUÍS RADIS STEINMETZ, R.; KUNZ, A.; FONGARO, G.; TREICHEL, H. Effect of pretreatments on corn stalk chemical properties for biogas production purposes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 266, p. 116–124, 2018.

VIANCELLI, A.; KUNZ, A.; ESTEVES, P. A.; BAUERMANN, F. V.; FURUKAWA, K.; FUJII, T.; ANTÔNIO, R. V.; VANOTTI, M. Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with ANAMMOX activity inoculated with swine sludge. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 1035–1041, 2011.

VIANCELLI, A.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; KICH, J. D.; SOUZA, C. K.; CANAL, C. W.; COLDEBELLA, A.; ESTEVES, P. A.; BARARDI, C. R. M. Performance of two swine manure treatment systems on chemical composition and on the reduction of pathogens. **Chemosphere**, [s. l.], v. 90, n. 4, p. 1539–1544, 2013.

VIANCELLI, A.; PRA, M. C.; SCUSSIATO, L. A.; CANTÃO, M.; IBELLI, A. M. G.; KUNZ, A. Preservation and reactivation of *Candidatus Jettenia asiatica* and *Anammoxoglobus propionicus* using different preservative agents. **Chemosphere**, [s. l.], v. 186, p. 453–458, 2017.

VIVAN, M.; KUNZ, A.; STOLBERG, J.; PERDOMO, C.; TECHIO, V. H. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 320–325, 2010.

WAKI, M.; ABE, K.; YASUDA, T.; FUKUMOTO, Y. Tolerance of anammox reactor packed with zeolite to partial supply of nitrite or ammonium using purified livestock wastewater. **Environmental Technology**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–8, 2018.

WANG, J.; TONG, X.; WANG, S. Zirconium-Modified Activated Sludge as a Low-Cost Adsorbent for Phosphate Removal in Aqueous Solution. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 229, n. 2, 2018.

WANG, X.; YANG, R.; GUO, Y.; ZHANG, Z.; KAO, C. M.; CHEN, S. Investigation of COD and COD/N ratio for the dominance of anammox pathway for nitrogen removal via isotope labelling technique and the relevant bacteria. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 366, p. 606–614, 2019.

WILSON, K. .; WALKER, J. . **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**. 7. ed. New York: Cambridge University, 2010.

WINKLER, M. K. H.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures. **Water Research**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 136–144, 2012.

WU, D.; LI, L.; ZHAO, X.; PENG, Y.; YANG, P.; PENG, X. Anaerobic digestion: A review on process monitoring. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 103, n. July 2018, p. 1–12, 2019.

WU, J. Comparison of control strategies for single-stage partial nitrification-anammox granular sludge reactor for mainstream sewage treatment—a model-based evaluation. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 24, n. 33, p. 25839–25848, 2017.

YAMAMOTO, T.; WAKAMATSU, S.; QIAO, S.; HIRA, D.; FUJII, T.; FURUKAWA, K. Partial nitritation and anammox of a livestock manure digester liquor and analysis of its microbial community. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 3, p. 2342–2347, 2011.

YAN, L.; LIU, S.; LIU, Q.; ZHANG, M.; LIU, Y.; WEN, Y.; CHEN, Z.; ZHANG, Y.; YANG, Q. Improved performance of simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in an oxygen-limited SBR by alternating the DO. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 275, n. October 2018, p. 153–162, 2019.

YANG, Y.; ZHANG, L.; CHENG, J.; ZHANG, S.; LI, X.; PENG, Y. Microbial community evolution in partial nitritation/anammox process: From sidestream to mainstream. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 251, p. 327–333, 2018.

YANG, Z.; NIE, C.; HOU, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, S.; YU, Z.; PEI, H. Coupling a photosynthetic microbial fuel cell (PMFC) with photobioreactors (PBRs) for pollutant removal and bioenergy recovery from anaerobically digested effluent. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 359, p. 402–408, 2019.

YUAN, C.; LU, C.; MA, Y.; WANG, Y.; XIE, Y.; ZHANG, K.; WANG, Y.; LV, L.; FENG, X.; ZHU, T. A novel method to treat old landfill leachate combining multi-stage biological contact oxidation (MBCO) and single-stage autotrophic nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP). **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], 2018.

ZAREBSKA, A.; KARRING, H.; CHRISTENSEN, M. L.; HJORTH, M.; CHRISTENSEN, K. V.; NORDDAHL, B. Ammonia Recovery from Pig Slurry Using a Membrane Contactor—Influence of Slurry Pretreatment. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 228, n. 4, 2017.

ZHANG, J.; ZHANG, L.; MIAO, Y.; SUN, Y.; LI, X.; ZHANG, Q.; PENG, Y. Feasibility of in situ enriching anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR) for enhancing nitrogen removal of real domestic wastewater. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 352, p. 847–854, 2018. a.

ZHANG, L.; NARITA, Y.; GAO, L.; ALI, M.; OSHIKI, M.; OKABE, S. Maximum specific growth rate of anammox bacteria revisited. **Water Research**, [s. l.], v. 116, p. 296–303, 2017.

ZHANG, X.; JIANG, X.; HAO, Z.; QU, K. Advances in online methods for monitoring microbial growth. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 126, n. 1, p. 433–447, 2019. a.

ZHANG, X.; LIN, H.; HU, B. The effects of electrocoagulation on phosphorus removal and particle settling capability in swine manure. **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 200, p. 112–119, 2018.

ZHANG, Y.; MA, H.; CHEN, R.; NIU, Q.; LI, Y. Y. Stoichiometric variation and loading capacity of a high-loading anammox attached film expanded bed (AAEEB) reactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 253, p. 130–140, 2018. b.

ZHANG, Y.; WANG, Y.; YAN, Y.; HAN, H.; WU, M. Characterization of CANON reactor performance and microbial community shifts with elevated COD / N ratios under a continuous aeration mode. [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–13, 2019. b.

ZHANG, Z.; LI, Y.; CHEN, S.; WANG, S.; BAO, X. Simultaneous nitrogen and carbon removal from swine digester liquor by the Canon process and denitrification. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 114, p. 84–89, 2012.

ZHOU, X.; ZHANG, Z.; ZHANG, X.; LIU, Y. A novel single-stage process integrating simultaneous COD oxidation, partial nitritation-denitritation and anammox (SCONDA) for treating ammonia-rich organic wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 254, n. January, p. 50–55, 2018.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, Á. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 29–42, 2016.

## 6 ARTIGO 1: VIABILIDADE DOS PROCESSOS DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA REMOÇÃO DE CARBONO E SÓLIDOS COMO TRATAMENTO DE DIGESTATO<sup>2</sup>

### RESUMO

A digestão anaeróbia é uma tecnologia que converte matéria orgânica em energia. No entanto, no caso do CSTR, é obtido um digestato com alta concentração de sólidos, carbono não digerido e altas concentrações de nitrogênio, o que pode limitar a aplicação direta ao solo. Portanto, um tratamento adicional do digestato ainda é necessário. O nitrogênio pode ser removido do digestato via processo de desamonificação, mas, para isso, é necessário um pré-tratamento para reduzir sólidos e carbono. Neste estudo, foi investigada a separação sólido-líquido de digestato de biodigestor de lodo suínola. Os seguintes processos foram avaliados: sedimentação, centrifugação e floculação química. O desempenho dos processos foi avaliado por meio da concentração dos seguintes parâmetros: carbono, fósforo, nitrogênio total kjeldahl, nitrogênio amoniacal total, sólidos totais, sólidos fixos e sólidos voláteis. Para otimização dos testes de centrifugação e floculação química, foi utilizado delineamento fatorial. A presente pesquisa mostra a possibilidade de aplicar diferentes processos de SSL em digestato, como um pré-tratamento; para a redução de sólidos e carbono, uma remoção acima de 74% de fósforo foi alcançada (acima de 74%). As maiores eficiências foram obtidas na remoção, usando centrifugação (90% e 83% para o C e ST, respectivamente). Portanto, esse processo poderia ser considerado o mais apropriado para ser utilizado como pré-tratamento de digestato, visando posterior remoção de nitrogênio da fração líquida por desamonificação.

**Palavras-chave:** Centrifugação. Floculação química. Sedimentação. Dejeito suíno. Tratamento de efluentes.

#### Destaques:

- Os processos de SSL aplicados ao digestato permitiram a redução de carbono, sólidos e fósforo.
- Modelo matemáticos são úteis para descrever o pré-tratamento por floculação química.
- Centrifugação permitiu atingir alta eficiência na remoção de carbono e sólidos.
- A remoção de fósforo do digestato por centrifugação foi acima de 95%.
- 90% do carbono e 86% de ST foi reduzido do digestato.

---

<sup>2</sup> Adaptado de: Chini, A., Hollas, C. E., Bolsan, A. C., Mores, R., Antes, F.G., Treichel, H., Kunz, A. **Feasibility of solid-liquid separation processes for carbon and solids removal as swine manure digestate treatment.** Submetido à revista Environmental technology (artigo em revisão).

## 6.1 Introdução

A digestão anaeróbia (DA) é uma tecnologia que recentemente ganhou destaque, devido à possibilidade de converter matéria orgânica em energia, reduzindo emissões gasosas e substituindo o uso de combustíveis fósseis. Além disso, a fração obtida (digestato) é um resíduo rico em nutrientes [1,2]. Esse progresso é justificado devido à versatilidade do material que será digerido no processo de DA. Diferentes tipos de materiais orgânicos são adequados, como resíduo pecuário, biomassa lignocelulósica (resíduos de culturas), resíduos alimentares, resíduos de lodos ativados, resíduos urbanos, resíduos de frutas e vegetais e resíduos industriais [3,4].

A composição do digestato varia de acordo com o resíduo usado no digestor e o tipo do reator [5,6]. O tipo mais comum de reator para DA é um reator de mistura completa (CSTR), que é adequado para digerir uma alta concentração de sólidos [7]. Em geral, a DA gera um digestato rico em nutrientes, alto teor de amônio, sólidos [4,8] e outros compostos [9,10]. Essas características conferem ao digestato um alto potencial agrônômico, tornando possível seu uso como fertilizante em terras agricultáveis. No entanto, apesar das vantagens da DA, o aumento da produção de biogás em algumas áreas pode gerar uma quantidade maior de digestato do que os requerimentos de fertilização, devido à sobrecarga de nutrientes no solo [1]. O transporte do digestato para outras regiões, com deficiência em nutrientes, também não é atraente devido aos custos inerentes [11].

Os custos de transporte poderiam ser reduzidos pela separação em uma fração sólida e outra líquida do digestato [8,12], de modo a reduzir o volume para ser transportado de uma fazenda para outra. Para esse fim, existem diferentes processos de separação sólido-líquido (SSL), por exemplo, separadores mecânicos, sedimentação, centrifugação, osmose reversa, eletrocoagulação e floculação química [4,13,14, 15].

O custo total dos processos de SSL é crucial para definir o tipo de tratamento a ser utilizado. Sedimentação, floculação química, separação mecânica e centrifugação são processos simples e econômicos [12,16], enquanto a evaporação, ultrafiltração e osmose inversa são complexos e mais caros [14,15]. Esses dispositivos têm eficiências diferentes para separar a fração sólida da fração líquida [8,17] e são vários os estudos que tratam sobre o seu uso em sistemas de tratamento de águas residuais [10,18,19].

A fração sólida gerada nos processos SSL ganhou mais interesse em pesquisa e desenvolvimento, assim, o destino deste já está bem definido: compostagem ou aplicação direta como fertilizante orgânico [20,21], produção de biochar [22], a produção de biocombustíveis [23] e outras rotas para valorização da fração sólida [12,16]. A fração líquida pode ser usada para irrigar os campos ou também ser pós-tratada, de acordo com suas características [24,25] que, em geral, contêm baixo potencial de biogás, mas com alta concentração de nitrogênio total (NT) e nitrogênio amoniacal [10,26]. Sabendo que a alta concentração de

nutrientes pode limitar a aplicação diretamente ao solo, devido à possível contaminação do solo e água [23], é necessário implementar um sistema de tratamento para reduzir o potencial poluente desses resíduos.

Uma das possibilidades de remover o nitrogênio da fração líquida é o processo de desamonificação [27-29], o qual está sendo estudado como uma tecnologia alternativa para remoção de nitrogênio. A aplicação desse tratamento ao digestato, após um processo de SSL, parece ser uma alternativa promissora [30,31]. No entanto, há poucos estudos que investigam qual o melhor processo SSL empregado no tratamento de digestatos, provindo de reator CSTR [4,32,33], a fim de possibilitar a remoção de nitrogênio da fração líquida. Da mesma forma, uma comparação dos processos de SSL, aplicados a um digestato com características semelhantes, não foi estudada.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os seguintes processos de SSL aplicados a digestato de CSTR de lodo: sedimentação, centrifugação e floculação química. A otimização das condições utilizadas para cada processo foi realizada, buscando-se uma fração líquida com baixas concentrações de sólidos totais e carbono, que pudesse ser posteriormente submetida a um processo de remoção de nitrogênio.

## **6.2 Material e métodos**

### **6.2.1 Coleta do digestato**

O digestato bruto foi amostrado em um reator CSTR, que opera em condições mesofílicas (37° C), tratando resíduos de lodo e sólidos da peneira de um sistema de tratamento de suínos em uma granja em Videira, Santa Catarina, Brasil (27°02'38.8"S 51°05'35.7"W). O reator CSTR tem uma vazão de alimentação de 21 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> e tempo de retenção hidráulica (TRH) de 32 d.

### **6.2.2 Procedimento experimental**

Os três processos de SSL testados foram: sedimentação, centrifugação e floculação química. Os experimentos foram conduzidos em laboratório na Embrapa Suínos e Aves, Santa Catarina, Brasil.

Os testes de sedimentação foram conduzidos em um cone sedimentador (1L) (em triplicata); os dados foram analisados em intervalos de 30 minutos, durante 3 horas. Os testes de centrifugação foram realizados em uma centrífuga (modelo Sigma 4-16K), usando tubos de 250 mL. Para floculação química, foi utilizada, como coagulante, uma solução aquosa a 10% (v v<sup>-1</sup>) de polímero orgânico polifenólico (Veta Organic®, Brazilian Acoustic Extracts, Brasil), comercialmente disponível na forma líquida, que contém 30% de ácido tâ-

nico (flavan 3, 4-diol). A diluição do coagulante foi feita em água, sob agitação vigorosa, durante 15 minutos. Como auxiliar de coagulação, empregou-se 0,01% (w v<sup>-1</sup>) de solução aquosa de poliacrilamida (Ativador Q®, Brazilian Acoustic Extracts, Brasil), disponível comercialmente na forma granular. Essas soluções foram preparadas antes do uso, evitando, assim, a sua degradação e perda de eficiência nos diferentes testes, os quais foram realizados utilizando o aparelho teste de jarro (modelo JT102 / 3, Milão, Colombo, Brasil), com um litro de digestato realizado em triplicata.

### 6.2.3 Design experimental

Para a avaliação da separação do sólido da fração líquida, os modelos experimentais aplicados foram diferentes para cada processo, a fim de se determinar a melhor condição de cada um. Assim, para a sedimentação, foi avaliado o volume de sedimentado durante o tempo (3h). Para a centrifugação, foi utilizado o delineamento composto central rotacional (DCCR) 2<sup>2</sup>; foi selecionado para a avaliação das variáveis do tempo de centrifugação ( $C_{time}$ ) (5,9; 10; 20; 30 e 34 minutos) e força gravitacional ( $g_{force}$ ) (80; 250; 1400; 2900 e 3800 g). O ponto central da centrifugação foi baseado em dados prévios de Popovic et al. (2017) [34].

Na floculação química, um delineamento composto central (DCC) 2<sup>2</sup> foi selecionado para entender como as variáveis independentes, volume de tanino (TA) (25; 50 e 75 ml L<sup>-1</sup>) e os volumes de poliacrilamida (PAM) (5; 10 e 15 ml L<sup>-1</sup>), influenciavam na separação por floculação química do digestato. A quantidade inicial de polímero foi baseada no trabalho de Van nieuwenhuijzen e Van der Graaf (2012) [35].

Os dados experimentais foram estatisticamente avaliados pelo programa *StatSoft Statistica 5.0*, com um nível de confiança de 95%. A significância estatística dos modelos foi justificada por análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial com um nível de significância de 95%; a veracidade de modelo polinomial foi expressa pela determinação do coeficiente  $r^2$ .

### 6.2.4 Métodos analíticos

O desempenho dos processos foi avaliado por meio das respostas dos seguintes parâmetros físico-químicos: carbono total (C), fósforo (P), nitrogênio total kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal total (NAT), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), sólidos fixos (SF) e pH.

O carbono foi medido em um analisador elementar CNHS (modelo flash 2000, Thermo Fisher Scientific), seguindo as recomendações do fabricante. O fósforo foi determinado pelo método espectrofotométrico de molibdato, utilizando um espectrofotômetro Cary

50 (Agilent, USA). NTK foi determinado pelo método kjeldahl (digestor e unidade de destilação, Foss Kjelttec 8100), enquanto NAT foi medido por titulação. Para as determinações de ST, SV e SF, as amostras foram secas a 105° C e calcinadas a 550° C. O pH foi medido pela sonda Hanna (modelo HI 98140). Todos esses parâmetros foram quantificados de acordo com Rice et al. (2017) [36]. Todas as análises químicas foram realizadas em triplicata.

A percentagem de remoção de cada parâmetro químico foi calculada com base na equação 1.

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Na qual  $C_0$  é a concentração inicial e  $C_t$  é a concentração final dos constituintes.

## 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1 Caracterização do digestato

As características físico-químicas do digestato foram (média  $\pm$  desvio padrão): ST  $21,8 \pm 0,33 \text{ g L}^{-1}$ , SV  $13,5 \pm 0,19 \text{ g L}^{-1}$ ,  $C_{\text{total}}$   $6,7 \pm 0,11 \text{ g L}^{-1}$ , P  $0,97 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1}$ , NAT  $2,0 \pm 0,03 \text{ g L}^{-1}$ , NTK  $2,6 \pm 0,01 \text{ g L}^{-1}$ , alcalinidade  $9,57 \text{ g CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  e pH de  $7,79 \pm 0,01$ . O digestato utilizado no presente estudo mostrou características típicas de resíduos do processo de digestão anaeróbia em um reator CSTR [7,9,37].

É conhecida a dificuldade de estabelecer uma comparação entre os digestatos de diferentes sistemas CSTR, devido à alta variabilidade das características dos resíduos iniciais e parâmetros operacionais diferentes, como TRH, temperatura e carga orgânica volumétrica [3,4]. O digestato geralmente é abundante em NAT e NTK, variando de 0,14 a  $3,5 \text{ g L}^{-1}$ , fósforo de 0,007 a  $0,4 \text{ g L}^{-1}$  e demanda química de oxigênio (DQO) de 0,2 a  $6,9 \text{ g L}^{-1}$  [37–40]. O digestato também é ligeiramente alcalino ou neutro, com um valor de pH no intervalo de 6,7 a 9,2 [10,41].

De acordo com as características apresentadas acima, é possível observar a presença de alta concentração de nutrientes no digestato. Considerando que seu uso como fertilizante não é economicamente viável, é necessário estabelecer um tratamento adequado a ele [42]. No entanto, é difícil determinar um tratamento sem estabelecer um pré-tratamento eficiente para o digestato, devido ao elevado teor de sólidos e matéria orgânica.

### 6.3.2 SSL por sedimentação

O processo de sedimentação baseia-se na diferença de densidade entre partículas e líquido. Portanto, dentre os pré-tratamentos de águas residuais disponíveis, este é amplamente utilizado, devido ao seu custo relativamente baixo e facilidade de operação [43].

Sedimentação como uma estratégia de pré-tratamento de digestato mostrou uma baixa velocidade de sedimentação das partículas sólidas, com média de  $0,02 \text{ m h}^{-1}$ , com tendência a estabilizar a sedimentação após 50 - 60 minutos de experimento. Isso ocorre porque o processo apresenta eficiência superior para remover partículas discretas, desse modo, o digestato continha menos partículas [43,44].

Para esse processo de SSL, a remoção de sólidos foi em média de 46%, 50% e 41% para ST, SF e SV, respectivamente. Para os parâmetros carbono e fósforo, a eficiência média de remoção foi de 45% e 71%, respectivamente. Além disso, NTK e NAT tiveram uma eficiência de remoção de 13% e 8,5%, respectivamente.

Diante do custo relativamente baixo da sedimentação, a aplicabilidade desse processo para digestato poderia ser interessante. No entanto, considerando a alta geração de lodo ( $396 \text{ L m}^{-3}$ ), sua aplicabilidade é questionável, visto que é um volume considerável de lodo para dar destino. Isso se torna um problema, uma vez que, quando se exige transporte, é um desafio, considerando o líquido e os contaminantes ainda incorporados a ele.

### 6.3.3 SSL por centrifugação

Centrifugação é uma tecnologia que emprega equipamentos com custo relativamente alto [34]. No entanto, a eficiência de separação geralmente é elevada e o volume de lodo gerado é menor do que os outros pré-tratamentos, devido à compactação que ocorre nesse processo. A matriz de planejamento DCCR  $2^2$  para os testes de centrifugação, executados neste estudo, é apresentada na tabela 1, com as respostas experimentais das variáveis dependentes: C, P, NTK, NAT, ST, SV, SF e pH. É possível observar que a eficiência de remoção das formas de nitrogênio (NAT e NTK) foi diferente. A melhor condição para remoção de NAT (26% de eficiência no teste 9) estava no ponto axial, no qual a variável força chegou a 3800 g; já a melhor condição de remoção de NTK (36%), foi com a força gravitacional de 1400 g (teste 10).

A eficiência total de remoção de sólidos foi entre 60% e 83%. A eficiência máxima foi obtida aos 20 minutos com uma força gravitacional de 3800 g (teste 9). A remoção da fração sólida, antes processo de tratamento biológico, é uma questão importante, uma vez que pode comprometer o sistema de remoção de nitrogênio. Além disso, a descarga de sólidos no reator pode causar falha no processo de remoção de nitrogênio, devido ao baixo tempo de retenção de sólidos [28].

A eficiência de remoção de carbono para todos os testes de centrifugação foi acima de 56%, atingindo 90% com uma força gravitacional de 3800 g aplicada aos 20 minutos (teste 9). A remoção de carbono é importante para o tratamento por desamonificação, uma vez que as bactérias desnitrificantes heterotróficas podem suprimir as bactérias anammox, levando à falha do processo [28,45]. Há relatos de que a atividade anammox foi severamente inibida e até deteriorada com carbono acima de 500 mg L<sup>-1</sup> ou relações C/ N acima de 2 [45]. Shan et al. (2018) [46] também relataram efeitos inibitórios similares na atividade anammox, a qual foi significativamente diminuída. Assim, a redução de sólidos e de carbono na fração líquida, obtida na centrifugação, neste trabalho, é um resultado promissor que permite sugerir o tratamento por desamonificação para a remoção de nitrogênio [27].

A remoção de fósforo variou de 83 a 95%, independentemente da condição avaliada. Essa alta eficiência provavelmente ocorre por meio da adsorção do fósforo às partículas sólidas [47], principalmente, via processo de remoção físico-química de precipitação de fósforo. O cálcio pode precipitar como o fosfato de cálcio ou Hidroxiapatita, devido à alta concentração de íons de cálcio no lodo e pH alcalino [48]. Além disso, a cristalização do fósforo em estruvita também pode ocorrer devido à presença de ânions de Mg<sup>2+</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, presente nas águas residuais [49,50].

**Tabela 1** Matriz do delineamento DCCR 2<sup>2</sup> (valores codificados e reais), com as respostas relacionadas a força gravitacional ( $g_{force}$ ) e tempo ( $C_{time}$ ). Resultados em % correspondem à eficiência de remoção

Número do teste	$g_{Force}$ (g)	$C_{time}$ (minutos)	NAT (%)	NTK (%)	ST (%)	SF (%)	SV (%)	C (%)	P (%)	pH
1	-1(250)	-1 (10)	12,56	18,22	60,93	59,03	62,08	56,57	83,01	7,80
2	1 (2900)	-1 (10)	11,56	25,19	74,52	69,33	77,68	76,57	91,81	7,80
3	-1(250)	1 (30)	13,07	22,48	65,89	63,39	67,33	62,84	86,53	7,80
4	1 (2900)	1 (30)	13,07	28,68	80,49	72,48	85,37	84,93	94,61	7,80
5	0 (1400)	0 (20)	14,07	25,97	74,24	69,82	76,94	78,36	95,54	7,80
6	0 (1400)	0 (20)	14,57	26,74	74,79	69,94	77,83	79,40	95,54	7,80
7	0 (1400)	0 (20)	14,57	27,13	75,62	70,30	78,79	75,97	95,75	7,80
8	-1,41 (80)	0 (20)	23,55	27,52	68,82	64,00	71,77	68,94	89,38	8,02
9	1,41 (3800)	0 (20)	26,16	31,78	83,29	74,06	88,91	90,13	95,24	8,05
10	0 (1400)	-1,41 (5,9)	20,34	35,66	76,12	68,85	80,56	78,20	95,37	8,07
11	0(1400)	1,41 (34)	19,32	34,50	81,96	74,18	86,70	88,09	95,24	8,09

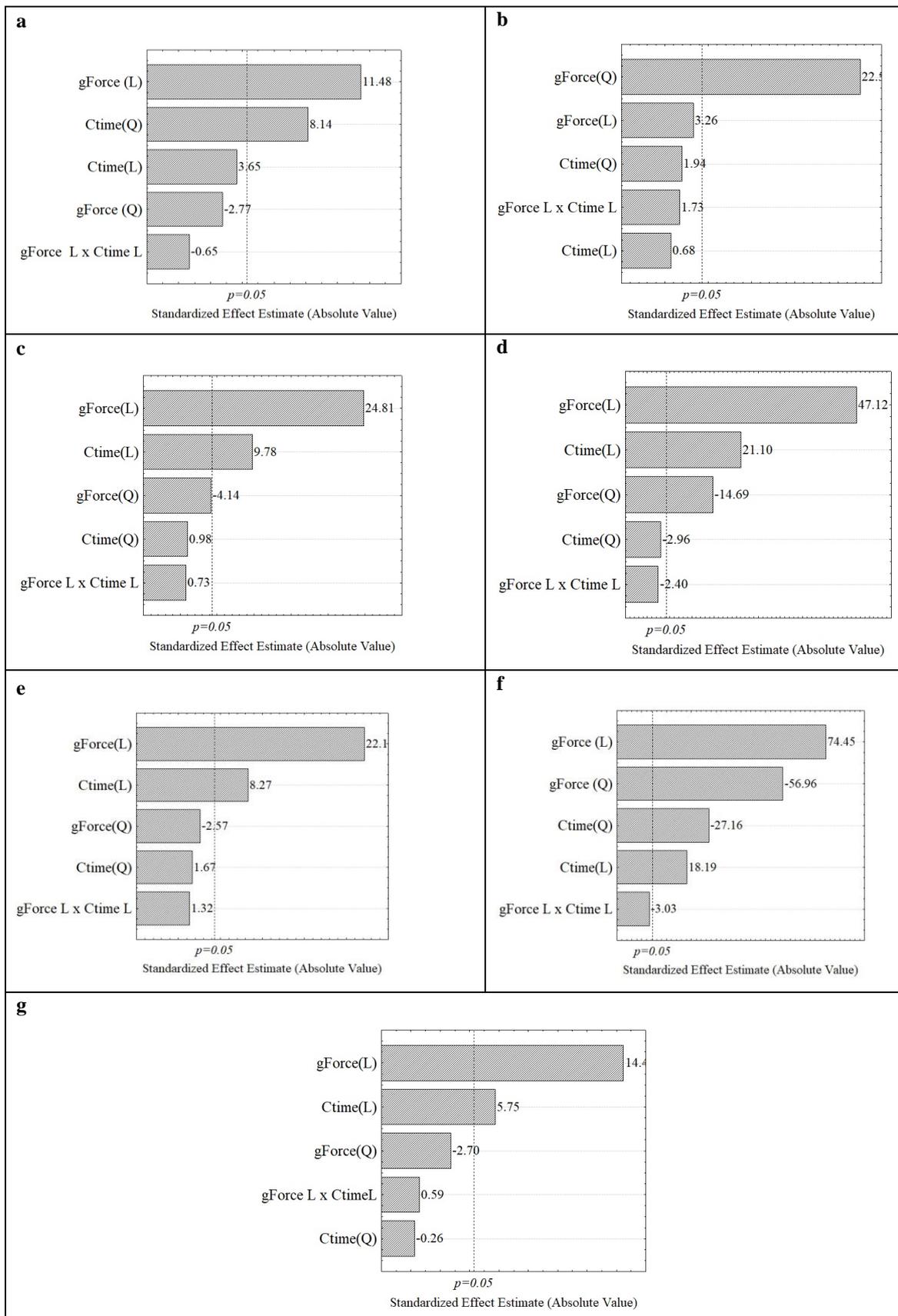
Os resultados da remoção de fósforo são extremamente importantes, porque, embora o fósforo seja um nutriente essencial no crescimento das plantas, quando se adsorve ao material sólido, fica indisponível para os vegetais. Para que o fósforo orgânico fique disponível, deve ser hidrolisado e mineralizado por atividade microbiana, sendo um processo fundamental para a liberação dos íons de ortofosfato, os quais são absorvidos pelas plantas [48,51]. Além disso, em áreas com alta produção de dejetos de suínos, o fósforo precisa ser removido antes do descarte para evitar impactos ambientais negativos. Esse também é o caso do nitrogênio, no qual a capacidade de absorção da terra é menor do que sua concentração nos efluentes [52].

Para entender o efeito das variáveis, na figura 1, estão apresentados os diagramas de Pareto, que ilustram graficamente os efeitos do tempo e da força gravitacional, além de suas interações durante os testes de centrifugação, para as respostas de remoção de NAT, NTK, ST, SF, SV, P e C. A magnitude de cada efeito corresponde a  $p < 0,05$ .

O aumento da força gravitacional e do tempo exerceu efeito sobre a eficiência. A força gravitacional apresentou efeito positivo para todas as variáveis (NAT, NTK, ST, SF, SV, P e C); com o aumento da força exercida de 80 a 3800 g, favoreceu-se o aumento da eficiência de remoção. O mesmo foi observado para o tempo, no qual o aumento do tempo de centrifugação favorece a remoção, com exceção da variável dependente P, na qual o tempo teve efeito negativo, o que pode ser atribuído à concentração relativamente baixa de fósforo no digestato em relação aos demais parâmetros avaliados.

A falta de interação entre as variáveis (força gravitacional e tempo), relacionada ao parâmetro NAT, é justificada por ser uma espécie altamente solúvel [53]. Esses dados são consistentes com a baixa eficiência na remoção de NAT, independentemente do tempo e força aplicados.

O volume de lodo gerado foi de  $100 \text{ L m}^{-3}$ , que é 3,8 vezes menor do que o volume de lodo gerado no processo de sedimentação.



**Figura 1** Pareto para a remoção de NAT (a), NTK (b), ST (c), SF (d), SV (e), P (f) e C (g) nos testes de centrifugação.

#### 6.3.4 SSL por floculação química

A floculação química consiste na adição de um coagulante, resultando na desestabilização das partículas por reduzir as forças que tendem a mantê-las separadas. Esse processo foi escolhido para sistemas de tratamento de águas residuais, como o tratamento primário [15].

A matriz do planejamento fatorial  $2^2$ , para os testes de floculação química com as respostas das variáveis dependentes C, P, NTK, NAT, ST, SV, SF e pH, são mostradas na Tabela 2. Pode-se observar que as formas de nitrogênio (NAT e NTK) apresentaram eficiências de remoção semelhantes, que variam de 9,5% a 15% para o NAT e 16% a 22% para o NTK. As melhores condições de remoção de NAT (15,08 %) e NTK (22,87%) foram no mesmo teste com aplicação de TA e PAM de  $75 \text{ ml L}^{-1}$  e  $15 \text{ ml L}^{-1}$  (teste 4). Essa condição experimental também permitiu a eficiência máxima de remoção de sólidos (60%), carbono (62%) e fósforo (83%).

Por meio do DCC  $2^2$ , foi possível investigar os efeitos de variáveis independentes (TA e PAM) e suas interações nas variáveis dependentes (C, NAT, NTK, ST, SV, SF, P). Os resultados foram submetidos à análise variância (ANOVA) e verificou-se que, para as respostas NAT, NTK, SV e P (tabela 3), foi possível a validação de modelos matemáticos, já que o F calculado foi maior do que F tabelado, com um nível de confiança de 95%. O coeficiente de correlação foi de 0,94231, 0,97958, 0,92737 e 0,98026, para o NAT, NTK, SV e P, respectivamente.

**Tabela 2** Matriz do planejamento fatorial (valores codificados e reais) e as respostas em relação aos testes de floculação química. Os valores entre parênteses são os volumes de tanino (TA) e poliacrilamida (PAM) adicionados. Resultados em (%) correspondem à eficiência de remoção

Número do teste	TA (mL L <sup>-1</sup> )	PAM (mL L <sup>-1</sup> )	NAT (%)	NTK (%)	ST (%)	SF (%)	SV (%)	C (%)	P (%)	pH
1	-1 (25)	-1 (5)	9,55	16,28	51,70	53,45	50,70	50,45	77,82	7,98
2	1 (75)	-1 (5)	10,05	16,67	46,97	56,12	41,39	43,88	6,88	7,73
3	-1 (25)	1 (15)	12,56	19,38	54,87	52,00	56,39	54,93	81,45	7,86
4	1 (75)	1 (15)	15,08	22,87	60,88	60,85	60,90	61,79	83,42	7,76
5	0 (50)	0 (10)	12,56	19,38	52,48	57,21	52,33	52,09	76,58	7,75
6	0 (50)	0 (10)	11,56	19,38	56,15	57,82	55,14	56,87	78,24	7,78
7	0 (50)	0 (10)	11,06	18,60	57,53	57,58	49,37	57,91	78,86	7,79

**Tabela 3** Modelos matemáticos para as respostas NAT, NTK, SV e P em processo de SSL por floculação química

Parâmetro	Modelo	Fcal/Ftab	R <sup>2</sup>
<b>NAT</b>	Efc. % = 11,81 + 1,51 * TA + 4,02 * PAM + 1,01 * PAM * TA	1,76	0,94231
<b>NTK</b>	Efc. % = 18,80 + 1,94 * TA + 4,65 * PAM + 1,55 * PAM * TA	5,16	0,97958
<b>SV</b>	Efc. % = 52,35 - 2,40 * TA + 12,60 * PAM + 6,91 * PAM * TA	1,37	0,92737
<b>P</b>	Efc. % = 77,64 - 3,99 * TA + 9,58 * PAM + 5,96 * PAM * TA	5,35	0,98026

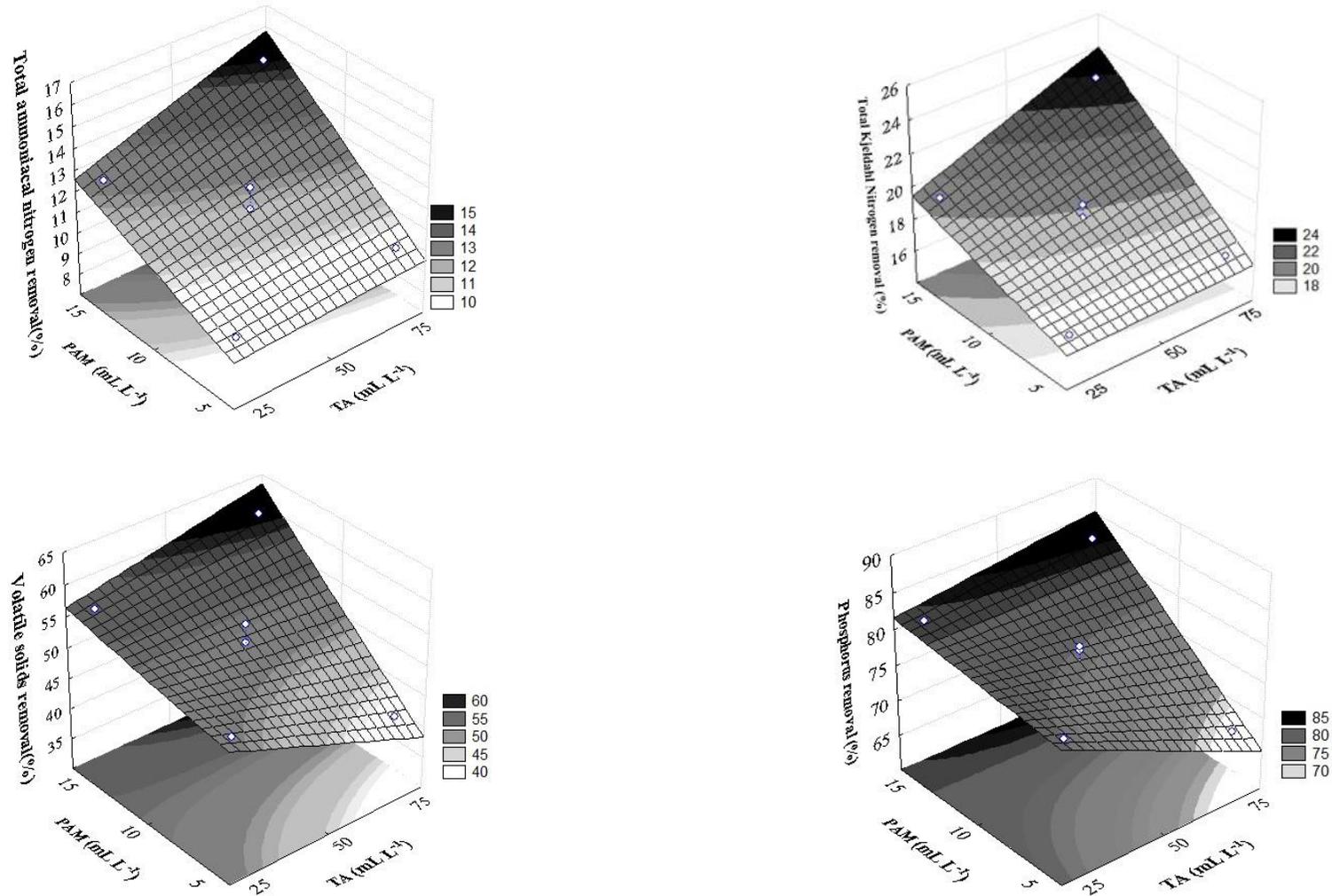
\*Efc. = Eficiência

A partir desses modelos (tabela 3), foram geradas as superfícies para NAT, NTK, SV e P (figura 2). É possível observar que os comportamentos das variáveis NAT, NTK, SV e P foram semelhantes. Conforme a concentração de tanino foi aumentada, houve um aumento na eficiência de remoção dos parâmetros citados, com a região ideal em 75 ml L<sup>-1</sup> de TA e 15 ml L<sup>-1</sup> de PAM (teste 4).

As superfícies de resposta permitem considerar uma região ótima entre a quantidade de tanino e poliacrilamida. Além disso, foi possível notar que o aumento gradual dessas variáveis favorece a eficiência de remoção.

Pode-se concluir, também, que as respostas ST e C tiveram resultados melhores quando aumentado o volume de tanino. Esse é um resultado importante, dado que os sólidos totais de carbono são tão importantes quanto o nitrogênio amoniacal para o posterior tratamento de efluentes, por exemplo, via o processo de desamonificação.

O volume de lodo gerado pelo uso da melhor condição por floculação química (75 ml L<sup>-1</sup> de TA e 15 ml L<sup>-1</sup> de PAM) foi de 730 L m<sup>-3</sup>, significando que apenas 27% do volume inicial é possível de pós-tratar. Além disso, o manejo desse lodo inviabiliza o uso da floculação química como pré-tratamento digestato, devido às suas dificuldades de manuseio.



**Figura 2** Superfícies de resposta para NAT, NTK, SV e P para os ensaios de floculação química. O aumento da intensidade da cor nos gráficos corresponde ao aumento da eficiência de remoção. TA = tanino e PAM = poliacrilamida.

### 6.3.5 Comparação dos processos de SSL

Os melhores resultados obtidos para cada tratamento foram comparados, a fim de auxiliar na decisão de qual pré-tratamento seria o mais adequado para posterior remoção de nitrogênio, via o processo de desamonificação, sendo: Sedimentação (3h), centrifugação (tempo 20 minutos e força gravitacional de 3800 g) e a floculação química (TA de 75 ml L<sup>-1</sup> e PAM de 15 ml L<sup>-1</sup>) (tabela 4).

**Tabela 4** Relação entre concentração final e inicial obtida em ensaios de sedimentação, floculação química e centrifugação ( $C_t / C_0$ )

Processo	NAT	NTK	ST	SF	SV	C	P
Sedimentação	0,93	0,96	0,53	0,48	0,57	0,55	0,25
Floculação química	0,85	0,76	0,39	0,39	0,39	0,38	0,16
Centrifugação	0,74	0,68	0,16	0,26	0,11	0,09	0,05

Onde as concentrações no digestato em g L<sup>-1</sup>: NAT= 2,0, NTK= 2,6 g L<sup>-1</sup>, ST= 21,8, SF= 8,3, SV= 13,5, C= 6,7, P= 1,0.

Em relação à remoção de NAT, o comportamento foi similar nos três processos de SSL avaliados. A sedimentação, floculação química e centrifugação exercem pouca influência na remoção do nitrogênio amoniacal total, observado pela baixa eficiência de remoção, que foi de 7%, 15% e 26%, respectivamente.

As eficiências de remoção de sólidos totais, resultantes nos melhores testes de sedimentação, floculação química e centrifugação, foram, respectivamente, 47%, 61% e 84%, que representam, de forma respectiva, 1,86, 2,55 e 5,98 vezes menos sólidos do que a concentração inicial do digestato (21,8 g L<sup>-1</sup>). Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores que utilizaram outros processos de SSL [12,24].

Comparando os testes aplicados, a centrifugação mostrou uma eficiência de 90% para remoção de carbono, o que significa que, no digestato inicial, havia 6,7 g L<sup>-1</sup> de carbono, sendo que apenas 0,66 g L<sup>-1</sup> permaneceram no líquido após esse pré-tratamento. Enquanto isso, a floculação química mostrou 62% de eficiência, resultando em 2,56 g L<sup>-1</sup> de carbono na fração líquida. Além disso, o processo de sedimentação apresentou uma concentração de carbono de 3,67 g L<sup>-1</sup>, correspondendo a uma eficiência de remoção de 45%.

A concentração de fósforo do digestato foi significativamente reduzida em relação à centrifugação, com uma concentração inicial de 1,0 g L<sup>-1</sup> no digestato; após isso, permaneceu somente 0,05 g L<sup>-1</sup>, apresentando, assim, uma eficiência de remoção de 95%. Os outros pré-tratamentos tiveram uma eficiência de remoção menor, 83% (0,16 g L<sup>-1</sup>), na floculação química, e 74% (0,25 g L<sup>-1</sup>) para a sedimentação. Essa alta eficiência de remover fósforo deve-se, provavelmente, devido à capacidade de ser incorporado em partículas sólidas e, assim, ser removido juntamente com a lodo [47,54].

Verificou-se uma eficiência de remoção de NTK e NAT baixa em todos os processos de SSL estudados. Além do mais, não foram observadas alterações significativas nos valores de pH, após a aplicação dos pré-tratamentos, provavelmente, por causa da capacidade tampão do NAT. Outro parâmetro que pode influenciar o pH é a alcalinidade, que era de  $9,57 \text{ g CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  no digestato, a qual não foi removida [48]. O pH, NAT e NTK do digestato foram, respectivamente, 7,79,  $2 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,6 \text{ g L}^{-1}$ , e os valores médios, após os três pré-tratamentos, foram de 7,8 para um pH,  $2,07 \text{ g L}^{-1}$ , para o NTK, e  $1,76 \text{ g L}^{-1}$ , para o NAT.

Assim, quando o digestato foi separado em frações (sólido e líquido), o nitrogênio inorgânico não foi transferido para a fração sólida, apenas a sua forma orgânica fixou-se nos sólidos [8], o que justifica a ausência na variação na comparação desse parâmetro entre os três processos de SSL.

O volume de lodo gerado nos processos de sedimentação, centrifugação e floculação química foi de  $377 \text{ L m}^{-3}$ ,  $100 \text{ L m}^{-3}$  e  $730 \text{ L m}^{-3}$ , respectivamente. Além disso, o menor volume de lodo gerado foi pela centrifugação, sendo relativamente fácil de gerenciar, uma vez que as suas características contêm uma concentração maior de sólidos totais.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a centrifugação é o processo de SSL mais apropriado para ser utilizado no pré-tratamento de digestato. Na prática, as condições estabelecidas nos testes de centrifugação podem ser realizadas utilizando uma centrífuga decanter (comercialmente disponível). Esse equipamento pode ser instalado após o CSTR e a fração líquida submetida ao processo de remoção de nitrogênio, via desamonificação.

## 6.4 Conclusões

O estudo demonstra a possibilidade de aplicar alguns dos processos de separação sólido-líquido para o digestato, permitindo a redução das concentrações de sólidos, carbono e fósforo. Em relação aos três processos testados, foi possível verificar a eficiência máxima com uma centrifugação com tempo de 20 minutos e uma força gravitacional de 3800 g. Nessa condição, foi obtida uma eficiência de remoção de ST e carbono de 83% e 90%, respectivamente, resultando um efluente com  $3,5 \text{ g TS L}^{-1}$  e  $0,6 \text{ g C L}^{-1}$ . O volume de lodo gerado foi de  $100 \text{ L m}^{-3}$ , 3,77 vezes menor que o volume de lodo gerado na sedimentação e 7,3 vezes menor que na floculação química.

## 6.5 Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio fornecido pelo projeto SISTRATES FUNTEC-BNDES, CNPq e CAPES.

## 6.6 Referências

- [1] Soler-Cabezas JL, Mendoza-Roca JA, Vincent-Vela MC, et al. Simultaneous concentration of nutrients from anaerobically digested sludge centrate and pre-treatment of industrial effluents by forward osmosis. *Sep. Purif. Technol.* [Internet]. 2018;193:289–296. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2017.10.058>.
- [2] Pabón-Pereira CP, De Vries JW, Slingerland MA, et al. Impact of crop-manure ratios on energy production and fertilizing characteristics of liquid and solid digestate during codigestion. *Environ. Technol. (United Kingdom)* [Internet]. 2014;35:2427–2434. Available from: <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.908242>.
- [3] Risberg K, Cederlund H, Pell M, et al. Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;61:529–538. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.016>.
- [4] Akhlar A, Battimelli A, Torrijos M, et al. Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;59:118–128. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.005>.
- [5] Tampio E, Salo T, Rintala J. Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2016 [cited 2018 Apr 3];169:293–302. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716300019>.
- [6] Tápparo DC, Viancelli A, Amaral AC do, et al. Sanitary effectiveness and biogas yield by anaerobic co-digestion of swine carcasses and manure. *Environ. Technol.* [Internet]. 2018;3330:1–9. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2018.1508256>.
- [7] Amaral AC do, Kunz A, Radis Steinmetz RL, et al. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. *J. Environ. Manage.* 2016;168:229–235.
- [8] Jørgensen K, Jensen LS. Chemical and biochemical variation in animal manure solids separated using different commercial separation technologies. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2009;100:3088–3096. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.065>.
- [9] Bayard R, Gonzalez-Ramirez L, Guendouz J, et al. Statistical Analysis to Correlate Bio-physical and Chemical Characteristics of Organic Wastes and Digestates to Their Anaerobic Biodegradability. *Waste and Biomass Valorization.* 2015;6:759–769.
- [10] Xia A, Murphy JD. Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. *Trends Biotechnol.* [Internet]. 2016;34:264–275. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.12.010>.
- [11] Rehl T, Müller J. Life cycle assessment of biogas digestate processing technologies. *Resour. Conserv. Recycl.* [Internet]. 2011;56:92–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.08.007>.
- [12] Zarebska A, Karring H, Christensen ML, et al. Ammonia Recovery from Pig Slurry Using a Membrane Contactor—Influence of Slurry Pretreatment. *Water. Air. Soil Pollut.* 2017;228.

- [13] Mores R, Treichel H, Zakrzewski CA, et al. Remove of phosphorous and turbidity of swine wastewater using electrocoagulation under continuous flow. *Sep. Purif. Technol.* 2016;171:112–117.
- [14] Møller HB, Sommer SG, Ahring BK. Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2002;85:189–196. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852402000470>.
- [15] Kooijman G, De Kreuk MK, Van Lier JB. Influence of chemically enhanced primary treatment on anaerobic digestion and dewaterability of waste sludge. *Water Sci. Technol.* 2017;76:1629–1639.
- [16] Tambone F, Orzi V, D'Imporzano G, et al. Solid and liquid fractionation of digestate: Mass balance, chemical characterization, and agronomic and environmental value. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2017;243:1251–1256. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.130>.
- [17] Magrí A, Giovannini F, Connan R, et al. Nutrient management from biogas digester effluents: a bibliometric-based analysis of publications and patents. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2017;14:1739–1756.
- [18] Li X, Guo J, Dong R, et al. Properties of plant nutrient: Comparison of two nutrient recovery techniques using liquid fraction of digestate from anaerobic digester treating pig manure. *Sci. Total Environ.* [Internet]. 2016;544:774–781. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.172>.
- [19] Tao W, Fattah KP, Huchzermeier MP. Struvite recovery from anaerobically digested dairy manure: A review of application potential and hindrances. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2016;169:46–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.006>.
- [20] Zeng Y, De Guardia A, Dabert P. Improving composting as a post-treatment of anaerobic digestate. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2016;201:293–303. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.013>.
- [21] Czekala W, Dach J, Dong R, et al. Composting potential of the solid fraction of digested pulp produced by a biogas plant. *Biosyst. Eng.* 2017;160:25–29.
- [22] Hung CY, Tsai WT, Chen JW, et al. Characterization of biochar prepared from biogas digestate. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;66:53–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.034>.
- [23] Pedrazzi S, Allesina G, Belló T, et al. Digestate as bio-fuel in domestic furnaces. *Fuel Process. Technol.* [Internet]. 2015;130:172–178. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.10.006>.
- [24] 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. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2013;131:170–184. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.021>.
- [25] Mousavi SA, Mehralian M, Khashij M, et al. Effect of air flow rate and C/N ratio on biological nitrogen removal through the CANON process treating reject water. *Environ. Technol. (United Kingdom)* [Internet]. 2017;0:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2017.1369578>.

- [26] Paccanelli N, Teli A, Scaglione D, et al. Comparison based on environmental effects of nitrogen management techniques in a manure digestate case study. *Environ. Technol.* [Internet]. 2015;36:3176–3185. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2015.1055820>.
- [27] Chini A, Kunz A, Viancelli A, et al. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. *Water. Air. Soil Pollut.* 2016;227.
- [28] Feng Y, Lu X, Al-Hazmi H, et al. An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2017;16:541–568.
- [29] Connan R, Dabert P, Le Roux S, et al. Characterization of a combined batch-continuous procedure for the culture of anammox biomass. *Ecol. Eng.* [Internet]. 2017;106:231–241. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.003>.
- [30] Sheets JP, Yang L, Ge X, et al. Beyond land application: Emerging technologies for the treatment and reuse of anaerobically digested agricultural and food waste. *Waste Manag.* [Internet]. 2015;44:94–115. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.037>.
- [31] Miao Y, Peng Y, Zhang L, et al. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chem. Eng. J.* [Internet]. 2018;334:664–672. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.072>.
- [32] Ilmi M, Kloekhorst A, Winkelman JGM, et al. Process intensification of catalytic liquid-liquid solid processes: Continuous biodiesel production using an immobilized lipase in a centrifugal contactor separator. *Chem. Eng. J.* [Internet]. 2017;321:76–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.03.070>.
- [33] Karthikeyan OP, Visvanathan C. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: A review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2013;12:257–284.
- [34] Popovic O, Gioelli F, Dinuccio E, et al. Centrifugation of digestate: The effect of chitosan on separation efficiency. *Sustain.* 2017;9:1–9.
- [35] van nieuwenhuijzen A, Van der Graaf J. handbook on particle separation processes. 2012.
- [36] Rice EW, Baird RB, Eaton AD, et al. Standard methods for the examination of water and wastewater [Internet]. 23rd ed. Bridgewater L, editor. Washington: American Public Health Association; 2017. Available from: <https://www.standardmethods.org>.
- [37] Lu Y, Liaquat R, Astals S, et al. Relationship between microbial community, operational factors and ammonia inhibition resilience in anaerobic digesters at low and moderate ammonia background concentrations. *N. Biotechnol.* [Internet]. 2018; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871678417306957>.
- [38] Svehla P, Radechovska H, Pacek L, et al. Nitrification in a completely stirred tank reactor treating the liquid phase of digestate: The way towards rational use of nitrogen. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;64:96–106. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.041>.
- [39] Törnwall E, Pettersson H, Thorin E, et al. Post-treatment of biogas digestate-An evaluation of ammonium recovery, energy use and sanitation. *Energy Procedia* [Internet]. 2017;142:957–963. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.153>.

- [40] Zhang Z, Li Y, Chen S, et al. Simultaneous nitrogen and carbon removal from swine digester liquor by the Canon process and denitrification. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2012;114:84–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.006>.
- [41] Zhang ZZ, Xu JJ, Hu HY, et al. Insight into the short- and long-term effects of inorganic phosphate on anammox granule property. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2016;208:161–169. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.097>.
- [42] Peng W, Pivato A, Lavagnolo MC, et al. Digestate application in landfill bioreactors to remove nitrogen of old landfill leachate. *Waste Manag.* [Internet]. 2018; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X18300102>.
- [43] Hjorth M, Christensen K V, Christensen ML, et al. Soli-liquid separation of animal slurry in theory and practice. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2010;30:153–180.
- [44] Berk Z. *Food Process Engineering and Technology.* J. Chem. Inf. Model. 2013.
- [45] Zhou X, Zhang Z, Zhang X, et al. A novel single-stage process integrating simultaneous COD oxidation, partial nitrification-denitrification and anammox (SCONDA) for treating ammonia-rich organic wastewater. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2018;254:50–55. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852418300713>.
- [46] Shan J, Yang P, Shang X, et al. Anaerobic ammonium oxidation and denitrification in a paddy soil as affected by temperature, pH, organic carbon, and substrates. *Biol. Fertil. Soils.* 2018;12:1–8.
- [47] Kunz A, Bortoli M, Higarashi MM. Avaliação Do Manejo De Diferentes Substratos Para Compostagem De Dejetos Líquidos De Suínos. *Acta Ambient. Catarinense.* 2008;5:7–19.
- [48] Fernandes GW, Kunz A, Steinmetz RLR, et al. Chemical phosphorus removal: A clean strategy for piggery wastewater management in Brazil. *Environ. Technol. (United Kingdom).* 2012;33:1677–1683.
- [49] Laridi R, Auclair JC, Benmoussa H. Laboratory and pilot-scale phosphate and ammonium removal by controlled struvite precipitation following coagulation and flocculation of swine wastewater. *Environ. Technol.* 2005;26:525–536.
- [50] Capdevielle A, Sýkorová E, Biscans B, et al. Optimization of struvite precipitation in synthetic biologically treated swine wastewater-Determination of the optimal process parameters. *J. Hazard. Mater.* 2013;244–245:357–369.
- [51] Jeon S, Kim DJ. Enhanced phosphorus bioavailability and heavy metal removal from sewage sludge ash through thermochemical treatment with chlorine donors. *J. Ind. Eng. Chem.* [Internet]. 2018;58:216–221. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.028>.
- [52] Kunz A, Miele M, Steinmetz RLR. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2009;100:5485–5489. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.039>.
- [53] Stein L y., Klotz MG. The nitrogen cycle. *Curr. Biol.* 2016;26:83–101.
- [54] Vivan M, Kunz A, Stolberg J, et al. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.* 2010;14:320–325.

## 7 ARTIGO 2: DESEMPENHO DO PROCESSO E MODULAÇÃO DA COMUNIDADE DE MICRORGANISMOS EM FUNÇÃO DO TOC EM UM REATOR DE DESAMONIFICAÇÃO QUE TRATA DIGESTATO DE REATOR DE LODOS DE SUÍNOS<sup>3</sup>

### RESUMO

O processo de desamonificação remove a amônia das águas residuais sem necessidade de carbono orgânico. No entanto, o digestato de processos anaeróbios ainda contém quantidades relativamente altas de carbono orgânico total (COT), que podem inibir a desamonificação. Nesse sentido, o presente estudo investigou a interferência de COT de digestato de um reator de lodo de dejetos suíno em um reator de desamonificação EGSB, em escala de laboratório. A comunidade de microrganismos também foi analisada quando o processo foi submetido a diferentes condições operacionais. O estudo foi dividido em três fases, de acordo com a relação C/N (0, 0,5 e 1 para a fase I, fase II e fase III, respectivamente). Na fase I, a eficiência média de remoção de nitrogênio (ERN) foi de  $65 \pm 1,6\%$ , com o aumento de COT ( $156 \pm 8,15 \text{ mg L}^{-1}$ ); na fase II, essa eficiência diminuiu para  $61 \pm 9,8\%$  e, na fase III (COT foi aumentado para  $255 \pm 3,50 \text{ mg L}^{-1}$ ), diminuiu ainda mais a ERN ( $50 \pm 3,9\%$ ). Além disso, na fase II, o sistema atingiu um ERN de 72%, a qual foi 22% maior que na fase III. *C. Jettinia* foi favorecida quando o reator foi alimentado com digestato na fase II. Portanto, nas condições empregadas no presente estudo, recomenda-se utilizar uma relação C/N de 0,5 com concentração de carbono de  $150 \text{ mgCOT L}^{-1}$  para tratar o digestato pelo processo de desamonificação, a fim de não diminuir os microrganismos anammox. Assim, a comunidade de microrganismos pode ser modulada com base no carbono e nitrogênio no reator de desamonificação para o tratamento de dejetos suíno.

**Palavras-chave:** Anammox. Carbono orgânico. Remoção de nitrogênio. Resíduo animal.

#### Destaques:

- O aumento da relação C/N causou efeito negativo sobre o processo de desamonificação.
- O COT é mais importante para o processo de desamonificação do que a relação C/N.
- O processo de desamonificação teve ERN máxima de 72% com relação C/N de 0,5.
- O aumento do carbono orgânico causou supressão da *Ca. Brocadia*.

---

<sup>3</sup> Adaptado de: Chini, A.; Bolsan, A. C.; Hollas, C. E.; Antes, F. G.; Treichel, H.; Fongaro, G.; Kunz, A. **Process performance and microorganisms community modulation as function of toc in a deammonification reactor treating digestate from a swine sludge CSTR reactor**. Submetido à revista Journal Environmental Management (artigo em revisão).

## 7.1 Introdução

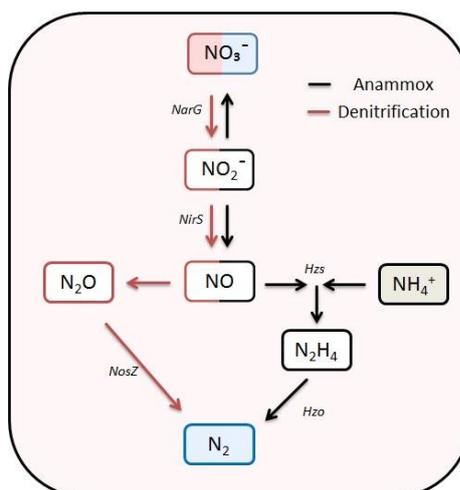
A digestão anaeróbia é uma tecnologia que converte matéria orgânica em energia, reduzindo as emissões gasosas e substituindo o uso de combustíveis fósseis (Amaral et al., 2016; Magrí et al., 2013). Além disso, o digestato, gerado como resíduo, é rico em nutrientes (Tápparo et al., 2018). O digestato pode ser usado como fertilizante orgânico ou também pós-tratado, de acordo com suas características, considerando que esse efluente contém baixo potencial de produção de biogás e alta concentração de nitrogênio total (NT) (Amaral et al., 2016).

A alta concentração de nutrientes pode limitar a aplicação do produto diretamente no solo, devido à possibilidade de contaminação ambiental. Dessa forma, surge a necessidade de implementar um sistema de tratamento para reduzir o potencial poluente do digestato (Magrí et al., 2013). Uma das possibilidades que está sendo estudada como uma tecnologia alternativa para a remoção de nitrogênio é o processo de desamonificação (Chini et al., 2016; Feng et al., 2017).

O processo de desamonificação foi desenvolvido como um dos processos mais eficientes e econômicos para remover a amônia das águas residuais (Miao et al., 2018; Sliemers et al., 2003). Outras características desse processo são a redução do consumo de energia, a baixa produção de lodo e a ausência da necessidade de fontes de carbono orgânico em comparação com outros processos biológicos para a remoção de nitrogênio (Wang et al., 2016; X. Wang et al., 2018).

Para a operação do processo de desamonificação em estágio único, devem ser fornecidas algumas condições para o desenvolvimento dos micro-organismos responsáveis por cada processo (anammox e bactérias oxidadoras de amônio (BOA)) (Baeten et al., 2019; Feng et al., 2017). A influência de alguns fatores já foi comprovada, por suprimir ou selecionar os micro-organismos envolvidos, tais como ácido nitroso livre (Pedrouso et al., 2017), amônia livre (FA) (Liu et al., 2019), oxigênio dissolvido (Cao et al., 2018; Chini et al., 2016), concentrações salinas (Val del Rio et al., 2018), metais pesados (Feng et al., 2017), temperatura (X Wang et al., 2018) e configuração do reator (Zheng et al., 2014).

Além disso, a demanda química de oxigênio (DQO) ou a relação carbono orgânico total (COT) e nitrogênio (C/N) é frequentemente citada como um dos fatores mais críticos (Miao et al., 2018). A concentração elevada de COT favoreceria o desenvolvimento de bactérias desnitrificantes, pois fornece doador de elétrons a elas, como visto na Figura 1 (Dai et al., 2019; D. Wang et al., 2018). Esse processo ainda pode ser favorecido pela equação estequiométrica de desamonificação, no qual o nitrato produzido fornece substrato externo para a desnitrificação (Chini et al., 2016; Sliemers et al., 2003).



**Figura 1** Visão geral do processo anammox e desnitrificação, com seus genes funcionais nas vias do metabolismo do nitrogênio. Adaptado de D. Wang et al., (2018).

Os micro-organismos anammox, nitrificantes e desnitrificantes estão presentes e ativos no biofilme, de forma que eles coexistem, compondo uma comunidade efetiva no processo de desamonificação (Baeten et al., 2019; Dai et al., 2019). Além disso, os filos *Proteobacteria* e *Planctomycete* são, respectivamente, as bactérias heterotróficas e autotróficas dominantes responsáveis pela remoção de nitrogênio (Wang et al., 2019). Os micro-organismos anammox (filo *Planctomycete*) são os principais responsáveis pela eficiência de remoção de nitrogênio no processo de desamonificação, sendo diretamente influenciados pela matéria orgânica (Miao et al., 2018), sendo que os microrganismos nitrificantes são mais resistentes às concentrações de COT (carga de COT em torno de  $2 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) (De Prá et al., 2012).

Por outro lado, o COT em excesso leva à prevalência de bactérias desnitrificantes sobre as anammox, o que é prejudicial ao sistema de desamonificação (Almeida et al., 2018). Portanto, a modulação apropriada de microrganismos de desamonificação, em função da COT aplicada para manter a estabilidade e eficácia do sistema, precisa ser investigada.

Desse modo, espera-se que o efluente de biodigestor de lodo (por exemplo, CSTR), por conter uma concentração superior de sólidos, seja diferente do gerado por biodigestor que trata dejetos suínos, outros resíduos da agroindústria ou mesmo efluentes sintéticas, como relatado na maioria dos estudos publicados (Miao et al., 2018; Wang et al., 2017). Portanto, há uma falta de informação sobre o desempenho do processo e a resposta da comunidade do processo de desamonificação para o tratamento do digestato com carbono biodegradável em diferentes relações C/N. Adicionalmente, é necessário identificar a faixa ótima de concentração de matéria orgânica em que as bactérias anammox coexistam com as BOA, sem excessivo crescimento de heterotróficas ou supressão do processo de desamonificação. Nesse sentido, os objetivos deste estudo foram avaliar o impacto da concentração de carbono e da relação C/N na eficiência de remoção de nitrogênio e na modulação

da comunidade de micro-organismos em um reator de desamonificação, a fim de tratar digestato de biodigestor de lodo.

## **7.2 Material e métodos**

### **7.2.1 Sistema Experimental**

Utilizou-se um reator cilíndrico EGSB de vidro em escala laboratorial, com volume de trabalho de 1 L (Chini et al., 2016) para o desenvolvimento experimental. O influente foi bombeado para o reator EGSB por meio de uma bomba peristáltica (BP-200, Milan). O ar foi alimentado intermitentemente (15 min ligado / 15 min desligado), usando uma bomba comprimida (A230, Big Air), conectada a um difusor de ar e medido por um fluxômetro de ar (Gilmont, GF-9260). O reator foi operado no tempo de retenção hidráulica de 6 h, com aeração intermitente e ciclos de alimentação controlados por controlador lógico programável (PLC Dexter, modelo DX série 100) e temperatura mantida a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . O oxigênio dissolvido (OD) permaneceu em  $0,47 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , durante todas as fases experimentais. Não houve descarte de lodo durante todo o experimento.

### **7.2.2 Biomassa inicial e características do digestato**

O reator foi inoculado com lodo nitrificante e anammox (depositado no banco de micro-organismos BRMSA 0323 da Embrapa Suínos e Aves), obtido de reatores de laboratório, operados em condições estáveis (Casagrande et al., 2013; De Prá et al., 2012). A relação entre biomassa anammox e nitrificante foi determinada pelas taxas específicas de consumo de nitrogênio, obtidas nos ensaios cinéticos em batelada, de acordo com De Prá et al., (2016). Os resultados obtidos nos testes cinéticos foram: para lodo nitrificante, a taxa de consumo específico de amônia ( $\mu\text{N-NH}_3$ ) foi de  $54 \text{ mgN-NH}_3 \text{ gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e, para anammox, o  $\mu\text{N-NH}_3$  foi de  $21 \text{ mgN-NH}_3 \text{ gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e a taxa de consumo específico de nitrito ( $\mu\text{NO}_2^- \text{-N}$ ) foi de  $27 \text{ mg N-NO}_2 \text{ gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . A operação do sistema foi dividida em três fases, de acordo com a relação C/N, conforme mostrado na tabela 1.

O efluente sintético, utilizado na fase I, foi preparado de acordo com Magrí et al., (2012), contendo os seguintes sais nas respectivas concentrações ( $\text{g L}^{-1}$ ):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1,42),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,10),  $\text{NaHCO}_3$  (2,91),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,39),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,06),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,008),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,008) e uma solução de nutrientes foi adicionada no volume de  $100 \mu\text{L L}^{-1}$ .

**Tabela 1** Condições operacionais para o reator de desamonificação nas diferentes fases operacionais

Parâmetro	Unidade	Fase I	Fase II	Fase III
Tempo	Dias	0-49	50-91	92-122
Relação C/N	-	-	0,5	1,0
Efluente	-	Sintético	Digestato CSTR	Digestato CSTR
CCA	g COT L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	-	0,57 ± 0,04	1,01 ± 0,01
CNA	g N L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1,24 ± 0,00	1,21 ± 0,03	1,19 ± 0,07

CCA: carga de carbono aplicada; CNA: carga de nitrogênio aplicada.

O digestato foi amostrado em um biodigestor de lodo CSTR, operando em condição mesofílica (37 °C), além de tratar o lodo de uma estação de tratamento de suínos localizada em Videira, Santa Catarina - Brasil (27°02'38.8 "S 51°05'35.7" W). As características do digestato estão descritas na Tabela 2. Antes de alimentar o sistema, o digestato foi pré-tratado em uma centrífuga por 30 minutos, com uma força gravitacional de 3800g e, após, diluído para dar a necessária relação C/N nas fases II e III. Para isso, o digestato centrifugado foi diluído 6,5 vezes até atingir a concentração de amônia de 300 mgN L<sup>-1</sup>.

**Tabela 2** Composição do digestato para tratamento via processo de desamonificação

Parâmetro	Resposta
ST, g L <sup>-1</sup>	21,8 ± 0,33
VS, g L <sup>-1</sup>	13,5 ± 0,19
CT, g L <sup>-1</sup>	6,7 ± 0,11
P <sub>tot</sub> , g L <sup>-1</sup>	0,97 ± 0,04
NAT, gN L <sup>-1</sup>	2,00 ± 0,03
NTK, gN L <sup>-1</sup>	2,60 ± 0,01
Alcalinidade, gCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	9,57 ± 0,05
DBO, mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	220 ± 8
UV-ABS, cm <sup>-1</sup>	36,6
pH	7,79 ± 0,01

### 7.2.3 Métodos analíticos

O afluente e o efluente do reator EGSB foram diariamente amostrados e analisados para TAN (expresso em N-NH<sub>3</sub>), N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, COT e alcalinidade. O OD e o pH foram monitorados em estágios aeróbios e anóxicos e, ao final de cada fase (I, II e III), foram obtidas as taxas específicas de consumo de nitrogênio.

O carbono orgânico total dissolvido (COT) foi determinado usando um analisador de COT (TOC-LCPH / CPN, Shimadzu, Kyoto, Japão), seguindo as recomendações do fabricante. O Carbono Total (CT) foi medido pelo analisador elementar CNHS (modelo Flash 2000, Thermo Fisher Scientific), seguindo as recomendações do fabricante. O fósforo foi determinado pelo método espectrofotométrico do molibidovanadato, utilizando um espectrofotômetro Cary 50 (Agilent, EUA).  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NO}_2^-$ ; foram medidos pelo método colorimétrico em sistema de análise por injeção em fluxo (modelo 2500, Fialab Instruments), métodos adaptados de Rice et al. (2017). A determinação de alcalinidade foi realizada em um titulador automático (modelo 848 Titrino plus, Metrohm, Herisau, Suíça). Para as determinações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos fixos em suspensão (SSF), as amostras foram secas a 105°C e calcinadas a 550°C. Para ST, a amostra foi analisada por gravimetria. O pH e o OD foram medidos por sondas portáteis da Hanna (modelo HI 8424) e do medidor OD (modelo 200A, EcoSense), respectivamente. A demanda biológica de oxigênio (DBO) foi determinada pelo método do consumo de oxigênio dissolvido em amostras incubadas durante 5 dias ( $\text{DBO}_5$ ). Os constituintes orgânicos de absorvância UV (UV-ABS) foram medidos seguindo o método de absorção ultravioleta, usando um espectrofotômetro (Cary 60 UV-Vis, Agilent, Santa Clara, EUA). A absorvância foi medida a 253,7 nm, em amostras previamente filtradas, usando filtros TFE de 0,45  $\mu\text{m}$ . Todos os parâmetros analíticos foram quantificados de acordo com Rice et al. (2017) e as análises foram realizadas em triplicata, seguindo protocolos padronizados, baseados em boas práticas de laboratório e política de garantia de qualidade.

#### **7.2.4 Avaliação da comunidade de microrganismos**

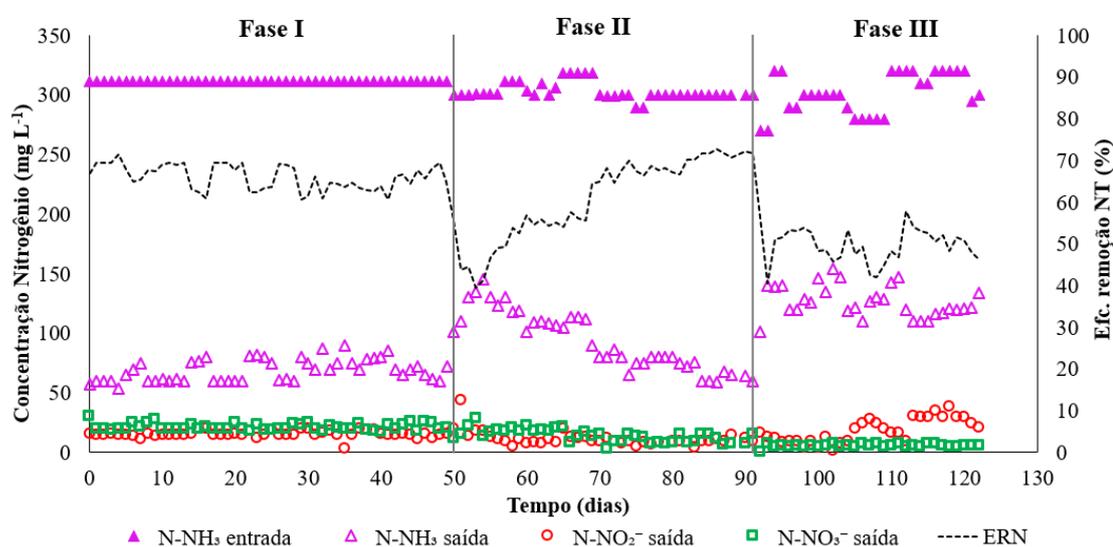
Cinco gramas de amostras de lodo foram coletados nos dias 1, 88 e 122 do reator, compreendendo as três fases operacionais para comparar a comunidade microbiana. O material genético foi extraído usando um grama da amostra de biomassa pelo PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

As regiões V3-V4 foram amplificadas com os primers 341F e 806 R, respectivamente, segundo Caporaso et al. (2011) e Wang e Qian (2009). As bibliotecas foram sequenciadas em um sistema MiSeq, usando os primers padrão Illumina, fornecidos no kit, e a corrida foi executada em 300nt. As sequências agrupadas (OTUs) foram então submetidas à classificação taxonômica, em bancos de dados de serviço de árvores, considerando que sequências com pelo menos 99% de identidade no banco de dados de referência foram atribuídas taxonomicamente.

## 7.3 Resultados e discussão

### 7.3.1 Remoção de nitrogênio nas diferentes fases experimentais

O desempenho das espécies de nitrogênio e remoção total de nitrogênio no processo de desamonificação é mostrado na Figura 2. Adicionalmente, os parâmetros de desempenho do reator de desamonificação estão descritos na Tabela 3. Durante a fase I, a média da CNA foi de  $1,24 \pm 0,01$  g N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Tabela 1) e a eficiência de remoção de nitrogênio total (ERN) obtida foi  $65 \pm 1,6\%$  (Tabela 3). No final dessa fase (49 dias), a taxa de consumo específico de amônia ( $\mu_{\text{N-NH}_3}$ ) foi de  $41,42$  mg N gSSV<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabela 3), o que é 2,06 vezes superior ao observado por Chini et al. (2016). Esse período foi muito importante para a aclimatização dos microrganismos, sem presença de matéria orgânica.



**Figura 2** Compostos nitrogenados e eficiência de remoção de nitrogênio (ERN) total durante as fases experimentais. Fase I: Efluente sintético; fase II: relação C/N de 0,5 e fase III relação C/N de 1.

**Tabela 3** Parâmetros de desempenho do reator de desamonificação durante diferentes fases operacionais

Parâmetro	Fase I	Fase II	Fase III
Relação C/N	0	0,5	1,0
CCR, g COT L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	-	$0,10 \pm 0,04$	$0,5 \pm 0,06$
DBO <sub>5</sub> , mg L <sup>-1</sup>	-	$86 \pm 0,52$	$86 \pm 0,52$
UV-ABS, cm <sup>-1</sup>	-	2,43	2,5
CNR, g N L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	$0,8 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,11$	$0,60 \pm 0,06$
ERN, %	$65 \pm 1,6$	$61 \pm 9,8$	$50 \pm 3,9$
$\mu_{\text{N-NH}_3}$ , mgN-NH <sub>3</sub> gSSV <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	41,4	25,5	4,5
OD, mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> L <sub>reator</sub>	0,5	0,5	0,5

CCR: Carga de carbono removida; CNR: Carga de nitrogênio removida; ERN: Eficiência de remoção de nitrogênio.

Na fase II, o reator foi alimentado com o digestato e o sistema apresentou um ERN média de  $61 \pm 9,8\%$ ; no início dessa fase, a eficiência do sistema reduziu quase 20%, recuperando-se no 70º dia operacional, de forma a atingir, também, ERN máxima de 72% ao final dessa fase (Figura 2). O  $\mu_{\text{N-NH}_3}$  teve um decréscimo de 1,6 vezes nessa fase, em comparação com a fase I, o que significa que o consumo de amônia específico foi menor com a aplicação do digestato do que com o efluente sintético. No entanto, o valor de  $\mu_{\text{N-NH}_3}$  obtido ainda é considerado muito satisfatório em comparação com os dados de Prá et al. (2016).

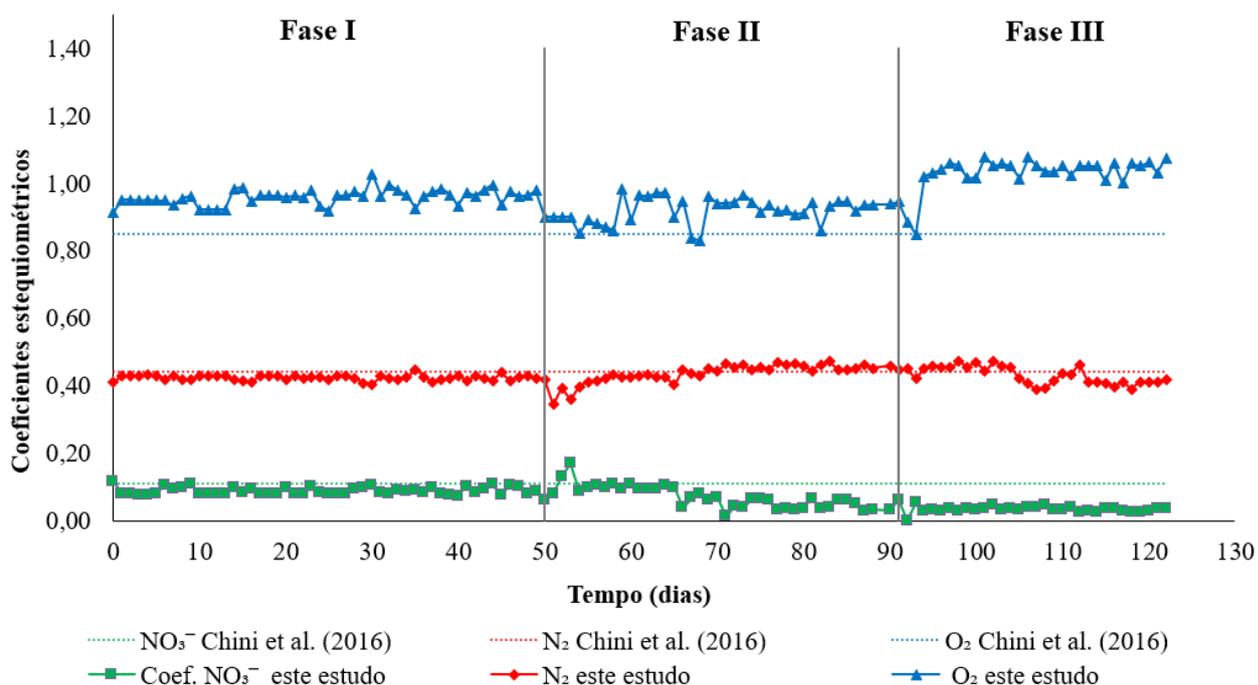
Na fase III, quando foi aumentado o COT para  $255 \pm 3,50 \text{ mg L}^{-1}$ , houve um decréscimo de 30% na ERN; o sistema recuperou sua eficiência dias após, permanecendo em torno de  $50 \pm 3,9\%$ . Da mesma forma, a redução de  $\mu_{\text{N-NH}_3}$  foi 9,2 e 5,7 vezes menor que a fase I e II, respectivamente, sendo mais significativa que a redução da fase II.

A ERN máxima obtida neste estudo foi durante a fase II, comparando com outros estudos, como Pichel et al. (2018), que tinha uma ERN em torno de 30% ( $0,4 \text{ g CNA NL}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) e Zhang et al. (2017), que atingiu uma ERN de 49,7% ( $0,75 \text{ CNA g NL}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ). É importante ressaltar que a CNA neste estudo é cerca de 4,5 vezes maior do que o normalmente aplicado nesse tipo de processo (Almeida et al., 2018; Cao et al., 2017; Miao et al., 2018), o que mostra a robustez do processo de desamonificação.

Os coeficientes estequiométricos para as espécies químicas envolvidas no processo de desamonificação foram calculados para comprovar que o processo estava ativo no reator. Esses valores são mostrados na Figura 3, em comparação com os coeficientes teóricos (Chini et al., 2016; Sliekers et al., 2003). O coeficiente de  $\text{O}_2$  nas três fases foi superior ao valor teórico, ou seja, o consumo de oxigênio foi superior aos valores teóricos requeridos para a oxidação parcial da amônia ao nitrito (De Prá et al., 2012). Esse fenômeno foi visualizado no desenvolver do experimento, no qual foi mantido um oxigênio dissolvido de  $0,5 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ L}_{\text{reator}}$ ; porém, com o acréscimo de carbono, a vazão de ar teve que ser aumentada para manter esse valor de OD. No entanto, de acordo com a Figura 2, quase todo nitrito foi consumido em diferentes fases do experimento. Portanto, o maior consumo de oxigênio pode ser atribuído às limitações da configuração do reator, como exemplo, a transferência de massa que foi previamente estudada por Chini et al. (2016).

O coeficiente de  $\text{N}_2$  permaneceu muito próximo do valor teórico, o que corrobora a suposição de que o processo de desamonificação é responsável pela remoção de amônia. Além disso, observou-se que o coeficiente de  $\text{N-NO}_3^-$  permaneceu abaixo do valor estabelecido pela literatura (Chini et al., 2016; Sliekers et al., 2003). Esse aspecto pode indicar que outro processo ocorreu junto com a desamonificação, por exemplo, a desnitrificação. As bactérias desnitrificantes convertem nitrato em gás nitrogênio sob condições orgânicas (Figura 1) (Kunz et al., 2012; Miao et al., 2018). Na terceira fase, a concentração de COT foi de  $260 \pm 3,5 \text{ mg COT L}^{-1}$  e, considerando o nitrato residual do processo de desamonificação,

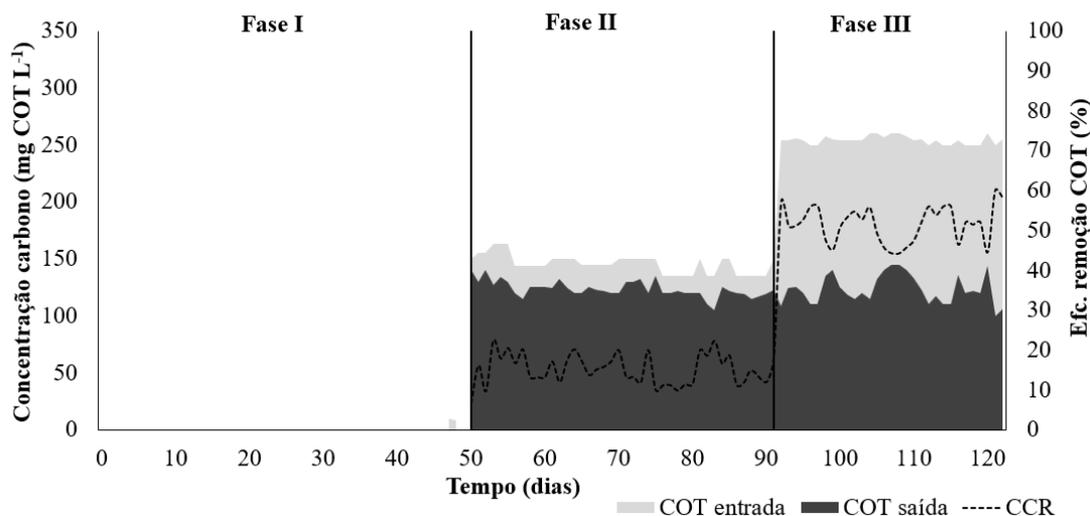
pode-se concluir que, nessa fase, foram dadas as condições estequiométricas para favorecer as bactérias desnitrificantes. Portanto, o coeficiente estequiométrico para o  $\text{NO}_3^-$  foi inferior ao valor teórico. D. Wang et al. (2018) também verificaram esse efeito de desnitrificação em um reator UASB, alimentado com efluente sintético, com aumento da concentração de carbono no efluente, em que se observou uma redução de 11% na ERN, por bactérias anammox, devido ao favorecimento de desnitrificantes.



**Figura 3** Coeficientes estequiométricos teóricos comparados aos coeficientes calculados durante as fases experimentais.

### 7.3.2 Efeito COT no desempenho do reator

As cargas aplicadas e removidas de carbono nas diferentes fases experimentais são mostradas na Figura 4. Como pode ser observado a partir dos dados, na fase II, a remoção de COT foi de  $15 \pm 3,7\%$ , significando que o crescimento heterotrófico foi baixo. Além disso, a remoção de nitrogênio por desnitrificação provavelmente foi quase insignificante, explicada pelo consumo de COT na fase II. Kindaichi et al. (2016) relataram uma redução da ERN de até 32% quando o reator foi alimentado com digestato, contendo cerca de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de COT. Como pode ser observado na Figura 4, a alimentação de carbono orgânico no reator foi de cerca de  $150 \text{ mg L}^{-1}$  e a ERN não foi suprimida como discutido acima.



**Figura 4** Carbono orgânico total (COT) no afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção durante as fases experimentais. Fase I: efluente sintético; fase II: relação C/N de 0,5; fase III: relação C/N de 1.

Na fase III, o consumo de carbono foi de  $52 \pm 4,5\%$ . Esse resultado pode ser atribuído ao favorecimento do crescimento de bactérias desnitrificantes ( $\mu_{\max}$ :  $7,2 \text{ d}^{-1}$ ), que são micro-organismos heterotróficos e apresentam maior taxa de crescimento do que as bactérias anammox ( $\mu_{\max}$ :  $0,065 \text{ d}^{-1}$ ) e nitrificantes ( $\mu_{\max}$  BOA:  $0,77 \text{ d}^{-1}$  e  $\mu_{\max}$  BON:  $1,08 \text{ d}^{-1}$ ) (Kunz et al., 2012). Ao mesmo tempo, foi observado um decréscimo de  $\mu_{\text{N-NH}_3}$  e ERN, respectivamente, de 5,7 e 1,2 vezes menor que a segunda fase, o que corrobora com o CCR relativamente alto. Da mesma forma, foi mostrado acima (Figura 3) que o coeficiente estequiométrico de  $\text{NO}_3^-$  foi significativamente inferior ao valor teórico, indicando o consumo de  $\text{NO}_3^-$  possivelmente, via desnitrificação.

Um aspecto importante a ser considerado na avaliação do efeito do COT, no processo de desamonificação, é a disponibilidade biológica da fonte de carbono. Para o digestato, utilizado neste estudo, foi determinada a DBO e constituintes orgânicos absorvedores de UV. Assim, o digestato tratado para remoção de nitrogênio pode ser considerado de baixo teor de carbono orgânico biodegradável (Tabela 2). A  $\text{DBO}_5$  foi  $86 \pm 0,52 \text{ mg L}^{-1}$ , o que propicia uma razão  $\text{DBO}_5/\text{COT}$  de 0,09. Esse valor de  $\text{DBO}_5$  está em um nível similar ao encontrado em outros estudos descritos na literatura, em que a nitrificação parcial combinada com o processo de anammox foi empregada (Cao et al., 2018; Wang et al., 2017). A biodegradabilidade relativamente baixa do COT em efluentes, provavelmente, favorece o processo de desamonificação, uma vez que o crescimento de micro-organismos heterotróficos é menos significativo do que seria em efluentes com valores mais elevados de  $\text{DBO}_5$ .

O efeito de supressão devido à relação C/N é relatado em valores diferentes. Muitos estudos descritos na literatura utilizam DQO em vez de COT. No entanto, o COT é uma expressão mais conveniente e direta do conteúdo orgânico total de águas residuais do que DQO ou mesmo  $\text{DBO}_5$  (Rice et al., 2017). Com base em DQO, alguns estudos confirmaram

que, para uma operação estável do processo de desamonificação, essa relação deve ser inferior a 1 (Du et al., 2019; Zhang et al., 2017). Shu et al. (2016) mostraram que a relação DQO/N máxima de 0,4 deve ser utilizada para não suprimir as bactérias anammox. Essa variação pode ser atribuída também às diferenças nas taxas de carga de carbono aplicada (CCA) e carga de nitrogênio aplicada (CNA), resultando em diferentes relações C/N, mas, para comparação com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se supor, aproximadamente, que DQO é 3,5 vezes o valor de COT para dejetos suíno obtido na Embrapa Suínos e Aves (dados não publicados). Neste caso, na fase II, a relação COD/N seria de 1,6 e 3,2 na fase III. Portanto, pode-se concluir que a eficiência de remoção de nitrogênio via desamonificação com menor interferência de COT (fase II), obtida neste estudo, é melhor do que os outros estudos relatados na literatura.

Além disso, as características químicas do carbono orgânico também poderiam influenciar no processo de desamonificação. Como a disponibilidade biológica de carbono tem efeito direto sobre o crescimento de bactérias heterotróficas, isso pode competir por oxigênio com BOA e por nitrito com anammox (Zhou et al., 2018), ocasionando a diminuição da eficiência de remoção de nitrogênio pelo processo de desamonificação. Recentemente, Wang et al. (2019) verificaram que a remoção de nitrogênio pelo processo de desamonificação diminuiu com concentrações de DQO superiores a 55,7 mg L<sup>-1</sup>, utilizando glicose como fonte de carbono orgânico e efluente sintético. A glicose pode ser considerada uma fonte orgânica mais fácil de ser degradada por micro-organismos do que a matéria orgânica de biodigestores.

Este estudo permite entender que a relação C/N tem um efeito importante sobre a eficiência de remoção de nitrogênio do processo de desamonificação. No entanto, o processo de desamonificação foi mantido com bom desempenho na relação C/N de 0,5 e carga de carbono aplicada de 0,57 g COT L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, com uma CNA relativamente alta. Kindaichi et al. (2016) observaram supressão na eficiência de remoção de nitrogênio, em concentrações de carbono orgânico, inferiores em relação à fase II do estudo, na qual não houve inibição. Sua hipótese para a supressão era de que as camadas externas dos grânulos estavam cobertas com matéria orgânica e/ou bactérias coexistentes, além das bactérias anammox ainda estarem presentes e mantendo a atividade nas camadas internas dos grânulos (Baeten et al., 2019), mas toda a eficiência de remoção de nitrogênio do processo foi diminuída. Talvez, a diferença na biodisponibilidade do carbono orgânico, em ambos efluentes, explique os diferentes efeitos, uma vez que, em nosso estudo, uma fonte de carbono com baixa biodisponibilidade foi utilizada.

### 7.3.3 Comunidade microbiana

A identificação da diversidade de micro-organismos em amostras coletadas em diferentes fases deste estudo é mostrada na Tabela 4. A abundância relativa do filo mais representativo, observado no reator de desamonificação, foi *Proteobacteria* (31%), *Chloroflexi* (16,01%) e *Planctomycetes* (12%). As comunidades de bactérias dominantes (*Proteobacteria*, *Chloroflexi* e *Planctomycetes*) foram estáveis; suas abundâncias mudaram em função do COT aplicado. A abundância relativa aumenta apenas da *Proteobacteria*, enquanto *Planctomycetes* e *Chloroflexi* diminuem. As bactérias pertencentes ao filo *Chloroflexi*, *Proteobacteria* e *Planctomycetes* são usualmente encontradas em estações de tratamento de esgoto, sendo muito comuns em sistemas de lodos ativados, sendo que suas existências são sempre mencionadas em estudos de reatores anammox (Cho et al., 2010; Egli et al., 2003; Wang et al., 2019; D. Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2018).

**Tabela 4** Diversidade da comunidade de microrganismos por filo ao longo das fases experimentais

Filo	Proporção (%)		
	Fase I	Fase II	Fase III
<i>Acidobacteria</i>	1,64	3,91	1,67
<i>Actinobacteria</i>	0,06	0,94	0,59
<i>Armatimonadetes</i>	0,19	0,45	0,10
<i>Bacteroidetes</i>	3,54	30,82	39,35
<i>Chlorobi</i>	-	0,16	-
<i>Chloroflexi</i>	16,01	3,68	2,72
<i>Firmicutes</i>	0,02	2,40	2,65
<i>Gemmatimonadetes</i>	0,05	0,58	0,53
<i>Ignavibacteriae</i>	6,81	11,11	2,04
<i>Planctomycetes</i>	12	9,40	5,86
<i>Proteobacteria</i>	31	23,74	37,93

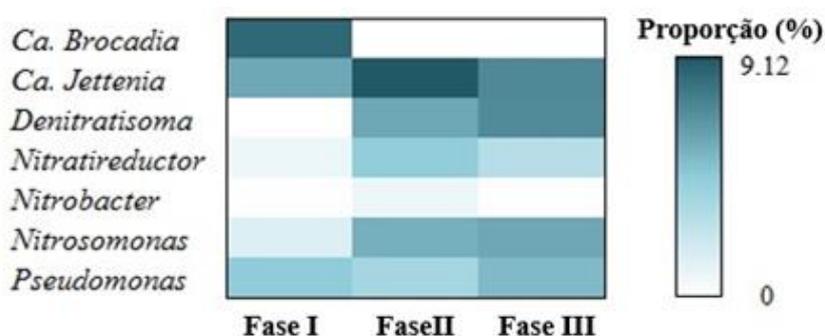
Egli et al. (2003), estudando a composição de um biofilme formado em reatores de tratamento de efluentes de lixiviado de aterro sanitário, constataram a presença de bactérias filamentosas, além de bactérias anammox e nitrificantes no biofilme formado. Observou-se que as bactérias filamentosas (filo *Chloroflexi*) exerceram importante papel estrutural na formação do biofilme. Cho et al. (2010), investigando a comunidade microbiana em um reator anammox de fluxo ascendente, também observaram que bactérias do filo *Chloroflexi* estavam presentes e contribuíram na formação da estrutura dos grânulos. De acordo com isso, a coexistência parece estar relacionada à compatibilidade desses microrganismos com ambientes ricos em amônio e nitrito, justificando a presença desse filo nas amostras estudadas.

O Filo *Proteobacteria*, quando observados em amostras, indicam que as bactérias desempenham um papel importante em ambientes de alta concentração de amônio (Y. Zhang et al., 2019). Zhang et al. (2019), estudando a composição da comunidade microbia-

na do processo de redução de sulfato e oxidação de amônia no tratamento de efluentes sintéticos inorgânicos, comprovaram que a grande proporção de *Proteobacteria* contribuiu para o processo de nitrificação parcial e o acúmulo de  $\text{NO}_2$ . Esse filo possui o metabolismo mais versátil, compreendendo os microrganismos responsáveis pelo processo de nitrificação e desnitrificação (Wang et al., 2019).

No filo *Planctomycete*, estão inseridas as bactérias anammox, com interesse de serem mantidas no presente estudo. Os microrganismos desse filo têm características fenotípicas muito peculiares dentro do domínio bactéria; eles já foram encontrados em uma ampla gama de ambientes, tais como, solos, ambientes de água doce, sedimentos oceânicos e sistemas de tratamento de efluentes (D. Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2018). Assim, em nosso estudo, a presença de *Planctomyces* na amostra analisada era esperada, pois, durante todo o experimento, foram fornecidas condições (pH, temperatura, DO) para favorecer o crescimento de bactérias anammox.

Na Figura 5, é mostrada a abundância relativa dos gêneros, de acordo com os principais filos discutidos acima. *Candidatus Brocadia sp.*, *Candidatus Jettenia sp.* e *Candidatus Kuenenia sp.* (filo *Planctomycete*) são os gêneros comumente encontrados em reatores anammox. *Denitratisoma*, *Nitratireductor* e *Pseudomonas* (filo *Proteobacteria*) também estão relacionados à remoção de nitrogênio, mas por meio da desnitrificação. Além disso, *Nitrobacter* e *Nitrosomonas* (filo *Proteobacteria*) estão relacionadas às bactérias nitrificantes (Wu et al., 2018; Zhang et al., 2018).



**Figura 5** Abundância relativa de microrganismos pelos gêneros ao longo das fases experimentais.

Após o início da alimentação com digestato, foi observada uma mudança significativa nos gêneros bacterianos associados ao anammox. *Candidatus Brocadia sp* (Figura 5) estava presente no reator na fase I (8%), entretanto, esse gênero não foi detectado quando o reator foi alimentado com digestato. Por outro lado, a proporção de *Candidatus Jettenia sp.* aumentou na fase II (9,12%) em relação à primeira fase (3%). O aumento da população de micro-organismos desnitrificantes foi observado nas fases II e III, em comparação com a fase I, também quando o reator foi alimentado com matéria orgânica. A proporção de *Nitrosomonas* foi semelhante na fase II (2,35%) e III (2,96%). A proporção de *Nitrobacter* permaneceu muito baixa, o que é desejável para preservar o  $\text{NO}_2^-$  para a desamonificação. O au-

mento da população de diferentes microrganismos, conseqüentemente, reduziu a proporção de *Planctomicetes* da fase II para a III.

A maior eficiência de remoção de nitrogênio (72%), via processo de desamonificação, foi com uma relação C/N de 0,5 na fase II. Nessa condição, os gêneros dominantes foram *Candidatus Jettenia* (9,12%), *Desnitratisoma* (3%) e *Nitrosomonas* (2,35%), os quais coexistiram no mesmo reator com aumento da ERN. Esses dados também corroboram os coeficientes estequiométricos (Figura 3) para as espécies químicas envolvidas no processo anammox, mostrando que eram os gêneros dominantes.

O digestato contém inevitavelmente pequena quantidade de matéria orgânica que pode contribuir para o crescimento da *Candidatus Jettenia*, observado neste estudo. Além disso, foi mostrado, anteriormente, que a *Ca. Jettenia* permanece em condições limitadas, ao contrário de outros gêneros (Hu et al., 2012). Shu et al. (2016), igualmente, obteve aumento de *Ca. Jettenia* e pequeno decréscimo de *Ca Brocadia*, quando aumentaram a relação C/N para 0,4, trabalhando em um sistema anammox-SBR. Segundo Wang et al. (2017), diminuição da *Ca. Brocadia* pode estar relacionada a alguma particularidade do digestato de lodo, uma vez que não contém altos níveis de salinidade. A *Ca Brocadia*, geralmente, é encontrada e cresce em efluentes sintéticos ou efluentes com baixas concentrações (Liu et al., 2018; D. Wang et al., 2018). Assim, o aumento de COT provavelmente causou supressão da *Ca. Brocadia*, conseqüentemente, aumentando a proporção de *Ca. Jettenia*

*Candidatus Jettenia* foi o gênero de bactéria anammox predominante no biorreator e a adição de carbono (fase II) causou grandes impactos em sua abundância relativa (variando de 3%, na fase I, para 9,1%, na fase II). Estudos anteriores também identificaram a predominância desse gênero em relação a outros gêneros de anammox, sendo as principais causas sobre a modulação da comunidade microbiana: o aumento da carga de nitrogênio aplicada, o tratamento de efluentes com carbono e o tipo de carbono aplicado (Huang et al., 2014; Xu et al., 2018, Yang et al., 2018).

## 7.4 Conclusões

Em conclusão, verificou-se que, para aumentar a remoção de nitrogênio e a abundância de bactérias e genes funcionais, no sistema de biorreator EGSB, via processo de desamonificação, a menor concentração de carbono de  $156 \pm 8,15 \text{ mg L}^{-1}$  (fase II) foi a mais favorável. Nessas condições, o sistema apresentou eficiência de remoção de nitrogênio de  $61 \pm 9,8\%$ , sendo a *Candidatus Jettenia sp.* identificada como o gênero de bactéria anammox predominante. Esses resultados destacam o potencial do processo de desamonificação para o tratamento de digestato de lodo em uma estação de tratamento de efluentes da suinocultura, fornecendo informações para a implementação desse tipo de sistema em condições de campo.

## 7.5 Agradecimentos

Este estudo contou com apoio financeiro da CAPES, CNPq e SISTRATES do FUNTEC-BNDES (contrato nº 15.2.0837.1).

## 7.6 Referências

- Almeida, R.G.B. de, Santos, C.E.D. dos, Lüders, T.C., Del Nery, V., Leal, C.D., Pereira, A.D., Araújo, J.C., Davenport, R.J., Barana, A.C., Lopes, D.D., Damianovic, M.H.R.Z., 2018. Nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a structured-bed reactor treating animal feed processing wastewater: Inhibitory effects and bacterial community. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 133, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.019>
- Amaral, A.C. do, Kunz, A., Radis Steinmetz, R.L., Scussiato, L.A., Tápparo, D.C., Gaspareto, T.C., 2016. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. *J. Environ. Manage.* 168, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.014>
- Baeten, J.E., Batstone, D.J., Schraa, O.J., van Loosdrecht, M.C.M., Volcke, E.I.P., 2019. Modelling anaerobic, aerobic and partial nitrification-anammox granular sludge reactors - A review. *Water Res.* 149, 322–341. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.026>
- Cao, S., Du, R., Li, B., Wang, S., Ren, N., Peng, Y., 2017. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: performance, kinetics and microbial community. *Chem. Eng. J.* 326, 1186–1196. <https://doi.org/10.1039/b000000x>
- Cao, Y., Kwok, B.H., Van Loosdrecht, M.C.M., Daigger, G., Png, H.Y., Long, W.Y., Eng, O.K., 2018. The influence of dissolved oxygen on partial nitrification/ anammox performance and microbial community of the 200,000 m<sup>3</sup>/d activated sludge process at the Changi water reclamation plant (2011 to 2016). *Water Sci. Technol.* 78, 634–643. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.333>
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107/-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000080107>
- Casagrande, C.G., Kunz, A., De Prá, M.C., Bressan, C.R., Soares, H.M., 2013. High nitrogen removal rate using ANAMMOX process at short hydraulic retention time. *Water Sci. Technol.* 67, 968–975. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.641>
- Chini, Kunz, A., Viancelli, A., Scussiato, L.A., Dias, J.R., Jacinto, I.C., 2016. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. *Water, Air, Soil Pollut.* 227, 67. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2765-7>
- Cho, S., Takahashi, Y., Fujii, N., Yamada, Y., Satoh, H., Okabe, S., 2010. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. *Chemosphere* 78, 1129–1135. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.034>

- Dai, F., De Prá, M.C., Vanotti, M.B., Gilmore, K.R., Cumbie, W.E., 2019. Microbial characteristics of nitrifiers, denitrifiers and anammox bacteria on different support media to treat space mission wastewater. *J. Environ. Manage.* 232, 943–951. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.12.008>
- De Prá, M.C., Kunz, A., Bortoli, M., Perondi, T., Chini, A., 2012. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using the partial nitrification process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87, 1641–1647. <https://doi.org/10.1002/jctb.3803>
- De Prá, M.C., Kunz, A., Bortoli, M., Scussiato, L.A., Coldebella, A., Vanotti, M., Soares, H.M., 2016. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. *Bioresour. Technol.* 202, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.048>
- Du, R., Cao, S., Li, B., Zhang, H., Li, X., Zhang, Q., Peng, Y., 2019. Step-feeding organic carbon enhances high-strength nitrate and ammonia removal via DEAMOX process. *Chem. Eng. J.* 360, 501–510. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.011>
- Egli, K., Bosshard, F., Werlen, C., Lais, P., Siegrist, H., Zehnder, A.J.B., Van Der Meer, J.R., 2003. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. *Microb. Ecol.* 45, 419–432. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-2037-5>
- Feng, Y., Lu, X., Al-Hazmi, H., Mañinia, J., 2017. An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 16, 541–568. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9441-2>
- Hu, Z., Speth, D.R., Francoijs, K.J., Quan, Z.X., Jetten, M.S.M., 2012. Metagenome analysis of a complex community reveals the metabolic blueprint of anammox bacterium “Candidatus Jettenia asiatica.” *Front. Microbiol.* 3, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00366>
- Huang, X.L., Gao, D.W., Tao, Y., Wang, X.L., 2014. C2/C3 fatty acid stress on anammox consortia dominated by Candidatus Jettenia asiatica. *Chem. Eng. J.* 253, 402–407. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.055>
- Kindaichi, T., Awata, T., Mugimoto, Y., Rathnayake, R.M.L.D., Kasahara, S., Satoh, H., 2016. Effects of organic matter in livestock manure digester liquid on microbial community structure and in situ activity of anammox granules. *Chemosphere* 159, 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.018>
- Kunz, A., Steinmetz, R., Damasceno, S., Coldebella, A., 2012. Nitrogen removal from swine wastewater by combining treated effluent with raw manure. *Sci. Agric.* 69, 352–356. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000600002>
- Liu, W., Ji, X., Wang, J., Yang, D., Shen, Y., Chen, C., Qian, F., Wu, P., 2018. Microbial community response to influent shift and lowering temperature in a two-stage mainstream deammonification process. *Bioresour. Technol.* 262, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.082>
- Liu, Y., Ngo, H.H., Guo, W., Peng, L., Wang, D., Ni, B., 2019. The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review. *Environ. Int.* 123, 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2018.11.039>
- Magrí, A., Béline, F., Dabert, P., 2013. Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing - An

- overview. *J. Environ. Manage.* 131, 170–184. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.021>
- Magrí, A., Vanotti, M.B., Szögi, A.A., Cantrell, K.B., 2012. Partial Nitritation of Swine Wastewater in View of Its Coupling with the Anammox Process. *J. Environ. Qual.* 41, 1989. <https://doi.org/10.2134/jeq2012.0092>
- Miao, Y., Peng, Y., Zhang, L., Li, B., Li, X., Wu, L., Wang, S., 2018. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chem. Eng. J.* 334, 664–672. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.072>
- Pedrouso, A., Val del Río, Á., Morales, N., Vázquez-Padín, J.R., Campos, J.L., Méndez, R., Mosquera-Corral, A., 2017. Nitrite oxidizing bacteria suppression based on in-situ free nitrous acid production at mainstream conditions. *Sep. Purif. Technol.* 186, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.05.043>
- Pichel, A., Moreno, R., Figueroa, M., Luis Campos, J., Méndez, R., Mosquera-Corral, A., Val del Río, Á., 2018. How to cope with NOB activity and pig manure inhibition in a partial nitritation-anammox process? *Sep. Purif. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.11.021>
- Prá, M.C. de, Kunz, A., Bortoli, M., Scussiato, L.A., Coldebella, A., Vanotti, M., Soares, H.M., 2016. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. *Bioresour. Technol.* 202, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.048>
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd ed. American Public Health Association, Washington.
- Shu, D., He, Y., Yue, H., Gao, J., Wang, Q., Yang, S., 2016. Enhanced long-term nitrogen removal by organotrophic anammox bacteria under different C/N ratio constraints: quantitative molecular mechanism and microbial community dynamics. *RSC Adv.* 6, 87593–87606. <https://doi.org/10.1039/C6RA04114K>
- Sliekers, A.O., Third, K.A., Abma, W., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 2003. CANON and Anammox in a gas-lift reactor. *FEMS Microbiol. Lett.* 218, 339–344. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)01177-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01177-1)
- Tápparo, D.C., Viancelli, A., Amaral, A.C. do, Fongaro, G., Steinmetz, R.L.R., Magri, M.E., Barardi, C.R.M., Kunz, A., 2018. Sanitary effectiveness and biogas yield by anaerobic co-digestion of swine carcasses and manure. *Environ. Technol.* 3330, 1–9. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1508256>
- Val del Rio, A., Pichel, A., Fernandez-Gonzalez, N., Pedrouso, A., Fra-Vázquez, A., Morales, N., Mendez, R., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., 2018. Performance and microbial features of the partial nitritation-anammox process treating fish canning wastewater with variable salt concentrations. *J. Environ. Manage.* 208, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.007>
- Wang, D., He, Y., Zhang, X., 2018. A comprehensive insight into the functional bacteria and genes and their roles in simultaneous denitrification and anammox system at varying substrate loadings 1. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9536-x>
- Wang, D., Wang, Q., Laloo, A., Xu, Y., Bond, P.L., Yuan, Z., 2016. Achieving Stable Nitritation for Mainstream Deammonification by Combining Free Nitrous Acid-Based Sludge Treatment and Oxygen Limitation. *Sci. Rep.* 6, 1–10.

<https://doi.org/10.1038/srep25547>

- Wang, G., Xu, X., Zhou, L., Wang, C., Yang, F., 2017. A pilot-scale study on the start-up of partial nitrification-anammox process for anaerobic sludge digester liquor treatment. *Bioresour. Technol.* 241, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.125>
- Wang, X., Qi, G., YuegenYan, Gao, D., 2018. Influence of temperature fluctuations on one-stage deammonification systems in northern cold region. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 18632–18641. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2050-y>
- Wang, X., Yang, R., Guo, Y., Zhang, Z., Kao, C.M., Chen, S., 2019. Investigation of COD and COD/N ratio for the dominance of anammox pathway for nitrogen removal via isotope labelling technique and the relevant bacteria. *J. Hazard. Mater.* 366, 606–614. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.036>
- Wang, Y., Qian, P.Y., 2009. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One* 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401>
- Wu, Y., Wang, Y., De Costa, Y.G., Tong, Z., Cheng, J.J., Zhou, L., Zhuang, W.Q., Yu, K., 2018. The co-existence of anammox genera in an expanded granular sludge bed reactor with biomass carriers for nitrogen removal. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9494-3>
- Xu, X., Liu, G., Wang, Y., Zhang, Y., Wang, H., Qi, L., Wang, H., 2018. Analysis of key microbial community during the start-up of anaerobic ammonium oxidation process with paddy soil as inoculated sludge. *J. Environ. Sci. (China)* 64, 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.06.026>
- Yang, W., He, S., Han, M., Wang, B., Niu, Q., Xu, Y., Chen, Y., Wang, H., 2018. Nitrogen removal performance and microbial community structure in the start-up and substrate inhibition stages of an anammox reactor. *J. Biosci. Bioeng.* xx, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.02.004>
- Zhang, D., Cui, L., Wang, H., Liang, J., 2019. Study of sulfate reducing ammonium oxidation process and its microbial community composition. *Water Sci. Technol.* 1–8. <https://doi.org/10.2166/wst.2019.027>
- Zhang, X., Zhang, N., Wang, L., Zheng, K., Fu, H., Chen, T., Zhang, H., Yan, Y., 2017. Bioactivity and microbial community structure of nitrite-oxidizing bacteria in five membrane bioreactors operated as CANON process with different C/N ratio. *Ecol. Eng.* 99, 159–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.049>
- Zhang, X., Zhao, B., Meng, J., Zhou, A., Yue, X., Niu, Y., Cui, Y., 2018. Efficiency, granulation, and bacterial populations related to pollutant removal in an upflow microaerobic sludge reactor treating wastewater with low COD/TN ratio. *Bioresour. Technol.* 270, 147–155. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.016>
- Zhang, Y., Wang, Y., Yan, Y., Han, H., Wu, M., 2019. Characterization of CANON reactor performance and microbial community shifts with elevated COD / N ratios under a continuous aeration mode. *Front. Environ. Sci. Eng.* 13, 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11783-019-1095-6>
- Zheng, M., Yan, Z., Zuo, J., Wang, K., 2014. Concept and application of anaerobic suspended granular sludge bed (SGSB) reactor for wastewater treatment. *Front. Environ. Sci. Eng.* 8, 797–804. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0597-x>

## 8 CONCLUSÕES GERAIS

### ➤ Em relação ao objetivo específico 1 e 2:

Os testes demonstraram a possibilidade de aplicar os três processos testados com eficiência de remoção de sólidos totais de 46% para sedimentação, 61% para floculação química e 83% para centrifugação. E, também, para carbono, com eficiência de remoção de 45% (sedimentação), 62% (floculação química) e 90% (centrifugação).

Assim, a escolha do processo está diretamente ligada ao destino que será dado para cada fração (sólida e líquida) gerada. Comparando a eficiência de remoção de sólidos e carbono dos três processos aplicados ao digestato de biorreator de lodo, a centrifugação foi o processo escolhido para posterior remoção do nitrogênio, via processo de desamonificação.

Esses resultados confirmaram a hipótese 1 e 2, respectivamente, de que a SSL é eficiente na redução de sólidos e carbono de digestato de biorreator de lodo, a ponto de viabilizar um pós-tratamento, sendo a centrifugação o melhor processo de SSL para posterior tratamento via processo de desamonificação.

### ➤ Em relação ao objetivo específico 3:

Foi possível estabelecer o processo de desamonificação em sistema de reator único, em escala laboratorial. Permitiu-se concluir que o reator em escala laboratorial foi capaz de remover nitrogênio de digestato de biodigestor de lodo, removendo uma carga de nitrogênio total de 0,7 g NT L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e eficiência média de 62%, durante todo o período experimental.

Com a aplicação do digestato, houve um aumento na eficiência de remoção de nitrogênio de 65% (efluente sintético) para 72% (relação C/N de 0,5), porém, na terceira fase, caiu para 50% (relação C/N de 1, concentração de carbono de 300 mg L<sup>-1</sup>), mesmo utilizando estratégias para potencializar a eficiência do processo. Com base nisso, conclui-se que o digestato exerceu influência sobre a remoção de nitrogênio.

Confirma-se, assim, a hipótese três, de que o processo de desamonificação é aplicável ao tratamento de digestato de biorreator de lodos.

### ➤ Em relação ao objetivo específico 4 e 5:

Foi possível observar que as diferentes condições aplicadas (efluente sintético, relações C/N de 0,5 e 1) ao biorreator de desamonificação influenciaram na dinâmica da co-

comunidade microbiana, principalmente, com relação aos principais microrganismos envolvidos no processo, nitrificantes, anammox e crescimento indesejado de desnitrificantes.

Observou-se que houve um aumento não significativo de microrganismos nitrificantes, porém, um aumento significativo na quantidade de microrganismos heterotróficos. Esse maior aumento de desnitrificantes teve uma relação direta com o aumento da concentração de carbono no digestato.

Um dado interessante é que, com o aumento de 0 para 150 mg COT L<sup>-1</sup>, de carbono, houve uma seleção dos microrganismos anammox, aumentando a quantidade de *Ca Jettenia* e não detecção de *Ca Brocadia*. Com a adição de 300 mg COT L<sup>-1</sup>, ocorreu supressão dos microrganismos anammox, em função do demasiado crescimento de desnitrificantes.

Com base nestes dados e no estudo da biodisponibilidade do carbono presente no digestato, foi possível concluir que o tipo de carbono presente no digestato exerce maior influência sobre microrganismos do que a relação C/N, uma vez que, com a adição do carbono, um gênero de anammox prevaleceu, o qual coexistiu com os microrganismos desnitrificantes que cresceram, porém, não suprimiram o processo anammox.

Também, foram confirmadas as hipóteses 4 e 5: as características do digestato interferem na dinâmica da população microbiana envolvida no processo de desamonificação, alterando os gêneros de anammox; o tipo de carbono exerce influência sobre a comunidade microbiana anammox, respectivamente.

## 9 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho recomenda-se a continuação dos estudos nas seguintes linhas de pesquisa:

- Avaliar em escala piloto o processo de centrifugação de digestato de biorreator de lodo.
- Realizar avaliação econômica dos processos de separação sólido-líquido testados.
- Aumentar gradativamente a carga de nitrogênio aplicada, a fim de reduzir a diluição do digestato.
- Avaliar a influência de digestato com carbono mais biodisponível sobre o processo de desamonificação.
- Realizar um estudo com biomarcadores de carbono, avaliando o possível controle do crescimento de microrganismos desnitrificantes.
- Estudar o potencial metabólico da comunidade microbiana envolvida no processo de desamonificação, por meio do estudo metagenômico.

**APÊNDICE 1****FEASIBILITY OF SOLID-LIQUID SEPARATION PROCESSES FOR CARBON AND SOLIDS REMOVAL AS SWINE MANURE DIGESTATE TREATMENT**

Angélica Chini<sup>a</sup>, Camila Ester Hollas<sup>a</sup>, Alice Chiapetti Bolsan<sup>b</sup>, Rúbia Mores<sup>c</sup>, Fabiane Goldschmidt Antes<sup>e</sup>; Helen Treichel<sup>d</sup>, Ailton Kunz<sup>a,d,e</sup>

<sup>a</sup>Department of Agricultural Engineering, PGEAGRI/CCET-UNIOESTE, Cascavel, PR, 85819-110, Brazil

<sup>b</sup>University of Western of Santa Catarina, Joaçaba, SC, 89600-000, Brazil

<sup>c</sup>University of Contestado, Concórdia, SC, 89700-000, Brazil

<sup>d</sup>Department of Environmental Science and Technology, Federal University of Fronteira Sul, Erechim, RS, 99700-000, Brazil.

<sup>e</sup>Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, 89715-899, Brazil

**Corresponding author:** airton.kunz@embrapa.br; Address: Rodovia BR-153, Km 110, Distrito de Tamanduá Caixa Postal: 321 CEP: 89715-899 - Concórdia – SC. Tel.: +55 (49) 3441-0400

**The authors declare no conflict of interest.**

## FEASIBILITY OF SOLID-LIQUID SEPARATION PROCESSES FOR CARBON AND SOLIDS REMOVAL AS SWINE MANURE DIGESTATE TREATMENT

### Abstract

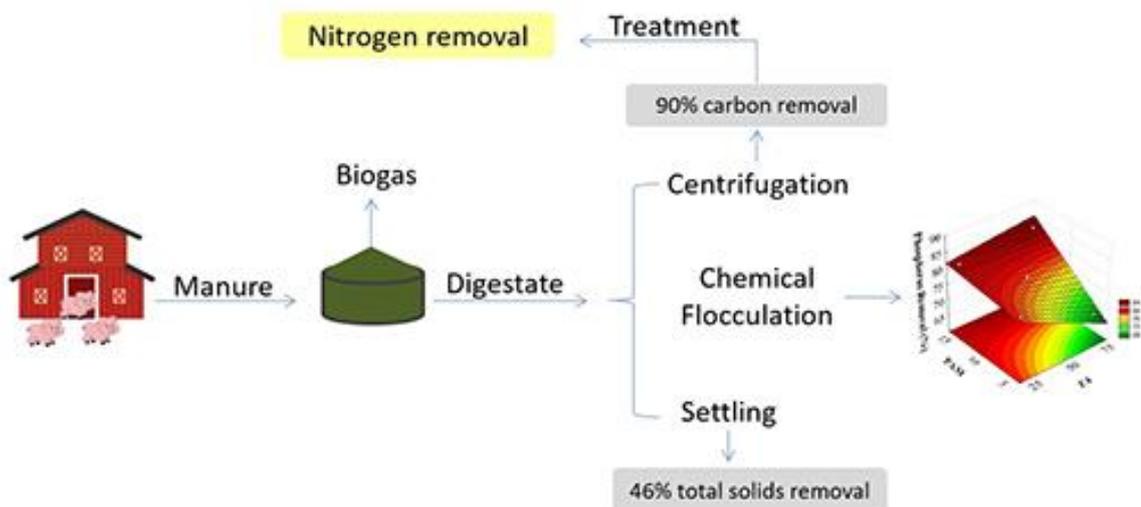
Anaerobic digestion is a technology that converts organic matter into energy. However, in case of CSTR, a digestate with high concentration of solids, undigested carbon and nitrogen could be obtained, which can limit direct application to the soil. Therefore, an additional treatment of digestate is still needed. The nitrogen can be removed from digestate by deammonification process but for this, a pre-treatment to reduce solids and carbon is necessary. In this study, digestate from swine manure pre-treatment using solid-liquid separation (SLS) was studied. The following processes were evaluated: settling, centrifugation and chemical flocculation. The processes performance were evaluated by monitoring the concentrations of the following parameters: C, P, TKN, TAN, TS, VS, FS. Factorial design was used for the optimization of centrifugation and chemical flocculation tests. The present research proves the possibility of applying different SLS processes to digestate, as a pre-treatment, to enable the reduction of carbon and solids. Additionally, high removal of phosphorus was also obtained (up to 74%). Higher removal efficiencies were obtained using centrifugation (90.15% and 83.30% for C and TS, respectively). Therefore, this process could be considered the most appropriate to be used as digestate pre-treatment for nitrogen removal from the liquid fraction by deammonification.

**Keywords:** centrifugation; chemical flocculation; settling; swine manure; wastewater treatment.

### Highlights

- SLS processes applied to digestate enable the reduction of carbon, solids and phosphorous.
- Mathematical models are useful to describe chemical flocculation pre-treatment.
- Centrifugation enable to achieve high efficiency of carbon and solids removal
- Phosphorous reduction from the digestate by centrifugation was higher than 95%.
- 90% of Carbon and 86% of TS can be reduced from digestate generating a dewatered solid.

### Graphical abstract



## 1 Introduction

Anaerobic digestion (AD) is a technology that has recently gained prominence, due to the possibility to convert organic matter into energy, reducing gaseous emissions and replacing the use of fossil fuels. Additionally, the fraction obtained (digestate) is a plant nutrient-rich residue [1,2]. This progress is justified due to the versatility of the feedstock for AD process. Many different types of organic material are suitable such as livestock manure, lignocellulosic biomass (crop residues), food waste, waste activated sludge, organic municipal waste, fruit and vegetable waste and industrial waste [3,4].

The digestate composition varies according to the residue used into the digester and the reactor type [5,6]. The most usual reactor type for AD is a continuous stirred tank reactor (CSTR), which is proper to digest a high solid concentration [7]. In general, AD generates a digestate rich in nutrients, high concentration of ammonium, solids [4,8] and other compounds [9,10]. These characteristics confer to digestate a high agronomic potential, making possible its use as fertilizer on arable land. However, despite AD advantages, the increase of biogas production in some areas could generate a higher digestate amount than the fertilization requirements due to nutrients overload in soil [1]. The digestate transport to other regions with deficiency in nutrients is also not attractive due to the inherent costs [11].

Transportation costs could be reduced by digestate separation into a solid and a liquid fraction [8,12], so that it is a much smaller volume to be transported from one farm to another. To this end, there are different solid-liquid separation (SLS) processes, for instance, mechanical screen separators, settling, centrifugation, reverse osmosis, electrocoagulation and chemical flocculation [4,13,14] and flocculation aid [15].

The total cost of SLS processes is crucial to define the kind of treatment to be employed. Settling, chemical flocculation, mechanical screen separation and centrifugation are simple processes that are cost effective [12,16], while evaporation, ultrafiltration and reverse osmosis are complex and more expensive processes [14,15]. These devices have different efficiencies in separate solids from the liquid fraction [8,17] and there are several studies dealing about their use in wastewater treatments [10,18,19].

The solid fraction generated in the SLS processes has gained more interest in research and development and there are different ways to give it a destination: composting or direct application as organic fertilizer [20,21], biochar production [22], bio-fuel production [23] and other routes for solid fraction valorization [12,16]. The liquid fraction could be used to irrigate fields or also post-treated according to its characteristics [24,25] that in general contain low biogas potential, but with high concentration of total nitrogen (TN) and ammonia nitrogen [10,26]. Thus, high nutrient concentration can limit the application straight to the soil, due to the possible soil and water contamination [23]. Thus, it is necessary to implement a treatment system to reduce the pollutant potential of this waste.

One of the possibilities to remove nitrogen from the liquid fraction is the deammonification process [27–29], which is being studied as an alternative technology for nitrogen removal. The application of this treatment to the digestate after SLS seems to be a promising alternative [30,31]. Nevertheless, just few studies investigate the best SLS process employed to the digestate that came from a CSTR [4,32,33] in order to make possible the nitrogen removal from the liquid fraction. However, a comparison of SLS processes applied to a digestate with similar characteristics was not systematically studied.

Hence, the objective of this study was to evaluate the following SLS processes to a CSTR digestate: settling, centrifugation and chemical flocculation. The optimization of the conditions used for each process were performed looking for a liquid fraction with low concentration of total solids and carbon that could be subsequently submitted to a low cost nitrogen removal process.

## **2 Material and methods**

### ***2.1 Digestate collection***

Raw digestate was sampled from a CSTR digester operating at mesophilic condition (37° C), treating solid waste from a swine manure treatment system on a farm in Videira, Santa Catarina State, Brazil (27°02'38.8"S 51°05'35.7"W). The CSTR was fed at a flow rate of 21 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> and hydraulic retention time (HRT) of 32 d.

### ***2.2 Experimental procedure***

Three SLS processes were tested: settling, centrifugation and chemical flocculation. The experiments were carried out at Embrapa Suínos e Aves laboratory, Santa Catarina, Brazil.

Settling tests were conducted in a conic settler (1L) (in triplicate) and data were collected at intervals of 30 minutes for 3 hours. Centrifugation tests were done in a centrifuge (Sigma model 4-16K) using 250 mL tubes. For chemical flocculation, a 10% (v v<sup>-1</sup>) aqueous solution of polyphenolic organic polymer (Veta Organic®, Brazilian Wattle Extracts, Brazil) commercially available in liquid form containing 30% tannic acid (flavan 3.4-diol) was used as coagulant. The coagulant dilution was done in water under vigorous shaking for 15 minutes. As a coagulation aid, 0.01% (w v<sup>-1</sup>) aqueous solution of polyacrylamide (Activator Q®, Brazilian Wattle Extracts, Brazil), commercially available in granular form was employed. These solutions were prepared prior to use, thus avoiding their degradation and efficiency loss in the different tests. Experiments were performed using a jar-test apparatus (model JT102/3,

Milan, Colombo, Brazil). One litter of effluent was used for each individual test. All tests were performed in triplicate.

### **2.3 Experimental design**

For the evaluation of solid-liquid separation processes, different experimental designs were applied to establish the best condition of each one. Thus, to settling tests the volume of settled sludge during three hours was evaluated. To centrifugation test a central composite rotatable design (CCRD)  $2^2$  was selected to evaluate the variables of centrifugation time ( $C_{time}$ ) (5.9, 10, 20, 30 and 34 minutes) and gravitational force ( $g_{force}$ ) (80, 250, 1400, 2900 and 3800 g). The central point to centrifugation was based in previous data from Popovic et al. (2017) [34].

A factorial design  $2^2$  was selected to understand how the independent variables tannin volumes (TA) (25, 50 and 75 mL L<sup>-1</sup>) and polyacrylamide volumes (PAM) (5, 10 and 15 mL L<sup>-1</sup>) influence in the chemical flocculation of the digestate. The initial polymer amount was based on the work of Van nieuwenhuijzen and Van der Graaf, 2012.

The experimental data were statistically evaluated by StatSoft's Statistica 5.0 software, at a confidence level of 95%. The statistical significance of the models was justified by variance analysis (ANOVA) for the polynomial model with a significance level of 95%, and the veracity of polynomial model was expressed by the determination coefficient  $R^2$ .

### **2.4 Analytical methods**

The processes performance were assessed through the responses of the following physico-chemical parameters: total carbon (C), phosphorous (P), total kjeldahl nitrogen (TKN), total ammoniacal nitrogen (TAN), total solids (TS), volatile solids (VS), fixed solids (FS) and pH.

Carbon was measured by CNHS elemental analyzer (model Flash 2000, Thermo Fisher Scientific) following the manufacturer recommendations. Phosphorus was determined by spectrophotometric molybdovanadate method using a spectrophotometer Cary 50 (Agilent, USA). TKN was determined by using the kjeldahl method (digester and distillation unit, Foss Kjeltac 8100), while TAN was measured by titration method. For TS, VS and FS determinations samples were dried at 105 °C and after calcined at 550 °C. pH was measured by Hanna probe (model HI 98140). All these parameters were quantified according to Rice et al., 2017 [36]. All the chemical analyses were performed in triplicate.

The percent removal of chemical parameters was calculated by Eq. (1)

$$\text{Efficiency (\%)} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad \text{Equation (1)}$$

where  $C_0$  is the initial concentration and  $C_t$  is the final concentration of the constituents.

### 3 Results and discussion

#### 3.1 Digestate characterization

Physico-chemical characteristics of digestate were (average  $\pm$  standard deviation): TS  $21.8 \pm 0.33 \text{ g L}^{-1}$ , VS  $13.5 \pm 0.19 \text{ g L}^{-1}$ , C  $6.7 \pm 0.11 \text{ g L}^{-1}$ , P  $0.97 \pm 0.04 \text{ g L}^{-1}$ , TAN  $2.00 \pm 0.03 \text{ g L}^{-1}$ , TKN  $2.60 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ , alkalinity  $9.57 \text{ gCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  and pH of  $7.79 \pm 0.01$ . The digestate used in the present study showed typical characteristics of waste from anaerobic digestion process in a CSTR reactor [7,9,37].

It is known the difficulty to establish a comparison between digestate from different CSTR systems because of the high variability of digestate characteristics. This happens due to different waste used in anaerobic digestion and operational parameters, as hydraulic retention time, temperature and organic loading rate [3,4]. The digestate usually contains abundant TAN and TKN in ranges from  $0.14$  to  $3.5 \text{ g L}^{-1}$ , phosphorous from  $0.007$  to  $0.4 \text{ g L}^{-1}$  and chemical oxygen demand (COD) from  $0.2$  to  $6.9 \text{ g L}^{-1}$  [37–40]. The digestate is usually slightly alkaline or neutral, with a pH value in the range  $6.7$  to  $9.2$  [10,41].

According to the characteristics showed above it is possible to see the presence of high concentration of nutrients in digestate. Considering that its use as fertilizer is not economically feasible it is necessary to establish an appropriate treatment [42]. However, it is difficult to determine a treatment without establishing an efficient pre-treatment to the digestate because of the high content of solids and organic matter.

#### 3.2 SLS by settling

The settling process is based on the density difference between particles and liquid. Therefore, among the wastewater pre-treatments available, settling is widely used due to its relatively low cost and easy operation [43].

Settling as a digestate pre-treatment strategy showed low settling velocity of solid particles, averaging  $0.02 \text{ m h}^{-1}$ , with a tendency to stabilize sedimentation after 50-60 minutes of experiment. This is because the process presents a superior efficiency to remove discrete particles [43,44].

For this separation process, the removal of solids was average of 46%, 50% and 41% to TS, FS and VS respectively. Moreover, to the parameters carbon and phosphorous the average efficiency removal was respectively 45% and 71%. In addition, TKN and TAN had a removal efficiency of 13% and 8.5%, respectively.

Considering the relatively low cost of settling, the applicability of this process to digestate could be interesting. However, considering the high generation of sludge ( $396 \text{ L m}^{-3}$ ) its applicability is questionable. It is a considerable sludge volume to give destination. This becomes an issue, since it demands transport which is a challenge, considering the liquid and contaminants are still incorporated on it.

### **3.3 SLS by centrifugation**

Centrifugation is a technology that employs equipment's with relatively high costs [34]. However, the separation efficiencies are usually high and it is expected that the sludge volume generated would be lower than other pre-treatments due to compaction. The CCRD planning matrix  $2^2$  of centrifugation tests performed in this study is presented on Table 1 with the experimental responses of dependent variables: C, P, TKN, TAN, TS, VS, FS and pH. It is possible to observe that the nitrogen forms (TAN and TKN) showed different removal efficiencies, which were 11 to 26% for TAN and 18 to 36% for TKN. The best TAN removal condition (26% of efficiency) was at the axial point where the strength variable  $g_{\text{force}}$  reached 3800 g and the best TKN removal condition (36% of efficiency) was when a  $g_{\text{force}}$  of 1400 g was applied.

Total solids removal efficiencies were around 60% until 83%. The maximum efficiency was obtained at 20 minutes with a gravitational force of 3800 g. The solid fraction removal before biological treatment process is an important issue, since it can damage the system that could not be able to remove nitrogen. Additionally, solids discharge into the reactor can cause failure in the nitrogen removal process due to shortage of solids retention time (SRT) [28].

The carbon removal efficiency for all tests was above 56%, reaching 90% efficiency with a gravitational force of 3800 g at 20 minutes. The carbon removal is important for wastewater treatment by deammonification, since heterotrophic denitrifying bacteria can suppress anammox bacteria leading to process failure [28,45]. It has been reported that the anammox activity was severely inhibited and even deteriorated at  $\text{COD} > 500 \text{ mg L}^{-1}$  or  $\text{C/N} > 2.0$  [45]. Shan et al. (2018) [46] also reported similar inhibitory effects on potential rates of anammox, in which the anammox activity was significantly decreased. At this point, the solids and carbon reduction in liquid fraction obtained by centrifugation in this work is a promising result that allows suggesting the treatment by deammonification for nitrogen removal [27].

Phosphorous removal had a variation from 83 to 95% independent of the evaluated condition. This high efficiency probably occurs through the P adsorption on the solid particles [47], mainly in the process of physic-chemical removal through phosphorus precipitation. Calcium can precipitate as calcium phosphate or hydroxyapatite, due to the high concentration of calcium ions in the sludge and alkaline pH [48]. In addition, crystallization of phospho-

rus in struvite structure could also happen due to the presence of  $Mg^{2+}$  and  $NH_4^+$  anions in wastewater [49,50].

The results of P removal are extremely important, because although P is an important nutrient for plant growth, even when the solid material adsorbs it, growth is not available. For organic P to be available it must be hydrolyzed and mineralized by microbial biomass activity, being a fundamental process for orthophosphate ions released that can be absorbed by plants [48,51]. Additionally, in areas with high swine manure production, phosphorus has to be removed before disposal to avoid negative environmental impacts. As discussed for nitrogen, land absorption capacity could be lower than its concentration on effluents [52].

To better understand the variables effect at Figure 1 the Pareto diagrams that graphically illustrate the effects of time and gravitational force and their interactions during the AD centrifugation tests are showed, to the removal responses of TAN, TKN, TS, FS, VS, P and C. The magnitude of each effect corresponds to  $p < 0.05$ .

The increase on gravitational force and time had an effect on efficiency ( $p < 0.05$ ). The  $g_{force}$  presented positive effect for all variables (TAN, TKN, TS, FS VS, P and C) thus increasing the force exerted from 80 to 3800g in a centrifuge separation favors the increased removal efficiency. The same was observed for the time, where the increase of centrifugation time favors the removal. Only for the dependent variable P the time had a negative effect, that could be attributed to the relatively low phosphorous concentration in digestate compared to the other evaluated parameters.

The interaction lack between the variables  $C_{time}$  and  $g_{force}$ , related to the parameter TAN, are justified because ammonia nitrogen is a high soluble specie [53]. This data is consistent with the low efficiency in TAN removal regardless of  $C_{time}$  and  $g_{force}$  applied.

The sludge volume generated was  $100 \text{ L m}^{-3}$ , which is 3.8 times lower than the volume generated on settling process.

### **3.4 SLS by chemical flocculation**

Chemical flocculation consists of adding a coagulant resulting in particles destabilization by reducing the forces that tend to keep them apart. This process has been chosen for wastewater treatment systems as the primary treatment [15].

The factorial design  $2^2$  planning matrix to the chemical flocculation tests with the experimental responses of dependent variables C, P, TKN, TAN, TS, VS, FS and pH is shown on Table 2. It can be observed that the nitrogen forms (TAN and TKN) showed similar removal efficiencies, which vary from 9.5% to 15% for TAN and 16% to 22% for TKN. The best TAN (15.08% of efficiency) and TKN (22.87% of efficiency) removal condition were in the same experimental test where concentrations of TA and PAM of  $75 \text{ mL L}^{-1}$  and  $15 \text{ mL L}^{-1}$

were applied. This condition also allowed the maximum efficiency of removal of solids (60%,  $w v^{-1}$ ), carbon (62%,  $w v^{-1}$ ) and phosphorus (83%,  $w v^{-1}$ ).

Through factorial design  $2^2$  it was possible to investigate the effects of independent variables (TA and PAM) and their interactions on the dependent variables (C, TAN, TKN, TS, FS, VS, P). The results were submitted to variance analysis (ANOVA) and it was verified that the models presented a good fit to TAN, TKN, VS and P responses (Table 3).  $F_{test}$  showed that  $F_{calculated}$  was larger than  $F_{tabulated}$ , with a confidence level of 95%. The correlation coefficient was 0.94231, 0.97958, 0.92737 and 0.98026 for TAN, TKN, VS and P, respectively.

From these models (Table 3) it was generated the surfaces to TAN, TKN, VS and P (Figure 2). It is possible to observe that the behaviors of TAN, TKN, VS and P were similar. As the tannin concentration raised, there was an increase in the removal efficiency of these parameters, with the optimal region with  $75 \text{ mL L}^{-1}$  of TA and  $15 \text{ mL L}^{-1}$  of PAM.

The response surfaces allow us to consider an optimal region between the tannin and polyacrylamide quantity. In addition, it was possible to note that the gradual increase of these variables favors the removal efficiency.

Furthermore, it can be concluded that TS and C had better results when the tannin increased. This is an important result given that TS and C are as important as TAN to subsequent effluent treatment for example on deammonification process.

The sludge volume generated by using the best condition of SLS by chemical flocculation ( $75 \text{ mL L}^{-1}$  of TA and  $15 \text{ mL L}^{-1}$  of PAM) was  $730 \text{ L m}^{-3}$ , meaning that just 27% of the initial volume was able to go to a post treatment. Moreover, the management of this sludge makes impracticable to use chemical flocculation as a digestate pre-treatment, meaning that chemical flocculation is unfeasible as a digestate pre-treatment due to the difficulties in handle this sludge.

### **3.5 Comparison of SLS processes**

In order to compare the SLS processes tested and to help to decide which pre-treatment would be more suitable to subsequent treatment using deammonification process for nitrogen removal the obtained results were compared. The best experimental settling condition (3h), centrifugation ( $C_{time}$  of 20 minutes and  $g_{force}$  of 3800g) and chemical flocculation (TA of  $75 \text{ mL L}^{-1}$  and PAM of  $15 \text{ mL L}^{-1}$ ) were used for comparison (Table 4).

Regarding to TAN removal, the behavior was similar in the three SLS processes evaluated. The settling, chemical flocculation and centrifugation exerts low influence on removing it with low removal efficiency that were 7%, 15%, and 26% respectively.

The total solids removal efficiencies resulting from the best results of settling, chemical flocculation and centrifugation were respectively 46%, 61% and 83%, that respectively represents 1.86, 2.55 and 5.98 times less solids than the initial digestate concentration,

which was  $21.8 \text{ g L}^{-1}$ . These results are in accordance with previous studies that used other SLS processes [12,24].

Comparing the applied tests, centrifugation showed an efficiency of 90% for carbon removing from the liquid fraction, it means that the digestate had  $6.7 \text{ g L}^{-1}$  of carbon and just  $0.66 \text{ g L}^{-1}$  remained in the liquid after this pre-treatment. Meanwhile the chemical flocculation showed 62% of efficiency resulting in  $2.56 \text{ g L}^{-1}$  of carbon in the liquid fraction. Moreover, the settling process presented a carbon concentration of  $3.67 \text{ g L}^{-1}$  corresponding to a removal efficiency of 45%.

The phosphorous concentration was significantly reduced from the digestate by centrifugation, having a concentration of  $1.0 \text{ g L}^{-1}$  in the beginning and afterward, in the liquid fraction, remained a concentration of  $0.05 \text{ g L}^{-1}$ , thus presenting an efficiency of 95% of removal. The other pre-treatments had lower removal efficiencies that were around 83% ( $0.16 \text{ g L}^{-1}$ ) to the chemical flocculation and 74% ( $0.25 \text{ g L}^{-1}$ ) to settling. This high efficiency in removing phosphorous probably is due to the ability of being incorporated into crystallized solid particles and thus removed along with the sludge [47,54].

It was verified a low efficiency in removing TKN and TAN in all separation processes studied. In addition, it was not observed significant changes in the pH values after application of pre-treatments, probably because of buffer capability of TAN. Another parameter that can influence pH is the alkalinity, which was  $9.57 \text{ gCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  in the digestate and it probably had not been removed from the liquid [48]. The pH, TAN and TKN of digestate were respectively 7.79,  $2 \text{ g L}^{-1}$  and  $2.6 \text{ g L}^{-1}$ , and the average values after the three pre-treatments were 7.8 to pH,  $2.07 \text{ g L}^{-1}$  to TKN and  $1.76 \text{ g L}^{-1}$  to TAN.

So, when digestate fractions were separate (solid from liquid), the inorganic nitrogen was not transferred to the solid fraction, just the organic form of it was fixed on the solids [8], which justifies the absence of these parameters variation comparing the digestate to the liquid fractions.

The sludge volume generated in the processes of settling, centrifugation and chemical flocculation was  $377 \text{ L m}^{-3}$ ,  $100 \text{ L m}^{-3}$  and  $730 \text{ L m}^{-3}$  respectively. Besides, the lower sludge volume generated by this kind of residue, centrifugation process is relatively easy to manage since its characteristics contain a higher TS concentration.

The results obtained at this study showed that centrifugation is the most appropriate SLS process to be used to digestate pre-treatment. In practice, the conditions established in centrifugation tests could be performed using commercially available centrifuge decanter equipment. This equipment could be installed after the CSTR and the liquid fraction submitted to a nitrogen removal process

## 4 Conclusions

The present study reveals the possibility to apply different solid-liquid separation processes to digestate to enable the reduction of solids, carbon and phosphorous concentrations.

By the three processes tested, it was possible to verify maximum efficiencies with centrifugation at a time of 20 minutes and a gravitational force of 3800g. At this condition, efficiency of total solids and carbon removal of 83% and 90% were obtained, resulting in an effluent with 3.5 g TS L<sup>-1</sup> and 0.6 g C L<sup>-1</sup>. The sludge volume generated was of 100 L m<sup>-3</sup>, which was 3.77 times lower than the sludge volume generated by settling and 7.3 times lower than chemical flocculation.

## Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the support provided by the project SISTRATES FUNTEC-BNDES, CNPq and CAPES.

## References

- [1] Soler-Cabezas JL, Mendoza-Roca JA, Vincent-Vela MC, et al. Simultaneous concentration of nutrients from anaerobically digested sludge centrate and pre-treatment of industrial effluents by forward osmosis. *Sep. Purif. Technol.* [Internet]. 2018;193:289–296. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2017.10.058>.
- [2] Pabón-Pereira CP, De Vries JW, Slingerland MA, et al. Impact of crop-manure ratios on energy production and fertilizing characteristics of liquid and solid digestate during codigestion. *Environ. Technol. (United Kingdom)* [Internet]. 2014;35:2427–2434. Available from: <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.908242>.
- [3] Risberg K, Cederlund H, Pell M, et al. Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;61:529–538. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.016>.
- [4] Akhiar A, Battimelli A, Torrijos M, et al. Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;59:118–128. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.005>.
- [5] Tampio E, Salo T, Rintala J. Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2016 [cited 2018 Apr 3];169:293–302. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716300019>.
- [6] Tápparo DC, Viancelli A, Amaral AC do, et al. Sanitary effectiveness and biogas yield by anaerobic co-digestion of swine carcasses and manure. *Environ. Technol.* [Internet]. 2018;3330:1–9. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2018.1508256>.
- [7] Amaral AC do, Kunz A, Radis Steinmetz RL, et al. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. *J. Environ. Manage.* 2016;168:229–235.
- [8] Jørgensen K, Jensen LS. Chemical and biochemical variation in animal manure solids separated using different commercial separation technologies. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2009;100:3088–3096. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.065>.
- [9] Bayard R, Gonzalez-Ramirez L, Guendouz J, et al. Statistical Analysis to Correlate Bio-physical and Chemical Characteristics of Organic Wastes and Digestates to Their

- Anaerobic Biodegradability. *Waste and Biomass Valorization*. 2015;6:759–769.
- [10] Xia A, Murphy JD. Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. *Trends Biotechnol.* [Internet]. 2016;34:264–275. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.12.010>.
- [11] Rehl T, Müller J. Life cycle assessment of biogas digestate processing technologies. *Resour. Conserv. Recycl.* [Internet]. 2011;56:92–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.08.007>.
- [12] Zarebska A, Karring H, Christensen ML, et al. Ammonia Recovery from Pig Slurry Using a Membrane Contactor—Influence of Slurry Pretreatment. *Water. Air. Soil Pollut.* 2017;228.
- [13] Mores R, Treichel H, Zakrzewski CA, et al. Remove of phosphorous and turbidity of swine wastewater using electrocoagulation under continuous flow. *Sep. Purif. Technol.* 2016;171:112–117.
- [14] Møller HB, Sommer SG, Ahring BK. Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2002;85:189–196. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852402000470>.
- [15] Kooijman G, De Kreuk MK, Van Lier JB. Influence of chemically enhanced primary treatment on anaerobic digestion and dewaterability of waste sludge. *Water Sci. Technol.* 2017;76:1629–1639.
- [16] Tambone F, Orzi V, D'Imporzano G, et al. Solid and liquid fractionation of digestate: Mass balance, chemical characterization, and agronomic and environmental value. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2017;243:1251–1256. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.130>.
- [17] Magrí A, Giovannini F, Connan R, et al. Nutrient management from biogas digester effluents: a bibliometric-based analysis of publications and patents. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2017;14:1739–1756.
- [18] Li X, Guo J, Dong R, et al. Properties of plant nutrient: Comparison of two nutrient recovery techniques using liquid fraction of digestate from anaerobic digester treating pig manure. *Sci. Total Environ.* [Internet]. 2016;544:774–781. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.172>.
- [19] Tao W, Fattah KP, Huchzermeier MP. Struvite recovery from anaerobically digested dairy manure: A review of application potential and hindrances. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2016;169:46–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.006>.
- [20] Zeng Y, De Guardia A, Dabert P. Improving composting as a post-treatment of anaerobic digestate. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2016;201:293–303. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.013>.
- [21] Czekala W, Dach J, Dong R, et al. Composting potential of the solid fraction of digested pulp produced by a biogas plant. *Biosyst. Eng.* 2017;160:25–29.
- [22] Hung CY, Tsai WT, Chen JW, et al. Characterization of biochar prepared from biogas digestate. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;66:53–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.034>.
- [23] Pedrazzi S, Allesina G, Belló T, et al. Digestate as bio-fuel in domestic furnaces. *Fuel Process. Technol.* [Internet]. 2015;130:172–178. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.10.006>.
- [24] 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. *J. Environ. Manage.* [Internet]. 2013;131:170–184. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.021>.
- [25] Mousavi SA, Mehralian M, Khashij M, et al. Effect of air flow rate and C/N ratio on biological nitrogen removal through the CANON process treating reject water. *Environ. Technol. (United Kingdom)* [Internet]. 2017;0:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2017.1369578>.
- [26] Paccanelli N, Teli A, Scaglione D, et al. Comparison based on environmental effects of nitrogen management techniques in a manure digestate case study. *Environ. Technol.* [Internet]. 2015;36:3176–3185. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2015.1055820>.

- [27] Chini, Kunz A, Viancelli A, et al. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. *Water. Air. Soil Pollut.* 2016;227.
- [28] Feng Y, Lu X, Al-Hazmi H, et al. An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2017;16:541–568.
- [29] Connan R, Dabert P, Le Roux S, et al. Characterization of a combined batch-continuous procedure for the culture of anammox biomass. *Ecol. Eng.* [Internet]. 2017;106:231–241. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.003>.
- [30] Sheets JP, Yang L, Ge X, et al. Beyond land application: Emerging technologies for the treatment and reuse of anaerobically digested agricultural and food waste. *Waste Manag.* [Internet]. 2015;44:94–115. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.037>.
- [31] Miao Y, Peng Y, Zhang L, et al. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chem. Eng. J.* [Internet]. 2018;334:664–672. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.072>.
- [32] Ilmi M, Kloekhorst A, Winkelman JGM, et al. Process intensification of catalytic liquid-liquid solid processes: Continuous biodiesel production using an immobilized lipase in a centrifugal contactor separator. *Chem. Eng. J.* [Internet]. 2017;321:76–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.03.070>.
- [33] Karthikeyan OP, Visvanathan C. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: A review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2013;12:257–284.
- [34] Popovic O, Gioelli F, Dinuccio E, et al. Centrifugation of digestate: The effect of chitosan on separation efficiency. *Sustain.* 2017;9:1–9.
- [35] van nieuwenhuijzen A, Van der Graaf J. handbook on particle separation processes. 2012.
- [36] Rice EW, Baird RB, Eaton AD, et al. Standard methods for the examination of water and wastewater [Internet]. 23rd ed. Bridgewater L, editor. Washington: American Public Health Association; 2017. Available from: <https://www.standardmethods.org>.
- [37] Lu Y, Liaquat R, Astals S, et al. Relationship between microbial community, operational factors and ammonia inhibition resilience in anaerobic digesters at low and moderate ammonia background concentrations. *N. Biotechnol.* [Internet]. 2018; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871678417306957>.
- [38] Svehla P, Radechovska H, Pacek L, et al. Nitrification in a completely stirred tank reactor treating the liquid phase of digestate: The way towards rational use of nitrogen. *Waste Manag.* [Internet]. 2017;64:96–106. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.041>.
- [39] Törnwall E, Pettersson H, Thorin E, et al. Post-treatment of biogas digestate—An evaluation of ammonium recovery, energy use and sanitation. *Energy Procedia* [Internet]. 2017;142:957–963. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.153>.
- [40] Zhang Z, Li Y, Chen S, et al. Simultaneous nitrogen and carbon removal from swine digester liquor by the Canon process and denitrification. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2012;114:84–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.006>.
- [41] Zhang ZZ, Xu JJ, Hu HY, et al. Insight into the short- and long-term effects of inorganic phosphate on anammox granule property. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2016;208:161–169. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.097>.
- [42] Peng W, Pivato A, Lavagnolo MC, et al. Digestate application in landfill bioreactors to remove nitrogen of old landfill leachate. *Waste Manag.* [Internet]. 2018; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X18300102>.
- [43] Hjorth M, Christensen K V, Christensen ML, et al. Soli-liquid separation of animal slurry in theory and practice. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2010;30:153–180.
- [44] Berk Z. Food Process Engineering and Technology. *J. Chem. Inf. Model.* 2013.
- [45] Zhou X, Zhang Z, Zhang X, et al. A novel single-stage process integrating simultaneous COD oxidation, partial nitritation-denitritation and anammox (SCONDA) for treating ammonia-rich organic wastewater. *Bioresour. Technol.* [Internet]. 2018;254:50–55. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852418300713>.
- [46] Shan J, Yang P, Shang X, et al. Anaerobic ammonium oxidation and denitrification in a paddy soil as affected by temperature, pH, organic carbon, and substrates. *Biol. Fertil.*

Soils. 2018;12:1–8.

[47] Kunz A, Bortoli M, Higarashi MM. Avaliação Do Manejo De Diferentes Substratos Para Compostagem De Dejetos Líquidos De Suínos. *Acta Ambient. Catarinense*. 2008;5:7–19.

[48] Fernandes GW, Kunz A, Steinmetz RLR, et al. Chemical phosphorus removal: A clean strategy for piggery wastewater management in Brazil. *Environ. Technol. (United Kingdom)*. 2012;33:1677–1683.

[49] Laridi R, Auclair JC, Benmoussa H. Laboratory and pilot-scale phosphate and ammonium removal by controlled struvite precipitation following coagulation and flocculation of swine wastewater. *Environ. Technol.* 2005;26:525–536.

[50] Capdevielle A, Sýkorová E, Biscans B, et al. Optimization of struvite precipitation in synthetic biologically treated swine wastewater-Determination of the optimal process parameters. *J. Hazard. Mater.* 2013;244–245:357–369.

[51] Jeon S, Kim DJ. Enhanced phosphorus bioavailability and heavy metal removal from sewage sludge ash through thermochemical treatment with chlorine donors. *J. Ind. Eng. Chem. [Internet]*. 2018;58:216–221. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.028>.

[52] Kunz A, Miele M, Steinmetz RLR. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. *Bioresour. Technol. [Internet]*. 2009;100:5485–5489. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.039>.

[53] Stein L y., Klotz MG. The nitrogen cycle. *Curr. Biol.* 2016;26:83–101.

[54] Vivian M, Kunz A, Stolberg J, et al. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.* 2010;14:320–325.

**Table 1** - Matrix of CCRD design (coded and real values) and the responses related to gravitational force and time. Results in % correspond to the removal efficiency

$g_{\text{Force}}$ (g)	$C_{\text{time}}$ (minutes)	TAN (%)	TKN (%)	TS (%)	FS (%)	VS (%)	C (%)	P (%)	pH
-1(250)	-1 (10)	12.56	18.22	60.93	59.03	62.08	56.57	83.01	7.80
1 (2900)	-1 (10)	11.56	25.19	74.52	69.33	77.68	76.57	91.81	7.80
-1(250)	1 (30)	13.07	22.48	65.89	63.39	67.33	62.84	86.53	7.80
1 (2900)	1 (30)	13.07	28.68	80.49	72.48	85.37	84.93	94.61	7.80
0 (1400)	0 (20)	14.07	25.97	74.24	69.82	76.94	78.36	95.54	7.80
0 (1400)	0 (20)	14.57	26.74	74.79	69.94	77.83	79.40	95.54	7.80
0 (1400)	0 (20)	14.57	27.13	75.62	70.30	78.79	75.97	95.75	7.80
-1.41 (80)	0 (20)	23.55	27.52	68.82	64.00	71.77	68.94	89.38	8.02
1.41 (3800)	0 (20)	26.16	31.78	83.29	74.06	88.91	90.13	95.24	8.05
0 (1400)	-1.41 (5.9)	20.34	35.66	76.12	68.85	80.56	78.20	95.37	8.07
0(1400)	1.41 (34)	19.32	34.50	81.96	74.18	86.70	88.09	95.24	8.09

**Table 2** - Factorial design matrix (coded and real values) and the responses in relation to chemical flocculation tests. Values in parenthesis are tannin (TA) and polyacrylamide (PAM) volumes added respectively. Results in (%) correspond to the removal efficiency

TA (mL L <sup>-1</sup> )	PAM (mL L <sup>-1</sup> )	TAN (%)	TKN (%)	TS (%)	FS (%)	VS (%)	C (%)	P (%)	pH
-1 (25)	-1 (5)	9.55	16.28	51.70	53.45	50.70	50.45	77.82	7.98
1 (75)	-1 (5)	10.05	16.67	46.97	56.12	41.39	43.88	67.88	7.73
-1 (25)	1 (15)	12.56	19.38	54.87	52.00	56.39	54.93	81.45	7.86
1 (75)	1 (15)	15.08	22.87	60.88	60.85	60.90	61.79	83.42	7.76
0 (50)	0 (10)	12.56	19.38	52.48	57.21	52.33	52.09	76.58	7.75
0 (50)	0 (10)	11.56	19.38	56.15	57.82	55.14	56.87	78.24	7.78
0 (50)	0 (10)	11.06	18.60	57.53	57.58	49.37	57.91	78.86	7.79

**Table 3** - Mathematical model to TAN, TKN, VS and P in the chemical flocculation

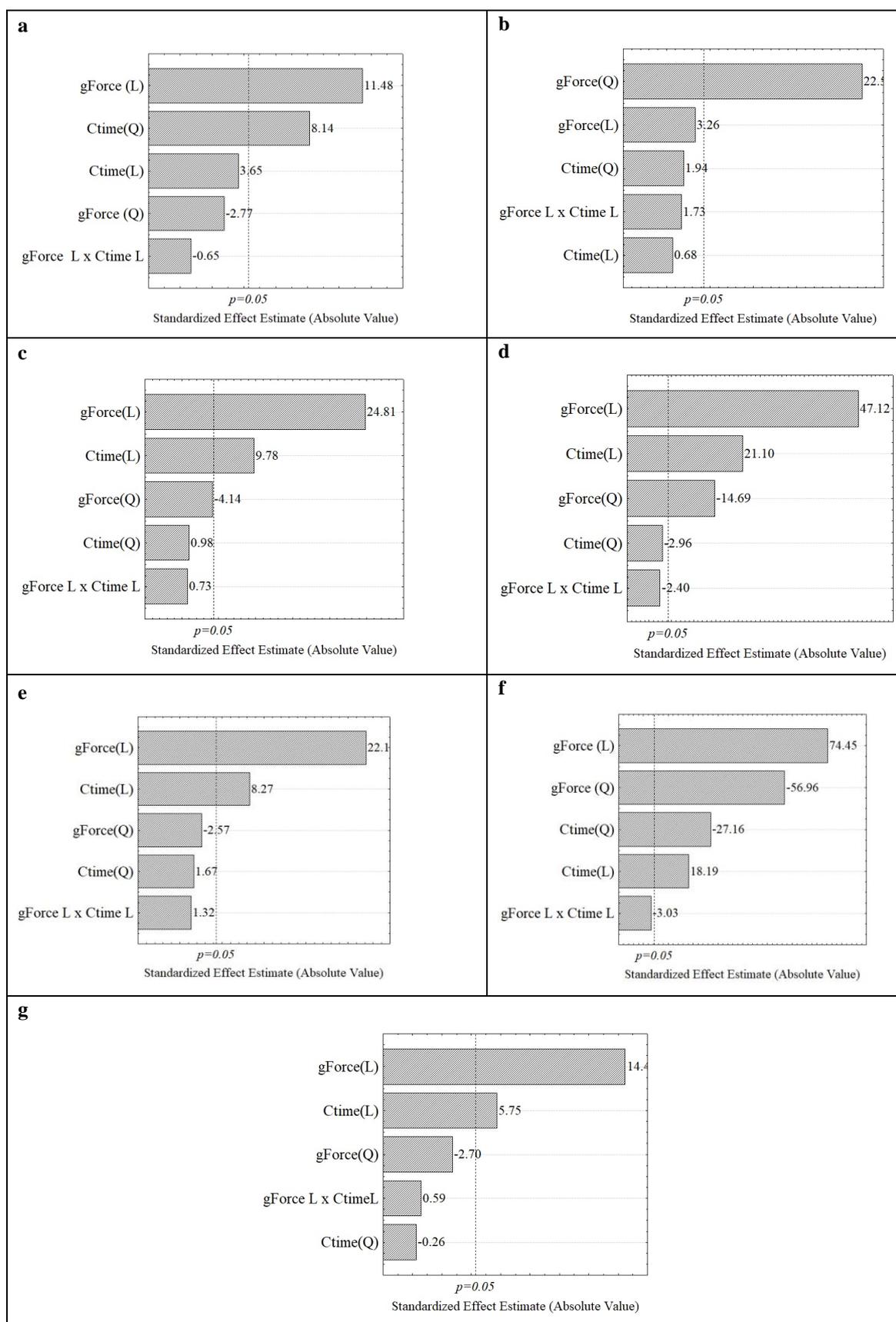
Parameter	Model	Fcal/Ftab	R <sup>2</sup>
<b>TAN</b>	Efc. % = 11.81+1.51*TA+4.02*PAM +1.01* PAM * TA	1.76	0.94231
<b>TKN</b>	Efc. % = 18.80+1.94*TA+4.65* PAM+1.55* PAM * TA	5.16	0.97958
<b>VS</b>	Efc. % =52.35-2.40*TA+12.60* PAM +6.91* PAM * TA	1.37	0.92737
<b>P</b>	Efc. % = 77.64-3.99*TA+9.58* PAM +5.96* PAM * TA	5.35	0.98026

Efc. = Efficiency

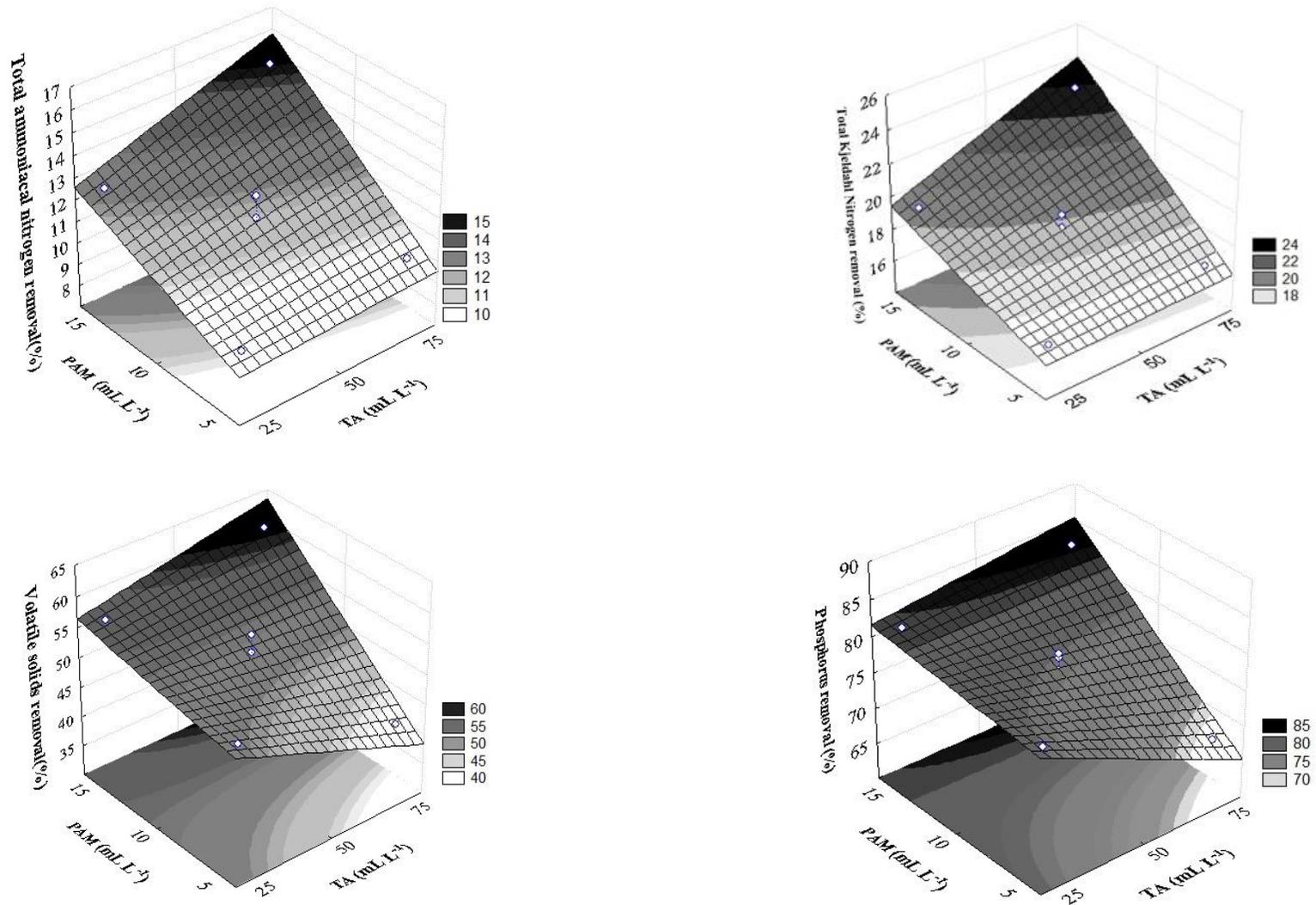
**Table 4** – Ratio between final and initial concentration obtained in settling, chemical flocculation and centrifugation tests ( $C_t/C_0$ )

	TAN	TKN	TS	FS	VS	C	P
Settling	0.93	0.96	0.53	0.48	0.57	0.55	0.25
Chemical flocculation	0.85	0.76	0.39	0.39	0.39	0.38	0.16
Centrifugation	0.74	0.68	0.16	0.26	0.11	0.09	0.05

Where digestate concentrations in g L<sup>-1</sup>: TAN= 2.0, TKN= 2.6 g L<sup>-1</sup>, TS= 21.8, FS= 8.3, VS= 13.5, C=6.7, P=1.0.



**Figure 1** - Pareto chart for TAN (a), TKN (b), TS (c), FS (d), VS (e), P (f) and C (g) removal on centrifugation tests.



**Figure 2** – Surfaces of TAN, TKN, VS and P for chemical flocculation tests. The increase in color intensity in graphs corresponds to the removal efficiency increase. TA= tannin and PAM= polyacrylamide

**APÊNDICE 2****EVALUATION OF DEAMMONIFICATION REACTOR PERFORMANCE AND MICROORGANISMS COMMUNITY DURING TREATMENT OF DIGESTATE FROM SWINE SLUDGE CSTR BIODIGESTER WITH DIFFERENT ORGANIC CARBON LOADING RATES**

Angélica Chini<sup>a</sup>, Alice Chiapetti Bolsan<sup>b</sup>, Camila Ester Hollas<sup>a</sup>, Fabiane Goldschmidt Antes<sup>c</sup>, Gislaine Fongaro<sup>d</sup>, Helen Treichel<sup>e</sup>, Airton Kunz<sup>a,c,e</sup>

<sup>a</sup>Western Paraná State University, 85819-110 – Cascavel – PR – Brazil

<sup>b</sup>Western Santa Catarina University, 89600-000 – Joaçaba – SC – Brazil

<sup>c</sup>Embrapa Suínos e Aves, 89715-899, Concórdia – SC – Brazil

<sup>d</sup>Santa Catarina Federal University, 88040-900 – Florianópolis – SC – Brazil

<sup>e</sup>Federal University of Fronteira Sul, 99700-000 – Erechim – RS – Brazil

**Corresponding author:** airton.kunz@embrapa.br; Address: Rodovia BR-153, Km 110, Distrito de Tamanduá Caixa Postal: 321 CEP: 89715-899 - Concórdia – SC. Tel.: +55 (49) 3441-0400

**The authors declare no conflict of interest.**

## EVALUATION OF DEAMMONIFICATION REACTOR PERFORMANCE AND MICROORGANISMS COMMUNITY DURING TREATMENT OF DIGESTATE FROM SWINE SLUDGE CSTR BIODIGESTER WITH DIFFERENT ORGANIC CARBON LOADING RATES

### ABSTRACT

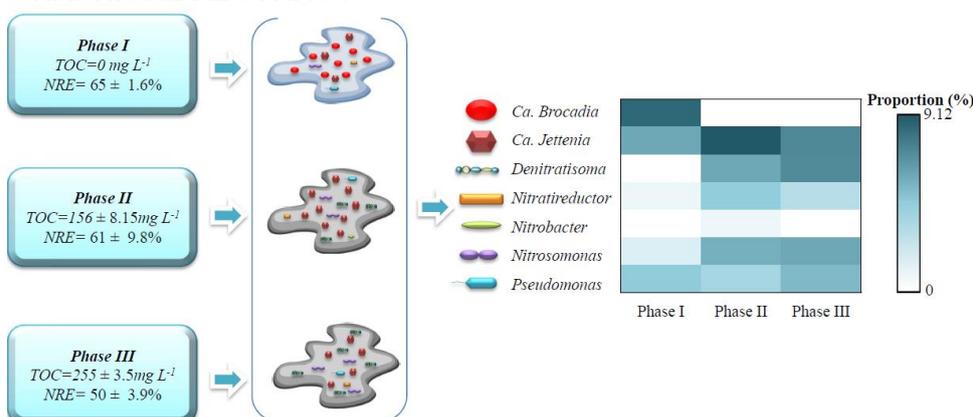
Digestate from anaerobic processes still contains relatively high amount of total organic carbon (TOC) that can inhibit deammonification. In this sense, the present study investigated the interference of TOC in a lab-scale expanded granular sludge bed (EGSB) deammonification reactor treating digestate from a continuous stirred tank reactor (CSTR) swine sludge biodigester. Additionally, the microorganisms community was analyzed when the process was submitted to different operational conditions. The study was divided into three phases according to the C/N ratio (0, 0.5 and 1 for phase I, phase II and phase III, respectively). At phase I the average nitrogen removal efficiency (NRE) was  $65 \pm 1.6\%$ . With the increase of TOC in phase II ( $156 \pm 8.15 \text{ mg L}^{-1}$ ) the average NRE was  $61 \pm 9.8\%$  which is statically equivalent to phase I ( $p < 0.05$ ). On the other hand, at phase III (TOC was increased to  $255 \pm 3.50 \text{ mg L}^{-1}$ ) the NRE decreased to  $50 \pm 3.9\%$  which was 22% lower than in phase II. Stoichiometric coefficients of  $\text{N}_2$  was close to theoretical values during all experimental phases, while stoichiometric coefficient of  $\text{N-NO}_3^-$  was lower than theoretical values specially during phase III. *Ca. Jettenia* was favored when the reactor was fed with digestate although its proportion decreased in phase III. Thus, at the conditions employed in the present study it is recommended to use a C/N ratio of 0.5 (TOC concentration around  $156 \text{ mg L}^{-1}$ ) to treat digestate by deammonification process, in order to not diminish anammox microorganisms abundance. Thereby, the microorganisms community can be modulated based on carbon and nitrogen loading rates of a deammonification reactor for swine manure treatment purpose.

**KEYWORDS:** Anammox, Organic carbon, Nitrogen removal, Animal wastewater.

### HIGHLIGHTS:

- Swine sludge C/N ratio increment has a negative effect on deammonification process.
- TOC is more important to deammonification process than C/N ratio.
- Deammonification process had a NRE of  $61 \pm 9.8\%$  with a C/N ratio of 0.5.
- The increase of organic carbon caused suppression of *Ca. Brocadia*.
- *Ca. Jettenia* was predominant anammox bacteria detectable in the bioreactor.

### GRAPHICAL ABSTRACT



**LIST OF ABBREVIATIONS:**

AOB – ammonium oxidizing bacteria;

BOD – biological oxygen demand;

CLR – carbon loading rate;

COD – chemical oxygen demand;

CRR – carbon removal rate;

CSTR – continuous stirred tank reactor;

DO – dissolved oxygen;

EGSB – expanded granular sludge bed;

NLR – nitrogen loading rate;

NRE – nitrogen removal efficiency;

NRR – nitrogen removal rate;

TAN – total ammoniacal nitrogen;

TOC – total organic carbon;

UV-ABS – ultraviolet absorbing organic constituent determination;

$\mu\text{NH}_3\text{-N}$  – specific ammonia consumption rate.

## 1 INTRODUCTION

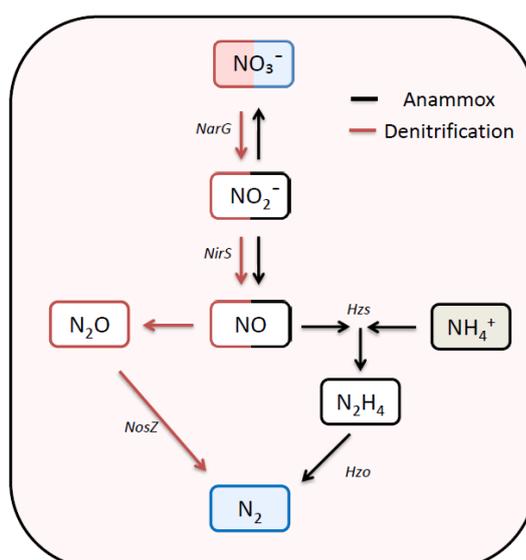
Anaerobic digestion is a technology that convert organic matter into energy, reducing gaseous emissions and replacing the use of fossil fuels (Amaral et al., 2016; Magrí et al., 2013). In addition, digestate is generated as a plant nutrient-rich residue. Digestate could be used as organic fertilizer or also post-treated according to its characteristics, considering that this effluent contains low-biogas potential and high concentration of total nitrogen (TN) (Amaral et al., 2016).

High nutrient concentration can limit the digestate application directly in the soil due to the possibility of environmental contamination. In this way arise the need to implement a treatment system to reduce the digestate pollutant potential (Magrí et al., 2013). One of the possibilities that is being studied as alternative technology to remove nitrogen is the deammonification process (Chini et al., 2016; Feng et al., 2017).

Deammonification process has been developed as one of the most efficient and economical processes to remove ammonia from wastewater (Miao et al., 2018). Other features of this process are the reduction of energy consumption, low sludge production and no need for organic carbon source compared to other biological processes for nitrogen removal (Hollas et al., 2019; Wang et al., 2016; X. Wang et al., 2018).

For deammonification process operation in one-stage, conditions for development of microorganisms responsible for each process (anammox and ammonium oxidizing bacteria (AOB)) must be supplied (Baeten et al., 2019; Feng et al., 2017). The influence of some factors has already been proven for suppressing or out-selecting the microorganism involved, such as concentration of free nitrous acid (Pedrouso et al., 2017), free ammonia (Liu et al., 2019), dissolved oxygen (DO) (Chini et al., 2016), salt and heavy metals (Feng et al., 2017). Other factor can also influence the microorganism community is temperature (X. Wang et al., 2018) and reactor configuration (Zheng et al., 2014).

Furthermore, chemical oxygen demand (COD) or total organic carbon (TOC) to nitrogen (C/N) ratio is often referred as one of the most critical factors (Miao et al., 2018). High TOC concentration would favor denitrifying bacteria development because it provides electron donor to denitrifying bacteria as seen at Figure 1 (Dai et al., 2019; D. Wang et al., 2018). This process still could be favored by deammonification stoichiometric equation where the produced nitrate provides external substrate for denitrification (Cao et al., 2018; Chini et al., 2016).



**Fig. 1.** An overview of anammox and denitrification and their functional genes in the nitrogen metabolism pathways. Adapted from D. Wang et al., (2018).

In a deammonification process the anammox, nitrifying and denitrifying microorganisms were observed to be present and active in the anaerobic inner part of the biofilm, so they coexist composing an effective community (Baeten et al., 2019; Dai et al., 2019). In addition, *Proteobacteria* and *Planctomycete* phylum were the dominant heterotrophic and autotrophic bacteria responsible for nitrogen removal (Wang et al., 2019). Anammox microorganisms (phylum *Planctomycete*) is the main responsible for nitrogen removal efficiency in the deammonification process, and they are directly influenced by organic matter (Miao et al., 2018). In contrast, nitrifying microorganisms are more resistant to TOC concentrations (TOC loading rate around to  $2 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) (De Prá et al., 2012).

On the other hand, excessive TOC leads to prevalence of denitrifying bacteria over anammox bacteria, which is detrimental to the deammonification system (Almeida et al., 2018). Therefore, the appropriate modulation of deammonification microorganisms as function of TOC content for maintaining the stability and effectiveness of the system needs to be investigated.

It is expected that the digestate from a biogas digester treating sludge (e.g. Continuous stirred tank reactor - CSTR) is different than wastewater from biogas digesters treating directly swine manure or other agroindustry wastes or even synthetic wastewater as reported in most of published studies (Miao et al., 2018; Wang et al., 2017). Therefore, there is a lack of information about process performance and response of deammonification community to digestate with different biodegradable carbon at different C/N ratio. Additionally, it is necessary to identify the optimized range of organic matter concentration within anammox bacteria and AOB can coexist, without excessive heterotrophic growth and deammonification process suppression.

In this sense, the aims of this study were to evaluate the impact of carbon concentration and C/N ratio on nitrogen removal efficiency and the effect on the microorganisms community abundance of a deammonification reactor for swine sludge treatment purpose. An expanded granular sludge bed (EGSB) reactor was used and the experiment was started by feeding with synthetic wastewater without addition of organic carbon source. Afterwards the feeding was changed to digestate from a swine sludge CSTR biodigester and two concentrations of organic carbon were evaluated to find the optimum organic carbon concentration for deammonification process.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Experimental system

A glass lab-scale cylindrical EGSB reactor with a working volume of 1 L (Chini et al., 2016) was used for experimental development. The influent was pumped into the EGSB reactor via a peristaltic pump (BP-200, Milan). The air was intermittently supplied (15 min on / 15 min off) using a compressed pump (A230, Big Air) connected to an air diffuser and measured by an air flowmeter (Gilmont, GF-9260). The reactor was operated at hydraulic retention time of 6 h, with intermittent aeration and feed cycles controlled by programmable logical controller (PLC Dexter, model DX series 100) and temperature kept at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . The dissolved oxygen (DO) remained at  $0.47 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$  during all experimental phases. No sludge was withdrawn during the whole experiment.

### 2.2 Seed sludge and wastewater properties

The reactor was inoculated with nitrifying and anammox sludge obtained from lab-scale reactors (registered at Embrapa Suínos e Aves microorganism bank BRMSA 0323), previously acclimated which had been operated at stable conditions (Casagrande et al., 2013; De Prá et al., 2012). The sludge ratio between anammox and nitrifying biomass was determined by their specific nitrogen consumption rates obtained at activity batch tests according to De Prá et al., (2016). The results obtained at batch testes were: to nitrifying sludge the specific ammonia consumption rate ( $\mu_{\text{NH}_3\text{-N}}$ ) was  $54 \text{ mgNH}_3\text{-N gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$  and for anammox sludge the  $\mu_{\text{NH}_3\text{-N}}$  was  $21 \text{ mgNH}_3\text{-N gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$  and the specific nitrite consumption rate ( $\mu_{\text{NO}_2\text{-N}}$ ) was  $27 \text{ mg NO}_2\text{-N gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . The system operation was divided into three phases according to the C/N ratio as shown in Table 1. The experimental phases were selected to evaluate the effect on the deammonification process of different organic carbon loading rates (consequently changing the C/N ratio). Phase I was used as a control and the concentrations

of carbon and ammoniacal nitrogen were defined based on other works described in literature were different C/N ratios were used (Miao et al., 2018).

**Table 1.** Operational parameters to deammonification reactor at different operational phases

Parameter	Phase I	Phase II	Phase III
Time, days	0-49	50-91	92-122
C/N ratio	-	0.5	1.0
Type	Synthetic	CSTR digestate	CSTR digestate
CLR, g TOC L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	-	0.57 ± 0.04	1.01 ± 0.01
NLR, g N L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1.24 ± 0.02	1.21 ± 0.03	1.19 ± 0.07

CLR: carbon loading rate; NLR: nitrogen loading rate.

The synthetic wastewater used in phase I was prepared according to Magrí et al. (2012) containing the following salts at respective concentrations (g L<sup>-1</sup>): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.42), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.10), NaHCO<sub>3</sub> (2.91), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.39), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.06), FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.008), CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0.008) and trace nutrient solution was added at 100 µL L<sup>-1</sup>.

Sludge digestate was sampled from a CSTR digester operating at mesophilic condition (37 °C), treating sludge from a swine manure treatment plant located in Videira, Santa Catarina – Brazil (27°02'38.8"S 51°05'35.7"W). The digestate characteristics are shown at Table 2. Before fed the system the digestate was pretreated in a centrifuge for 30 minutes with a gravitational force of 3800 g and after diluted to give the required C/N ratio in phases II and III. For that, the centrifuged digestate was diluted 6.5 times until to reach ammonia concentration of 300 mg L<sup>-1</sup>.

**Table 2.** Average digestate composition used to fed the deammonification reactor

Parameter	Response
TS, g L <sup>-1</sup>	21.8 ± 0.3
VS, g L <sup>-1</sup>	13.5 ± 0.2
TC, g L <sup>-1</sup>	6.7 ± 0.1
P <sub>tot</sub> , g L <sup>-1</sup>	0.97 ± 0.04
TAN, gN L <sup>-1</sup>	2.00 ± 0.03
TKN, gN L <sup>-1</sup>	2.60 ± 0.01
Alkalinity, gCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	9.57 ± 0.05
BOD, mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	220 ± 8
UV-ABS, cm <sup>-1</sup>	36.6
pH	7.79 ± 0.01

### 2.3 Analytical methods

The influent and effluent of EGSB reactor were daily sampled and analyzed for total ammoniacal nitrogen (TAN, expressed as  $\text{NH}_3\text{-N}$ ),  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NO}_2^-$ -N, TOC and alkalinity. DO and pH were monitored in aerobic and anoxic stages, and at the end of each phase (I, II and III) the specific nitrogen consumption rates were obtained.

The TOC was determined using a TOC analyzer (TOC-LCPH/CPN, Shimadzu, Kyoto, Japan) following the manufacturer recommendations. Total Carbon (TC) was measured by CNHS elemental analyzer (model Flash 2000, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) following the manufacturer recommendations. Phosphorus was determined by spectrophotometric molybdovanadate method using a spectrophotometer Cary 50 (Agilent, Santa Clara, USA).  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{NO}_2^-$ -N were measured by colorimetric method in a flow injection analysis system (model 2500, Fialab Instruments, Seattle, USA) using methods adapted from Rice et al. (2017). Alkalinity determination was performed in an automatic titrator (model 848 Titrino plus, Metrohm, Herisau, Switzerland).

For total suspended solids (TSS), volatile suspended solids (VSS), fixed suspended solids (FSS) determinations, samples were dried at 105 °C and after calcined at 550 °C. pH and DO were measured by portable probes from Hanna probe (model HI 8424) and DO meter (model 200A, EcoSense), respectively. Biological oxygen demand (BOD) was determined using dissolved oxygen consumption method on samples incubated during 5 days ( $\text{BOD}_5$ ). UV-absorbing organic constituents (UV-ABS) was measured following the ultraviolet absorption method using a spectrophotometer (Cary 60 UV-Vis, Agilent, Santa Clara, USA). Absorbance was measured at 253.7 nm on previously filtered samples using 0.45  $\mu\text{m}$  TFE filters. All analytical parameters were quantified according to Rice et al. (2017) and analyses were performed in triplicate following standardized protocols based on good laboratory practices and quality assurance policy. Also, the stoichiometric coefficients were calculated according to Cao et al. (2018), using concentrations values of nitrogen chemical species, alkalinity and air supplied to the reactor.

### 2.4 Microorganisms community evaluation

Five grams of sludge samples were collected on days 1, 88 and 122 from the reactor comprising the three operational phases to compare microbial community. The genetic material was extracted using one gram from the biomass sample by PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, USA) according to the manufacturer's instructions.

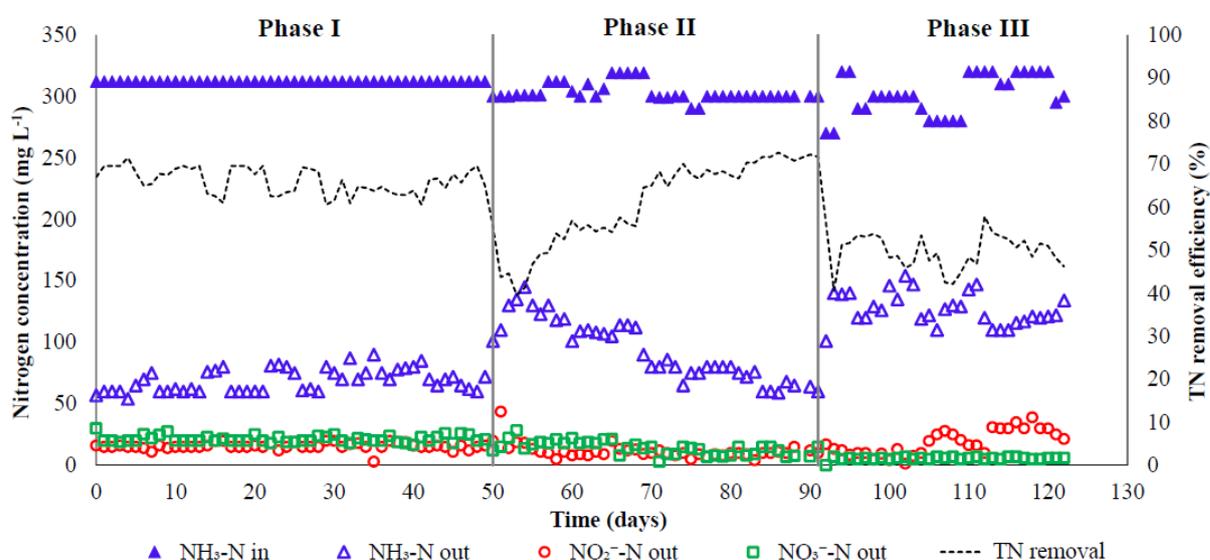
A regions V3-V4 gene were amplified with the primers 341F and 806 R, respectively, according to Caporaso et al. (2011) and Wang and Qian (2009). The libraries were sequenced in a MiSeq system, using the standard Illumina primers provided in the kit and a

single-end 300nt run was performed. Clustered sequences (OTUs) were then subjected to taxonomic classification in tree service databases, considering sequences with at least 99% of identity in the reference database were taxonomically assigned.

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 Nitrogen removal at different experimental phases

The performance of nitrogen species and total nitrogen removal in deammonification process is shown in Figure 2. Additionally, performance parameters of deammonification reactor are described in Table 3. During phase I, the nitrogen loading rate (NLR) average was  $1.24 \pm 0.01 \text{ g N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  (Table 1) and total nitrogen removal efficiency (NRE) achieved  $65 \pm 1.6\%$  (Table 3). At the end of this phase (49 days) the specific ammonia consumption rate ( $\mu_{\text{NH}_3\text{-N}}$ ) was  $41.42 \text{ mg N g}_{\text{VSS}}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Table 3) which is 2.06 times higher than observed by Chini et al. (2016). This period was defined as control for comparison with following phases when reactor was fed with digestate.



**Fig. 2.** Nitrogen compounds and total nitrogen removal efficiency during the experimental phases. Phase I: synthetic wastewater; phase II: C/N ratio of 0.5 and phase III C/N ratio of 1.

**Table 3.** Performance parameter of deammonification reactor during different operational phases

Parameter	Phase I	Phase II	Phase III
C/N ratio	0	0.5	1.0
CRR, g TOC L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	-	0.10 ± 0.04	0.46 ± 0.06
BOD <sub>5</sub> , mg L <sup>-1</sup>	-	86.0 ± 1.0	86.0 ± 1.0
UV-ABS, cm <sup>-1</sup>	-	2.43	2.50
NRR, g N L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	0.79 ± 0.02	0.70 ± 0.11	0.60 ± 0.06
NRE, %	65.0 ± 1.6	61.0 ± 9.8	50.0 ± 3.9
μ <sub>s</sub> , mgNH <sub>3</sub> -N g <sub>VSS</sub> <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	41.42	25.46	4.50

CRR: carbon removal rate; NRR: nitrogen removal rate; NRE: nitrogen removal efficiency; UV-ABS: UV-absorbing organic constituents determination; μ<sub>NH<sub>3</sub>-N</sub>: specific ammonia consumption rate.

In phase II the reactor was fed with digestate and the system presented an average NRE of 61.0 ± 9.8%. It can be observed in Figure 2 that in the beginning of this phase the efficiency of the system reduced almost 20%, recovering the efficiency at 70<sup>th</sup> operational day and reaching maximum 72% at the end of this phase. The μ<sub>NH<sub>3</sub>-N</sub> had a decrease of 1.6 times in this phase compared to phase I, which means that the system had less specific ammonia consumption than with synthetic wastewater feeding. However, the μ<sub>NH<sub>3</sub>-N</sub> value obtained is still considered very satisfactory compared to data from (De Prá et al., 2016).

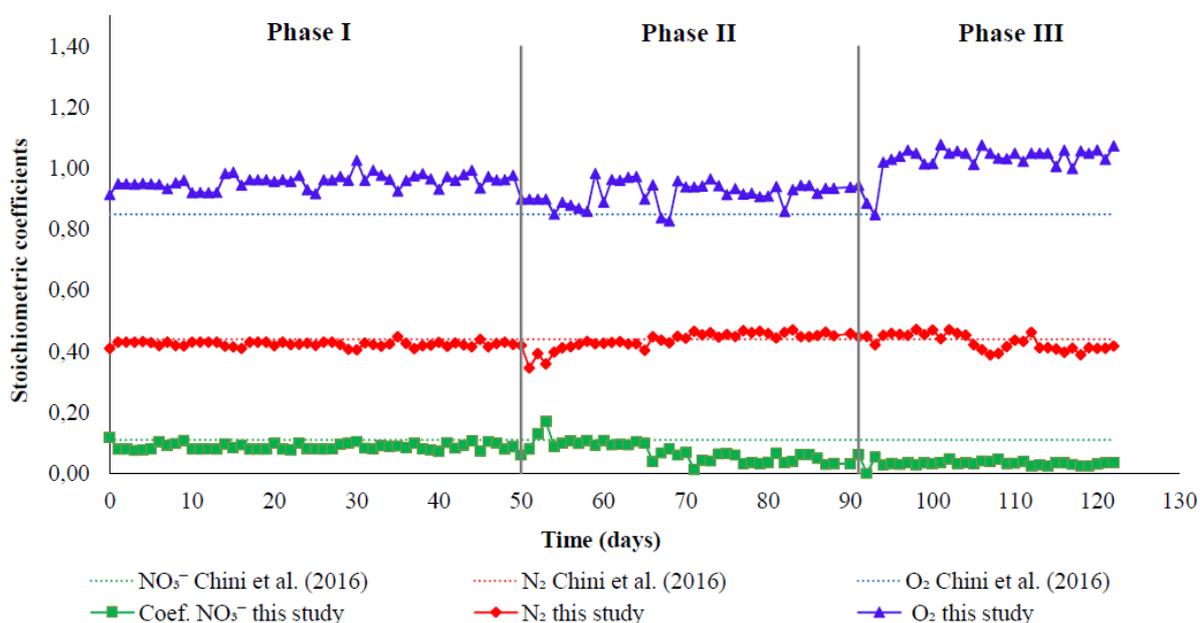
At phase III, when TOC was increased to 255 ± 4 mg L<sup>-1</sup> the NRE had a decrease of 30%, but the efficiency increased days after staying around 50 ± 4%. Likewise, the reduction of μ<sub>NH<sub>3</sub>-N</sub> was 9.2 and 5.7 times less than phase I and II, respectively, being more significant than the reduction observed in phase II.

The maximum NRE obtained in the system of this study was during phase II. Comparing with others studies like Pichel et al. (2018) that had an NRE around 30% (NLR 0.4 g N L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>) and Zhang et al. (2017) that reached an NRE of 49.7 % (NLR 0.75 g N<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>) the NRE obtained in this study is considerably higher. It is important to highlight that the NLR applied in this study is around 4.5 times higher than usually applied in this type of process (Almeida et al., 2018; Cao et al., 2018; Miao et al., 2018), which shows the robustness of the proposed deammonification process.

The stoichiometric coefficients for chemical species involved in deammonification process were calculated to prove that the process was active in the reactor. These values are shown in Figure 3 in comparison to the theoretical coefficients (Cao et al., 2018; Chini et al., 2016). The N<sub>2</sub> coefficient remained very close to the theoretical value, which corroborates with the assumption that deammonification process is responsible for ammonia removal. The O<sub>2</sub> coefficient in the three phases was higher than the theoretical value, meaning that the consumption of oxygen was higher than the theoretical values required for partial oxidation of

ammonia to nitrite (De Prá et al., 2012). However according to Figure 2, almost all nitrite was consumed on different phases of the experiment. Therefore, the higher oxygen consumption could be attributed to limitations of reactor configuration e.g. mass transfer, that was previously studied by Chini et al. (2016). On the other hand, considering that the oxygen consumption was more significant in phase III, other microorganisms not involved in deammonification could be responsible by this effect.

Additionally, it was observed that the  $\text{N-NO}_3^-$  coefficient remained below the value established by literature (Cao et al., 2018; Chini et al., 2016). This aspect could also indicate that another process occurred along with the deammonification, as for example denitrification. Denitrifying bacteria convert nitrate to nitrogen gas under organic conditions (Figure 1) (Kunz et al., 2012; Miao et al., 2018). At the third phase the TOC concentration was  $260 \pm 4$  mg TOC  $\text{L}^{-1}$  and considering the residual nitrate from deammonification process it can be concluded that in this phase it was given the stoichiometric conditions to favor denitrifying bacteria. Therefore, the stoichiometric coefficient for  $\text{NO}_3^-$  was lower than theoretical value. D. Wang et al. (2018) also verified this denitrification effect in a UASB reactor fed with synthetic effluent by increasing carbon concentration in the effluent and a reduction of 11% in the NRE by the anammox bacteria due to the denitrification favoring.

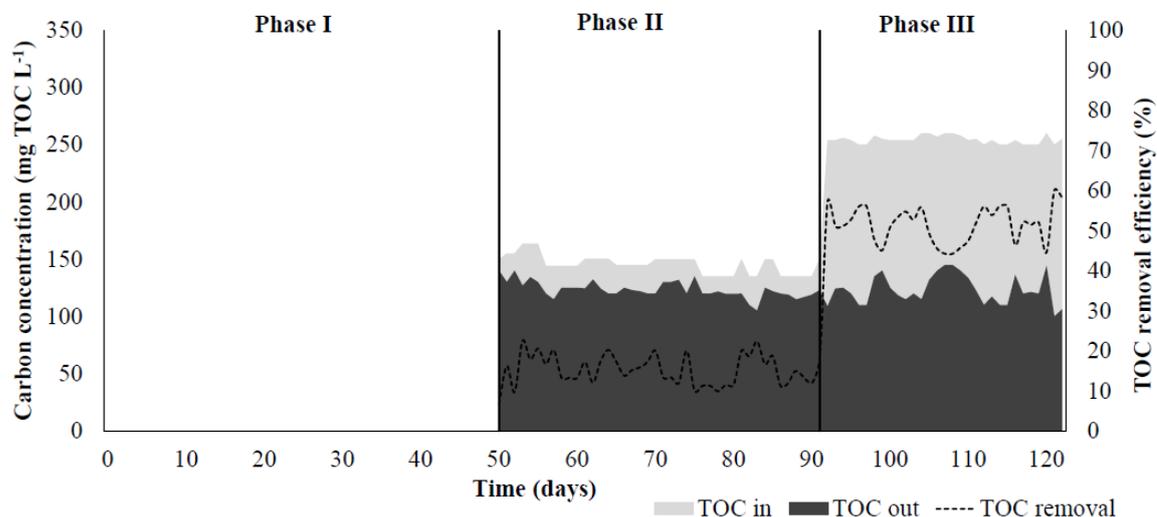


**Fig 3.** Theoretical stoichiometric coefficients compared to calculated coefficients during the experimental phases.

### 3.2 Effect of TOC loading rates on reactor performance

Carbon loading and removal rates on different experimental phases are shown in Figure 4. As can be observed from these data, in phase II, the TOC removal was  $15 \pm 4\%$  meaning that the heterotrophic growth was low. Additionally, the nitrogen removal through

denitrification probably was almost negligible because the consumption of TOC in phase II. Kindaichi et al. (2016) reported a NRE decrease up to 32% when the reactor was fed with digestate containing about 50 mg L<sup>-1</sup> of TOC. As can be observed on Figure 4, total organic carbon feeding in the reactor was around 150 mg L<sup>-1</sup> and the NRE was not suppressed as discussed above.



**Fig. 4.** Total organic carbon (TOC) in and out of the system and removal efficiency during the experimental phases. Phase I: synthetic wastewater; phase II: C/N ratio of 0.5; phase III: C/N ratio of 1.

At phase III the carbon consumption achieved  $52 \pm 5\%$  of TOC. This result could be attributed to the favoring growth of denitrifying bacteria ( $\mu_{\max}$ : 7.2 d<sup>-1</sup>) which are heterotrophic microorganisms and have higher growth rate than anammox bacteria ( $\mu_{\max}$ : 0.065 d<sup>-1</sup>) and nitrifying bacteria ( $\mu_{\max}$  AOB: 0.77 d<sup>-1</sup> and  $\mu_{\max}$  NOB: 1.08 d<sup>-1</sup>) during phase III (Kunz et al., 2012). At the same time, a  $\mu_{\text{NH}_3\text{-N}}$  and NRE decrease respectively of 5.7 and 1.2 times lower than the second phase were observed, which corroborates with the relatively high CRR. In the same way, it was shown above (Figure 3) that NO<sub>3</sub><sup>-</sup> stoichiometric coefficient was significant lower than theoretical value, which indicates NO<sub>3</sub><sup>-</sup> consumption through denitrification pathway.

An important aspect to be considered in evaluation of TOC effect on a deammonification process is the biological availability of carbon source. Therefore, the digestate used in this study was analyzed for BOD and UV-absorbing organic constituents determination. The digestate treated for ammoniacal nitrogen removal could be considered of low biodegradable organic carbon content (Table 2). BOD<sub>5</sub> of the digestate was  $220 \pm 8$  mg L<sup>-1</sup>, which gives a BOD/TOC ratio of 0.09. This BOD value is on similar level than in other studies described in literature where partial nitrification combined with anammox process was employed (Wang et al., 2017).

The relatively low TOC biodegradability of the wastewater feeding used probably favors the deammonification process for this kind of effluent, once growing of heterotrophic microorganisms is less significant than it would be in wastewater with higher BOD<sub>5</sub> values. Biological availability of carbon has direct effect on heterotrophic bacteria growth, which can compete for oxygen with AOB and for nitrite with anammox (Zhou et al., 2018), leading to a decrease of nitrogen removal efficiency of deammonification process. Recently, Wang et al. (2019) found that nitrogen removal through deammonification process decreased with COD concentrations higher than 55.7 mg L<sup>-1</sup>, using glucose as organic carbon source and synthetic feeding. Glucose could be considered an organic source easier to be degraded by microorganisms than organic matter from biodigesters.

The suppression effect of C/N ratio is reported at different values in literature. Many studies described use COD instead of TOC. However, TOC is a more convenient and direct expression of total organic content of wastewater than COD or even BOD (Rice et al., 2017). Based on COD some studies have confirmed that for a stable operation of deammonification process a COD/N ratio under 1 should be used (Du et al., 2019; Zhang et al., 2017). Otherwise, Shu et al. (Shu et al., 2016) showed that the highest COD/N ratio possible to not suppress anammox bacteria is 0.4. This variation could be attributed also to differences on CLR and NLR, giving different C/N ratios. For comparison to results obtained in the present study, it can be assumed, approximately, that COD is about 3.5 times TOC values for swine manure, according to data obtained at Embrapa Suínos e Aves (data not published). In this case in phase II the COD/N would be 1.6 and 3.2 in phase III. Therefore, it can be concluded that the efficiency in nitrogen removal through deammonification with less interference of TOC (phase II) obtained in this study is significantly better than other studies reported in literature.

This study enables to understand that C/N ratio has an important effect over the nitrogen removal efficiency of deammonification process. Deammonification process was kept with good performance at C/N ratio of 0.5, at a relatively high NLR. Kindaichi et al. (2016) observed a suppression in ammoniacal nitrogen removal efficiency at lower organic carbon concentration than used in phase II of our study, where no inhibitory effect was observed. Their hypothesis for the suppression was that the outer layers of the granules were covered with organic matter and/or coexisting bacteria, besides anammox bacteria were still present, and maintained the anammox activity in the granule internal layers (Baeten et al., 2019), even the whole process removal efficiency was diminished. Maybe the difference in bioavailability of organic carbon in both feeding digestate could explain the different effects, once in our study a carbon source relatively low bioavailable was used.

### 3.3 Microorganisms community

The identification of microorganism diversity on samples collected at different phases of this study are shown in Table 4. The relative abundance of the most representative phylum observed in deammonification reactor were *Proteobacteria* (31%), *Chloroflexi* (16%) and *Planctomycetes* (12%). The dominant bacteria communities (*Proteobacteria*, *Chloroflexi* and *Planctomycetes*) were comparatively stable, their relative abundances changed as a function of TOC applied. Relative abundance increased just in *Proteobacteria*, while *Planctomycetes* and *Chloroflexi* have diminish. *Chloroflexi*, *Proteobacteria* and *Planctomycetes* bacteria are usually found in sewage treatment plants, being very common in activated sludge systems and its existence is always mentioned in studies of anammox reactors (Cho et al., 2010; Egli et al., 2003; Wang et al., 2019; D. Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2018).

**Table 4.** Diversity of microorganism community by phylum along the experimental phases

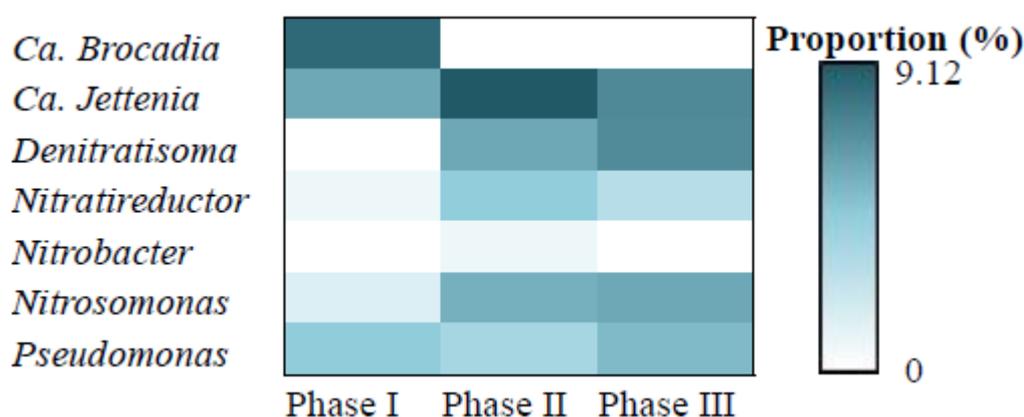
Phylum	Proportion (%)		
	Phase I	Phase II	Phase III
<i>Acidobacteria</i>	1.64	3.91	1.67
<i>Actinobacteria</i>	0.06	0.94	0.59
<i>Armatimonadetes</i>	0.19	0.45	0.10
<i>Bacteroidetes</i>	3.54	30.8	39.6
<i>Chlorobi</i>	-	0.16	-
<i>Chloroflexi</i>	16	3.68	2.72
<i>Firmicutes</i>	0.02	2.40	2.65
<i>Gemmatimonadetes</i>	0.05	0.58	0.53
<i>Ignavibacteriae</i>	6.81	11.1	2.04
<i>Planctomycetes</i>	12	9.40	5.86
<i>Proteobacteria</i>	31	23.7	37.9

Egli et al. (2003) studying the composition of a biofilm formed in reactors treating leachate wastewater from hazardous waste landfill verified the presence of filamentous bacteria, as well as anammox and nitrifying bacteria in the formed biofilm. It was seen that the filamentous bacteria (*Chloroflexi* phyla) exerted an important structural role to the biofilm formation. Cho et al. (2010) investigating the microbial community in an up-flow anammox reactor, also observed that filamentous bacteria of the phylum *Chloroflexi* were present and contributed in the structure formation of the granules. According to this, the coexistence seems to be related to the compatibility of these microorganisms with environment rich in ammonium and nitrite, justifying the presence of this phyla in the samples studied.

Phylum *Proteobacteria* when observed in samples indicate that the bacteria played the most important role in high ammonium concentration environments (Y. Zhang et al., 2019). Zhang et al. (2019) studying the microbial community composition of sulfate reducing ammonium oxidation process treating inorganic synthetic wastewater proved that the large proportion of *Proteobacteria* contributed to the partial nitrification process and the  $\text{NO}_2^-$  accumulation. These phyla had the most versatile metabolism, comprehending the microorganisms responsible for nitrification and denitrification process (Wang et al., 2019).

In the *Planctomycete* phylum are inserted the anammox bacteria, of particular interest to be preserved in the present study. The microorganisms of this phylum have very peculiar phenotypic characteristics within the bacteria domain, the microorganisms of this phyla have already been found in a wide range of environments, such as, soils, freshwater environments, oceanic sediments and wastewater treatment systems (D. Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2018). Thus, in our study the presence of *Planctomyces* in the analyzed samples was expected, since during the entire experiment was provided conditions (pH, temperature, DO) to favor the growth of anammox bacteria.

The relative abundance by the genera according to the main phylum discussed above is shown in Figure 5. *Candidatus Brocadia* sp., *Candidatus Jettenia* sp. and *Candidatus Kuenenia* sp. (phylum *planctomyces*) are common genera found in anammox reactors. *Denitratisoma*, *Nitratireductor* and *Pseudomonas* (phylum *proteobacteria*) are also related to nitrogen removal but following denitrifying pathway, moreover *Nitrobacter* and *Nitrosomonas* (phylum *proteobacteria*) are related to nitrifying bacteria (Wu et al., 2018; Zhang et al., 2018).



**Fig. 5.** Relative abundance of microorganisms by the genera along the experimental phases.

After start to feed the system with digestate (phase II), a significant shift in the bacterial genera associated with anammox was observed. *Candidatus Brocadia* sp (Figure 5) was present in the reactor on phase I (8%) however this genus was not detected when the reactor was fed with digestate. On the other hand, proportion of *Candidatus Jettenia* sp. increased in phase II (9.12%) compared to the first phase (3%). Increasing of denitrifying mi-

microorganisms population was observed at phase II and III in comparison to phase I, likewise when reactor was fed with digestate containing organic matter. Proportion of *Nitrosomonas* were similar in phase II (2.35%) and III (2.96%). Proportion of *Nitrobacter* remained very low which is desirable to preserve the  $\text{NO}_2^-$  for deammonification. The increase of different microorganisms population consequently reduced the proportion of planctomycetes in phase II to III.

The highest nitrogen removal efficiency by deammonification reactor treating digestate was with a C/N ratio of 0.5 achieved in phase II. At this condition, the dominant genera were *Candidatus Jettenia* (9.12%), *Desnitratissoma* (3%) and *Nitrosomonas* (2.35%), these three genera coexisted in the same reactor with a NRE increase. These data also corroborate with the stoichiometric coefficients (Figure 3) for chemical species involved in anammox process, showing that they were the dominant genera.

The digestate contains organic carbon which could contribute to the growth of *Candidatus Jettenia* observed in this study. Also, it has been previously shown that *Ca. Jettenia* remains in limited conditions contrariwise others genera (Hu et al., 2012). Shu et al., (2016) equally has an increase of *Ca. Jettenia* and a small *Ca. Brocadia* decreasing, when they increased the C/N ratio to 0.4 working in an anammox-SBR system. According to Wang et al., (2017) the decreasing of *Ca. Brocadia* might be related to some particularity of the sludge biodigester, since it does not contain high salinity levels. *Ca. Brocadia* usually is found and grows with synthetic or low-strength wastewater (Liu et al., 2018; D. Wang et al., 2018). Thereby, the increasing of TOC probably caused suppression in *Ca. Brocadia* consequently increasing the proportion of *Ca. Jettenia*.

*Candidatus Jettenia* was predominant anammox bacteria detectable in the bioreactor, and the carbon loading enhancement (phase II) was found to cause great impacts on its relative abundance (ranging from 3% in phase I to 9.1% in phase II). Previous studies have also identified the predominance of this genus in relation to the other anammox genera, being the main causes of microbial community modulation the increase of NLR, treatment of wastewater with carbon and its bioavailability (Huang et al., 2014; Xu et al., 2018; Yang et al., 2018).

### 3.4 Practical implications of this study

The main practical contribution of this research is to provide solid scientific data on how the C/N ratio affects the deammonification process, taking into account the digestate treatment purpose, as well as how the microorganism community is affected by the C/N ratio. From the data obtained in this work it can be verified that the treatment of digestate from swine sludge CSTR biodigester by deammonification process may be an applicable scale-wide alternative. However, hydraulic operations are necessary to adjust the concentration of

organic carbon and CLR to the optimum range that corresponds to conditions used in phase II of the present work. In this sense, the present study presents a solution for the swine production chain for management of residues generated from anaerobic digestion process.

Furthermore, another contribution of this study is related to future prospects since there are still some challenges about deammonification process to be overcome such as the effect of the increase of nitrogen load and the reactor feeding with digestate containing organic carbon with higher bioavailability (i.e. higher BOD than reported in this work). Additionally, these are some practical challenges that still need to be studied to scaling up of deammonification process. Although the research does not deal with process scale-up, it allows to guide research or future applications regarding a process scale-up with this particular kind of digestate, employing the conditions studied at phase II of this research, where the best results have been obtained.

#### 4 CONCLUSIONS

In conclusion, it was found that to significantly improve nitrogen removal and abundance of functional bacteria and genes in the EGSB bioreactor system, the lower TOC range of  $156 \pm 8.15 \text{ mg L}^{-1}$  (phase II) was more favorable. Under these conditions the system had a nitrogen removal efficiency of  $61 \pm 9.8 \%$ , being *Candidatus Jettenia* sp. identified as the predominant anammox bacteria. These results highlight the potential of the deammonification process for the treatment of digestate from sludge biodigester at a swine wastewater treatment plant, supplying information for the implementation of this kind of system in field conditions.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study had financial support from CAPES, CNPq and SISTRATES FUNTEC-BNDES (grant number 15.2.0837.1).

#### REFERENCES

- Almeida, R.G.B. de, Santos, C.E.D. dos, Lüders, T.C., Del Nery, V., Leal, C.D., Pereira, A.D., Araújo, J.C., Davenport, R.J., Barana, A.C., Lopes, D.D., Damianovic, M.H.R.Z., 2018. Nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a structured-bed reactor treating animal feed processing wastewater: Inhibitory effects and bacterial community. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 133, 108–115.  
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.019>
- Amaral, A.C. do, Kunz, A., Radis Steinmetz, R.L., Scussiato, L.A., Tápparo, D.C., Gaspareto, T.C., 2016. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. *J. Environ. Manage.* 168, 229–235.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.014>

Baeten, J.E., Batstone, D.J., Schraa, O.J., van Loosdrecht, M.C.M., Volcke, E.I.P., 2019. Modelling anaerobic, aerobic and partial nitrification-anammox granular sludge reactors - A review. *Water Res.* 149, 322–341. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.026>

Cao, S., Du, R., Li, B., Wang, S., Ren, N., Peng, Y., 2018. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: performance, kinetics and microbial community. *Chem. Eng. J.* 326, 1186–1196.

<https://doi.org/10.1039/b000000x>

Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107/->

[/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000080107](https://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000080107)

Casagrande, C.G., Kunz, A., De Prá, M.C., Bressan, C.R., Soares, H.M., 2013. High nitrogen removal rate using ANAMMOX process at short hydraulic retention time. *Water Sci. Technol.* 67, 968–975. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.641>

Chini, Kunz, A., Viancelli, A., Scussiato, L.A., Dias, J.R., Jacinto, I.C., 2016. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. *Water, Air, Soil Pollut.* 227, 67.

<https://doi.org/10.1007/s11270-016-2765-7>

Cho, S., Takahashi, Y., Fujii, N., Yamada, Y., Satoh, H., Okabe, S., 2010. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. *Chemosphere* 78, 1129–1135.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.034>

Dai, F., De Prá, M.C., Vanotti, M.B., Gilmore, K.R., Cumbie, W.E., 2019. Microbial characteristics of nitrifiers, denitrifiers and anammox bacteria on different support media to treat space mission wastewater. *J. Environ. Manage.* 232, 943–951.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.12.008>

De Prá, M.C., Kunz, A., Bortoli, M., Perondi, T., Chini, A., 2012. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using the partial nitrification process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87, 1641–1647. <https://doi.org/10.1002/jctb.3803>

De Prá, M.C., Kunz, A., Bortoli, M., Scussiato, L.A., Coldebella, A., Vanotti, M., Soares, H.M., 2016. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. *Bioresour. Technol.* 202, 33–41.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.048>

Du, R., Cao, S., Li, B., Zhang, H., Li, X., Zhang, Q., Peng, Y., 2019. Step-feeding organic carbon enhances high-strength nitrate and ammonia removal via DEAMOX process. *Chem. Eng. J.* 360, 501–510. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.011>

Egli, K., Bosshard, F., Werlen, C., Lais, P., Siegrist, H., Zehnder, A.J.B., Van Der Meer, J.R.,

2003. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. *Microb. Ecol.* 45, 419–432.  
<https://doi.org/10.1007/s00248-002-2037-5>
- Feng, Y., Lu, X., Al-Hazmi, H., Maqinia, J., 2017. An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 16, 541–568. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9441-2>
- Hollas, C.E., Chini, A., Antes, F.G., Prado, N.V. do, Bortoli, M., Kunz, A., 2019. Modified Ludzack – Ettinger system role in efficient nitrogen removal from swine manure under high total suspended solids concentration. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*  
<https://doi.org/10.1007/s13762-019-02326-2>
- Hu, Z., Speth, D.R., Francoijs, K.J., Quan, Z.X., Jetten, M.S.M., 2012. Metagenome analysis of a complex community reveals the metabolic blueprint of anammox bacterium “*Candidatus Jettenia asiatica*.” *Front. Microbiol.* 3, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00366>
- Huang, X.L., Gao, D.W., Tao, Y., Wang, X.L., 2014. C2/C3 fatty acid stress on anammox consortia dominated by *Candidatus Jettenia asiatica*. *Chem. Eng. J.* 253, 402–407.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.055>
- Kindaichi, T., Awata, T., Mugimoto, Y., Rathnayake, R.M.L.D., Kasahara, S., Satoh, H., 2016. Effects of organic matter in livestock manure digester liquid on microbial community structure and in situ activity of anammox granules. *Chemosphere* 159, 300–307.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.018>
- Kunz, A., Steinmetz, R., Damasceno, S., Coldebela, A., 2012. Nitrogen removal from swine wastewater by combining treated effluent with raw manure. *Sci. Agric.* 69, 352–356.  
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000600002>
- Liu, W., Ji, X., Wang, J., Yang, D., Shen, Y., Chen, C., Qian, F., Wu, P., 2018. Microbial community response to influent shift and lowering temperature in a two-stage mainstream deammonification process. *Bioresour. Technol.* 262, 132–140.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.082>
- Liu, Y., Ngo, H.H., Guo, W., Peng, L., Wang, D., Ni, B., 2019. The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review. *Environ. Int.* 123, 10–19.  
<https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2018.11.039>
- Magrí, A., Béline, F., Dabert, P., 2013. Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing - An overview. *J. Environ. Manage.* 131, 170–184. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.021>
- Magrí, A., Vanotti, M.B., Szögi, A.A., Cantrell, K.B., 2012. Partial Nitritation of Swine Wastewater in View of Its Coupling with the Anammox Process. *J. Environ. Qual.* 41, 1989.  
<https://doi.org/10.2134/jeq2012.0092>
- Miao, Y., Peng, Y., Zhang, L., Li, B., Li, X., Wu, L., Wang, S., 2018. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N

- ratios. *Chem. Eng. J.* 334, 664–672. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.072>
- Pedrouso, A., Val del Río, Á., Morales, N., Vázquez-Padín, J.R., Campos, J.L., Méndez, R., Mosquera-Corral, A., 2017. Nitrite oxidizing bacteria suppression based on in-situ free nitrous acid production at mainstream conditions. *Sep. Purif. Technol.* 186, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.05.043>
- Pichel, A., Moreno, R., Figueroa, M., Luis Campos, J., Méndez, R., Mosquera-Corral, A., Val del Río, Á., 2018. How to cope with NOB activity and pig manure inhibition in a partial nitrification-anammox process? *Sep. Purif. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.11.021>
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd ed. American Public Health Association, Washington.
- Shu, D., He, Y., Yue, H., Gao, J., Wang, Q., Yang, S., 2016. Enhanced long-term nitrogen removal by organotrophic anammox bacteria under different C/N ratio constraints: quantitative molecular mechanism and microbial community dynamics. *RSC Adv.* 6, 87593–87606. <https://doi.org/10.1039/C6RA04114K>
- Wang, D., He, Y., Zhang, X., 2018. A comprehensive insight into the functional bacteria and genes and their roles in simultaneous denitrification and anammox system at varying substrate loadings 1. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9536-x>
- Wang, D., Wang, Q., Laloo, A., Xu, Y., Bond, P.L., Yuan, Z., 2016. Achieving stable nitrification for mainstream deammonification by combining free nitrous acid-based sludge treatment and oxygen limitation. *Sci. Rep.* 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep25547>
- Wang, G., Xu, X., Zhou, L., Wang, C., Yang, F., 2017. A pilot-scale study on the start-up of partial nitrification-anammox process for anaerobic sludge digester liquor treatment. *Bioresour. Technol.* 241, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.125>
- Wang, X., Qi, G., YuegenYan, Gao, D., 2018. Influence of temperature fluctuations on one-stage deammonification systems in northern cold region. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 18632–18641. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2050-y>
- Wang, X., Yang, R., Guo, Y., Zhang, Z., Kao, C.M., Chen, S., 2019. Investigation of COD and COD/N ratio for the dominance of anammox pathway for nitrogen removal via isotope labelling technique and the relevant bacteria. *J. Hazard. Mater.* 366, 606–614. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.036>
- Wang, Y., Qian, P.Y., 2009. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One* 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401>
- Wu, Y., Wang, Y., De Costa, Y.G., Tong, Z., Cheng, J.J., Zhou, L., Zhuang, W.Q., Yu, K., 2018. The co-existence of anammox genera in an expanded granular sludge bed reactor with biomass carriers for nitrogen removal. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*

<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9494-3>

Xu, X., Liu, G., Wang, Y., Zhang, Y., Wang, H., Qi, L., Wang, H., 2018. Analysis of key microbial community during the start-up of anaerobic ammonium oxidation process with paddy soil as inoculated sludge. *J. Environ. Sci. (China)* 64, 317–327.

<https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.06.026>

Yang, W., He, S., Han, M., Wang, B., Niu, Q., Xu, Y., Chen, Y., Wang, H., 2018. Nitrogen removal performance and microbial community structure in the start-up and substrate inhibition stages of an anammox reactor. *J. Biosci. Bioeng.* xx, 1–8.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.02.004>

Zhang, D., Cui, L., Wang, H., Liang, J., 2019. Study of sulfate reducing ammonium oxidation process and its microbial community composition. *Water Sci. Technol.* 1–8.

<https://doi.org/10.2166/wst.2019.027>

Zhang, X., Zhang, N., Wang, L., Zheng, K., Fu, H., Chen, T., Zhang, H., Yan, Y., 2017. Bioactivity and microbial community structure of nitrite-oxidizing bacteria in five membrane bioreactors operated as CANON process with different C/N ratio. *Ecol. Eng.* 99, 159–163.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.049>

Zhang, X., Zhao, B., Meng, J., Zhou, A., Yue, X., Niu, Y., Cui, Y., 2018. Efficiency, granulation, and bacterial populations related to pollutant removal in an upflow microaerobic sludge reactor treating wastewater with low COD/TN ratio. *Bioresour. Technol.* 270, 147–155. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.016>

Zhang, Y., Wang, Y., Yan, Y., Han, H., Wu, M., 2019. Characterization of CANON reactor performance and microbial community shifts with elevated COD / N ratios under a continuous aeration mode. *Front. Environ. Sci. Eng.* 13, 1–13.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11783-019-1095-6>

Zheng, M., Yan, Z., Zuo, J., Wang, K., 2014. Concept and application of anaerobic suspended granular sludge bed (SGSB) reactor for wastewater treatment. *Front. Environ. Sci. Eng.* 8, 797–804. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0597-x>