

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

**REMOÇÃO DE NITROGÊNIO VIA PROCESSO DE DESAMONIFICAÇÃO UTILIZANDO-
SE DIFERENTES CONFIGURAÇÕES DE REATORES**

ANGÉLICA CHINI

Cascavel/Paraná
Fevereiro/2015

ANGÉLICA CHINI

**REMOÇÃO DE NITROGÊNIO VIA PROCESSO DE DESAMONIFICAÇÃO UTILIZANDO-
SE DIFERENTES CONFIGURAÇÕES DE REATORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento aos requisitos para à obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Airton Kunz

Cascavel – Paraná – Brasil

Fevereiro/2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C466r

Chini, Angélica

Remoção de nitrogênio via processo de desamonificação utilizando-se diferentes configurações de reatores./Angélica Chini. Cascavel, 2015.

73 p.

Orientador: Prof. Dr. Airton Kunz

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Agrícola

1. Suinocultura - Efluentes - Tratamento. 2. Anammox. 3. Reator - Configuração. 4. Nitritação parcial. 5. Reator único. I. Kunz, Airton. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 636.4

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

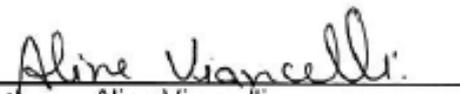
ANGELICA CHINI

Remoção de Nitrogênio via desamonificação utilizando-se diferentes configurações de reatores

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos hídricos e saneamento ambiental, linha de pesquisa Saneamento ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a) - Airtón Kunz

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)


Aline Viancelli

Universidade do Contestado (UNC)


Eloy Lemos de Mello

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

Cascavel, 13 de fevereiro de 2015

BIOGRAFIA

Angélica Chini é nascida em 1 de julho de 1990, na cidade de Palmitos/SC. Concluiu em 2012 o curso de Engenharia Ambiental pela Universidade do Contestado, *campus* de Concórdia/SC.

Durante 2,5 anos foi bolsista de iniciação científica na Embrapa Suínos e Aves, com sede em Concórdia/SC. Atuou 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.

Mestre no Programa de Pós-Graduação de Engenharia Agrícola (PGEAGRI) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, na área em concentração de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental (RHESA), na linha de pesquisa de Saneamento Ambiental.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser fonte de fé, pela vida, proteção constante e as oportunidades que surgiram;

Aos meus familiares, por todo o apoio e as palavras de carinho. Em especial aos meus pais, Inácio e Angela, e meu irmão, Henrique, pelo apoio, a confiança, o amor e a paciência pelos momentos de ausência e dificuldades. Mesmo longe, sempre estiveram tão perto de mim;

Ao meu amigo e namorado, Gustavo Pastore, pela paciência, a cumplicidade, o incentivo, por me fazer feliz e pela compreensão incondicional. E, também, à sua família, pelo carinho e por toda a ajuda prestada;

Ao professor orientador Dr. Airton Kunz, pela oportunidade de aprendizado, a credibilidade, a confiança, a amizade, a orientação e principalmente pela disponibilidade e pela paciência;

A todos os meus amigos e colegas do Laboratório de Experimentação e Análises Ambientais da Embrapa Suínos e Aves. Em especial a Aline, Lucas, André, Gizelle, Ricardo, Anildo, Magda, Deisi, Jéssica D., Ismael, Rubia, Michaela e Morgana, pelo apoio na realização das análises e dos experimentos, pelos conselhos, os ensinamentos, os momentos de descontração, as palavras de incentivo e as atitudes de amizade;

Aos bons e velhos amigos do querido oeste catarinense, pela cumplicidade e o companheirismo, tanto nas horas de estudo quanto nas horas de descontração;

Aos amigos e colegas que tive o prazer de conhecer e conviver em Cascavel. Em especial a Silvia, Fernanda, Nathalie, Gabriela e Giovana, sem vocês eu estaria literalmente perdida. Agradeço de coração ao tempo que vocês destinaram a mim e a amizade que criamos;

Aos docentes do programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal;

À Embrapa Suínos e Aves, pela disposição de recursos e do espaço físico necessários para o desenvolvimento do trabalho. E a CAPES, pela bolsa de mestrado concedida.

REMOÇÃO DE NITROGÊNIO VIA PROCESSO DE DESAMONIFICAÇÃO UTILIZANDO-SE DIFERENTES CONFIGURAÇÕES DE REATORES

RESUMO

O nitrogênio é um dos nutrientes essenciais para a sobrevivência dos organismos vivos e, embora abundante como gás (N_2), é em grande parte inacessível nesta forma à maioria dos organismos. O nitrogênio só se torna acessível quando convertido em, por exemplo, amônia, nitrito e nitrato. Substâncias essas que são encontradas em elevadas concentrações em efluentes, como os da suinocultura, gerando uma elevada concentração de nutrientes, que podem causar danos ao meio ambiente e à saúde pública. Para a remoção de elevadas cargas de nutrientes, os processos biológicos são amplamente utilizados. Assim, os processos anammox, nitrificação parcial e seus sistemas combinados, como a desamonificação, estão sendo estudados para a remoção do nitrogênio. A desamonificação consiste na oxidação da amônia pela nitrificação parcial (NP), gerando substrato para as bactérias com atividade anammox. Por isso, é necessário que ocorra controle rigoroso da NP a fim de evitar acúmulo de nitrito. O controle da produção de nitrito, a qual pode inibir as bactérias com atividade anammox, pode ser de várias formas, como, por exemplo, estratégias de aeração e configuração de reatores. Considerando estes aspectos, propõe-se estudar duas configurações de reatores, biomassa suspensa e biomassa expandida, com o intuito de avaliar a influência destas configurações em relação ao processo de desamonificação. Para isto, foram utilizados dois reatores de fluxo ascendente, com alimentação e aeração intermitente em ciclos de 30 min (sendo alimentação e aeração ligadas por 15 min e desligadas por 15 min), um com leito suspenso e outro expandido. Reatores com volume útil de 1L e 55 g (v/v) de meio suporte, temperatura mantida em 25 °C, TRH de 9 h, vazão de alimentação de 2,70 L.d⁻¹ e a de recirculação foi 2,5 vezes a de entrada. Os reatores foram alimentados com meio de cultura sintético contendo nitrogênio amoniacal total na faixa de 300 mgN.L⁻¹. A partir disso, foi possível estabelecer o processo de desamonificação nos dois reatores com vazões de ar de 20 e 30 mL.min⁻¹.L⁻¹, em três diferentes fases. As fases I e III foram instáveis (vazão de ar de 30 mL.min⁻¹.L⁻¹), ao passo que a fase II foi estável (vazão de ar de 20 mL.min⁻¹.L⁻¹). Dessa maneira, nas condições de processo testadas, inferiu-se que a vazão de ar de 20 mL.min⁻¹.L⁻¹ é a ideal. A configuração de reator de biomassa expandida obteve melhores resultados na remoção de nitrogênio, tendo 1,23 vezes maior eficiência do que o de biomassa suspensa. Assim sendo, o reator de leito expandido se mostrou a melhor opção para o processo estudado. Já na quantificação de biomassa anammox e nitrificante, não houve alterações significativas no reator de leito suspenso, somente crescimento de bactéria nitrificante na fase III. O reator de leito expandido, além disto, também apresentou crescimento de bactérias com atividade anammox na fase II. Os resultados evidenciaram que o reator de leito expandido teve um desempenho 23,06% superior ao de leito suspenso.

Palavras-chave: anammox, configuração de reator, nitrificação parcial, reator único.

NITROGEN REMOVAL VIA DEAMMONIFICATION PROCESS USING DIFFERENT REACTORS' CONFIGURATIONS

ABSTRACT

Nitrogen is an essential nutrient for the survival of living organisms, and although abundant as a gas (N_2), it is largely inaccessible in this form to most beings. Nitrogen only becomes accessible when converted into, for example, ammonia, nitrite and nitrate. These substances can be found in high concentrations in effluents, such as swine wastewater, generating a high concentration of nutrients, which may cause damage to the environment and to public health. Biological processes are widely used to remove high nutrients loads. In this context, anammox, partial nitrification (PN) and their combination, as deammonification, are being studied for nitrogen removal. The deammonification consists in ammonia oxidation by PN and that generates substrate to anammox activity; therefore, it must have partial nitrification control to prevent nitrite accumulation. The nitrite concentration in the reactor can inhibit the anammox process, which can be controlled with different strategies, such as aeration and reactor configuration. Considering this, the present study aimed to evaluate two reactors configurations suspended and expanded sludge, for reactor configuration evaluation on deammonification process. For this, two up flow reactors were used with intermittent feeding and aeration at 30 min cycles (15 min on/ 15 min off), one with suspended and the other with expanded bed. These possess working volume of 1 L, 55 g (w/v) of biofilm plastic carrier, the temperature was maintained at 25 °C, HRT 9 h, circulation input flow rate of 2.70 L.d⁻¹ and recirculation flow rate was 2.5 times the input and it was fed with synthetic medium. It was possible to establish deammonification process in the two reactors and the experiments were carried out: phase I and III were unstable (air flow rate of 30 mL.min⁻¹.L⁻¹) and phase II was stable (air flow rate of 20 mL.min⁻¹.L⁻¹). Thus, in the tested process conditions, it was inferred that the ideal air flow rate was of 20 mL.min⁻¹.L⁻¹. The expanded biomass reactor configuration achieved better nitrogen removal efficiencies, being 1.23 more efficient than suspended bed, thus being considered the best option for the process under study. In the anammox and nitrifying quantification, there were no significant changes in the suspended bed reactor, only nitrifying growth in phase III. For the expanded bed reactor, anammox bacteria increased in phase II. The results showed that the expanded bed reactor presented a performance 23.06% more efficient than the suspended bed reactor.

Key-words: anammox, partial nitrification, reactor configuration, single reactor.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Problema ambiental do nitrogênio e efluentes de interesse.....	4
3.2 Processos para remoção de nitrogênio.....	5
3.2.1 Desamonificação.....	6
3.2.1.1 Nitritação parcial.....	6
3.2.1.1.1 Oxigênio dissolvido.....	7
3.2.1.1.2 Temperatura.....	9
3.2.1.1.3 pH, amônia livre e ácido nitroso.....	10
3.2.1.2 Anammox.....	11
3.2.1.2.1 Oxigênio dissolvido.....	12
3.2.1.2.2 Temperatura e pH.....	13
3.2.1.2.3 Consistência do grânulo.....	13
3.2.1.2.4 Influência do nitrato e amônio.....	14
3.2.1.2.5 Influência do nitrito.....	15
3.2.1.3 Arranjo de processos para desamonificação.....	16
3.2.1.3.1 Desamonificação em dois reatores.....	16
3.2.1.3.2 Desamonificação em reator único.....	16
3.2.1.4 Configuração de reatores.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Caracterização do inóculo.....	20
4.1.1 Ensaio cinético.....	20
4.1.2 Razão entre inóculos.....	21
4.2 Aparato experimental.....	22
4.2.1 Aeração dos reatores.....	23

4.2.2 Vazão de alimentação dos reatores	24
4.2.3 Operação e monitoramento dos reatores	24
4.2.4 Cálculo dos coeficientes estequiométricos.....	24
4.3 Determinações analíticas.....	25
4.3.1 Nitrogênio amoniacal total (NAT)	25
4.3.2 Nitrito e Nitrato	25
4.3.3 Alcalinidade	26
4.3.4 Sólidos Suspensos Totais, Fixos e Voláteis	26
4.3.5 pH e Oxigênio Dissolvido	26
4.4 Quantificação de bactérias por reação em cadeia da polimerase (qPCR).....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Reator LS	28
5.1.1 Atividades das biomassas utilizadas na inoculação do reator	28
5.1.1.1 Biomassa nitrificante	28
5.1.1.2 Biomassa com atividade anammox.....	29
5.1.1.3 Quantidade de biomassa inoculada	29
5.1.2 Inoculação, partida e operação do reator	30
5.1.3 Quantificação da biomassa	36
5.2 Reator LE	37
5.2.1 Determinações das atividades das biomassas utilizadas na inoculação do reator	37
5.2.1.1 Biomassa nitrificante	37
5.2.1.2 Biomassa com atividade anammox.....	38
5.2.1.3 Quantidade de biomassa inoculada	38
5.2.2 Inoculação, partida e operação do reator	39
5.2.3 Quantificação da biomassa	44
5.3 Comparação de reatores	45
6 CONCLUSÕES.....	48
7 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparativo do efeito da concentração de OD no processo de nitrificação	8
Tabela 2 – Efeito da temperatura na velocidade máxima de crescimento (μ_{max}) das bactérias nitrificantes.....	9
Tabela 3 – Parâmetros operacionais para os reatores LS e LE	23
Tabela 4 – Divisão de fases por vazão de ar dos reatores A e B.....	24
Tabela 5 – Pontos de amostragem, frequência de coleta e análises realizadas	24
Tabela 6 – Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa nitrificante no reator LS.....	28
Tabela 7 – Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa com atividade anammox no reator LS	29
Tabela 8 – Concentração de oxigênio dissolvido nos períodos aeróbio e anóxico, durante as diferentes fases do reator LS.....	30
Tabela 9 – Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) das bactérias com atividade anammox no reator LS na pré-inoculação e nas fases I, II e III.....	32
Tabela 10 – Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LS nas fases I, II e III	34
Tabela 11 – Quantificação de bactérias nitrificante e anammox durante período de operação do reator LS	36
Tabela 12 – Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa nitrificante no reator LE.....	37
Tabela 13– Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa com atividade anammox no reator LE	38
Tabela 14 – Concentração de oxigênio dissolvido nos períodos aeróbio e anóxico, durante as diferentes fases do reator LE.....	39

Tabela 15 – Velocidades de consumo e produção de nitrogênio das bactérias com atividade anammox no reator LE na pré-inoculação e nas fases I, II, III.....	41
Tabela 16 – Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LE nas fases I, II e III	43
Tabela 17 – Quantificação de bactérias nitrificante e anammox durante período de operação do reator LE	45
Tabela 18 – Comparação da eficiência de remoção de nitrogênio e da carga de nitrogênio removida nos reatores LS e LE	46
Tabela 19 – Velocidades de consumo e produção de nitrogênio das bactérias com atividade anammox no reator LS e LE na fase II	46
Tabela 20 – Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LS e LE na fase II	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e das bactérias oxidadoras de nitrito (BON).....	10
Figura 2 – Equilíbrio amônia e amônio em função do pH.....	11
Figura 3 – Representação esquemática do processo de desamonificação em dois reatores.....	16
Figura 4 – Esquema representando o processo de desamonificação em reator único.....	17
Figura 5 – Representação esquemática de fluxo no reator. (a) leito estático, (b) leito expandido, (c) leito suspenso, (d) leito fluidizado.....	18
Figura 6 – Representação esquemática do sistema operacional do reator LS (leito suspenso).....	22
Figura 7 – Representação esquemática do sistema operacional do reator LE (leito expandido).....	22
Figura 8 – Desempenho do reator LS durante período de operação. A: acompanhamento das formas nitrogenadas e percentual de remoção de amônia. B: acompanhamento da carga aplicada, removida e eficiência de remoção de nitrogênio.....	31
Figura 9 – Acompanhamento dos coeficientes estequiométricos do processo de desamonificação para o reator LS.....	32
Figura 10 – Desempenho do reator LE durante período de operação. A: acompanhamento das formas nitrogenadas e percentual de remoção de amônia. B: acompanhamento da carga aplicada, removida e eficiência de remoção de nitrogênio.....	40
Figura 11 – Acompanhamento dos coeficientes estequiométricos do processo de desamonificação para o reator LE.....	41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- AL** – Amônia livre
- amoA**–Amônia Monooxigenase
- Anammox** –do inglês *Anaerobic ammonium oxidation*
- ANL** - Ácido nitroso livre
- BOA** – Bactérias oxidadoras de amônia
- BON** – Bactérias oxidadoras de nitrito
- CANON** – do inglês *Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite*
- CLP** – Controlador lógico programável
- EGSB** – do inglês *Expanded Granular Sludge Bed*
- EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- hzo** – Hidrazina oxidase
- LEAA** – Laboratório de experimentação e análises ambientais
- NAT** – Nitrogênio amoniacal total
- NP**–Nitritação parcial
- NT** – Nitrogênio total
- OD** – Oxigênio dissolvido
- qPCR**– do inglês *quantification Polymerase Chain Reaction*
- r_s – Velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto
- SBR** – do inglês *Sequencing batch reactor*
- SPACs** – Sistemas de produção de animais confinados
- SSF** – Sólidos suspensos fixos
- SST** – Sólidos suspensos totais
- SSV** – Sólidos suspensos voláteis
- UASB** – do inglês *Upflow anaerobic sludge blanket*
- μ_s – Velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um nutriente essencial para a sobrevivência dos organismos vivos. Ele é componente necessário para muitas biomoléculas, entre elas as proteínas, o DNA e a clorofila.

Na natureza, o nitrogênio inorgânico é frequentemente encontrado na forma de amônia (NH_3) ou amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) ou gás (N_2). Por outro lado, o nitrito (NO_2^-) é pouco encontrado ou, quando o é, está presente em baixas concentrações, por ser um composto intermediário e muito reativo.

O nitrogênio gasoso (N_2) é em grande parte inacessível para a maioria dos organismos, o que o torna um recurso escasso e limitador da produtividade primária em ecossistemas.

Destaca-se que o aporte excessivo desses nutrientes nos sistemas aquáticos promove o crescimento de microalgas e vegetais, o que causa problemas no meio ambiente e na saúde pública.

Também, estes nutrientes são encontrados em elevada quantidade nos dejetos da suinocultura, os quais tornam o manejo desta atividade um desafio, isso porque a atividade suinícola gera um grande volume de efluentes, criando problemas de armazenamento, distribuição e poluição ambiental.

Na tentativa de contornar esta situação, a maioria dos agricultores utilizam a técnica de estocagem do dejetos para usá-lo no solo como biofertilizante, o que, quando realizado sem boas práticas agronômicas, gera excesso de nutrientes no solo. Ainda, a estocagem em lagoas de armazenamento causa emissão de gases do efeito estufa, aumentando o impacto ambiental causado pela atividade.

Dessa maneira, percebe-se que a forma de manejo mencionada apresenta limitações quando há falta de áreas cultiváveis para viabilizar, técnica e economicamente, a disposição de efluentes no solo.

Diante desta realidade, é imprescindível o uso de outras estratégias de tratamento com capacidade de reduzir as altas cargas de nutrientes advindos da suinocultura, com o intuito de evitar danos ao meio ambiente.

Entre as estratégias de tratamento de efluentes atualmente existentes, a biodigestão anaeróbia é uma prática consolidada na remoção de carbono, que gera efluentes com baixa relação carbono/nitrogênio (C/N). Porém, o produto da biodigestão dificulta a remoção do nitrogênio pelas técnicas convencionais, como a da nitrificação autotrófica e a da desnitrificação heterotrófica, as quais são amplamente utilizadas pela ótima eficiência na remoção de compostos nitrogenados.

Assim, atualmente vêm sendo estudados novos processos para tratamento de efluentes com baixa relação C/N e com melhor custo-benefício, como é o caso da nitrificação parcial, da oxidação anaeróbia da amônia (anammox) e de seus sistemas combinados (desamonificação).

Neste sentido, o processo anammox é uma alternativa para remoção de altas concentrações de nitrogênio presentes no produto dos biodigestores. Porém, para ser aplicado, é necessária uma etapa anterior de nitrificação parcial, na qual aproximadamente metade do nitrogênio amoniacal contido no efluente é convertido em nitrito para proporcionar ao processo anammox as condições estequiométricas requeridas.

Esta combinação pode ser utilizada em dois diferentes reatores, um para o processo de nitrificação parcial e outro para o anammox, bem como em um único reator, no qual as culturas de bactérias com atividade anammox e oxidadoras de amônio coexistem. Estes sistemas combinados são chamados 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 sua economia de energia.

Durante a desamonificação, a produção de nitrito deve ser rigorosamente controlada por meio de diversos fatores, como estratégias de aeração e configuração de reatores, já que o nitrito se apresenta como agente inibidor do processo anammox.

A obtenção de condições ideais para o processo de desamonificação pode ser alcançada em diferentes tipos de sistemas, razão pela qual o presente estudo objetivou pesquisar duas configurações de reatores, um de leito suspenso e outro de leito expandido, com fluxo ascendente e com aeração e alimentação intermitentes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar duas configurações de reatores, comparando suas respectivas eficiências na remoção de nitrogênio pelo processo de desamonificação.

2.2 Objetivos específicos

- Estabelecer o processo de desamonificação em dois reatores de fluxo ascendente, com alimentação e aeração intermitente, um com biomassa suspensa e outro com leito expandido;
- Avaliar e comparar a influência das configurações dos reatores na eficiência de remoção de nitrogênio no processo;
- Averiguar a interferência de dois volumes de vazão de ar sobre o processo de desamonificação em ambos os reatores;
- Quantificar as biomassas, anammox e nitrificante, por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (qPCR).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Problema ambiental do nitrogênio e efluentes de interesse

O nitrogênio é um nutriente essencial para qualquer célula viva, pois faz parte das moléculas proteicas e ácidos nucleicos. Na natureza, este elemento encontra-se mais frequentemente na forma de amônia (NH_3) ou amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) ou gás N_2 (SCHMIDELL; REGINATTO, 2007). O nitrito é pouco encontrado, ou presente em baixas concentrações, por ser um composto intermediário no processo de redução de nitrato a amônia.

O nitrogênio gasoso (N_2) representa quase 80% da atmosfera, mas é o nutriente que muitas vezes limita a produção primária em ecossistemas, visto que as plantas e os animais não são capazes de usar N_2 nessa forma (BERNHARD, 2010).

O nitrogênio amoniacal pode apresentar graves implicações ambientais, pois necessita de uma alta demanda de oxigênio, já que para oxidar 1 mg de amônia (NH_3) são necessários 4,6 mg de oxigênio (O_2) (CERVANTES, 2009).

De acordo com Sant'Anna Junior (2010), o íon amônio (NH_4^+) é a forma de nitrogênio inorgânico mais abundante encontrada nas águas residuárias, cujo equilíbrio com a forma não ionizada (NH_3) é fortemente dependente do pH, conforme Equação 1.



A forma ionizada é predominante em valores de pH menores ou iguais a 7, muito comuns em águas naturais. Já valores de pH na faixa de 8 a 9,5 a fração na forma não ionizada cresce acentuadamente de cerca de 8 a 70%. Acima de pH 11, a forma não ionizada é dominante.

Já o nitrato (NO_3^-) pode causar metahemoglobinemia, que ocorre pela redução do NO_3^- à NO_2^- , e conseqüente oxidação do Fe^{2+} à Fe^{3+} , formando metahemoglobina que é incapaz de se ligar ao O_2 , impedindo, dessa forma, as trocas gasosas no organismo humano (sendo comum em bebês). Também, no organismo humano, o nitrito quando se combina com aminas secundárias, forma nitrosaminas que apresentam poder mutagênico e carcinogênico (BITTON, 2005; SADEQ et al., 2008).

Além disso, o aporte de nitrogênio e fósforo em corpos d'água acelera a multiplicação de organismos aquáticos fotossintetizantes, os quais resultam em uma aceleração do processo natural de eutrofização (OBAJA et al., 2003; FOWLER et al., 2013).

Estes nutrientes são encontrados em elevada quantidade nos dejetos de suínos, os quais tornam o manejo desta atividade um desafio, isso porque a atividade suinícola gera um grande volume de efluentes, criando problemas de armazenamento, distribuição e poluição ambiental (TECHIO et al., 2011).

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 (SEGANFREDO, 2007).

Atualmente, a principal tecnologia utilizada na agricultura para a remoção de matéria orgânica de dejetos suínos é a digestão anaeróbia. O processo de biodigestão anaeróbia é uma eficiente alternativa, no qual a matéria orgânica facilmente biodegradável é convertida em biogás (KUNZ et al., 2005; AMARAL et al., 2014).

Desse modo, somente a porção cuja biodegradabilidade é baixa permanece no efluente do digestor, como os compostos nitrogenados contidos nas águas residuárias, principalmente o íon amônio, resultando em um efluente com alta concentração de amônio e baixo carbono. Desse modo, tem-se um resíduo com baixa relação carbono/nitrogênio (C/N), necessitando, assim, de algum processo posterior (KUNZ et al., 2005; FIGUEROA et al., 2012).

Diante disto, torna-se necessário encontrar soluções sustentáveis para a remoção de nitrogênio destes efluentes suinícolas, os quais possuem uma relação carbono/nitrogênio baixa, antes de serem lançados em corpos d'água, reutilizados na agricultura ou no próprio processo produtivo.

3.2 Processos para remoção de nitrogênio

Há várias alternativas para a remoção de nitrogênio de efluentes, e estas podem ocorrer por meio de processos biológicos ou físico-químicos (VIVAN et al., 2010). Porém, os processos biológicos são amplamente utilizados devido a maiores possibilidades na remoção de compostos nitrogenados de efluentes.

Quanto aos processos biológicos de remoção de nitrogênio, ressaltam-se os processos conhecidos como convencionais: nitrificação e desnitrificação (KHIN; ANNACHHATRE, 2004).

Porém, efluentes que apresentam baixa relação C/N, como efluentes da biodigestão anaeróbia, dificultam a remoção do nitrogênio por meio dos processos de nitrificação autotrófica e desnitrificação heterotrófica.

Dessa forma faz-se necessário o uso de tecnologias de tratamento mais eficientes. Para isso, vários processos alternativos vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos, como é

o caso da nitrificação parcial, oxidação anaeróbia da amônia (anammox) e seus sistemas combinados (desamonificação) (DE PRÁ et al., 2012; MAGRI et al., 2012).

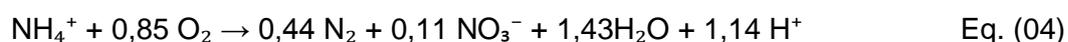
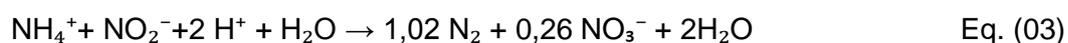
As vantagens da utilização desses processos, quando comparados a nitrificação/desnitrificação, estão na possibilidade de remoção de maiores cargas de nitrogênio sem a necessidade de adição de carbono orgânico, na baixa produção de lodo e na menor demanda de energia elétrica e oxigênio (VAN DER STAR et al., 2011). Porém, estes requerem uma maior controlabilidade, a fim de se obter as condições ideais para o processo de desamonificação.

3.2.1 Desamonificação

Uma nova proposta de tecnologia para o tratamento de efluentes é a combinação dos processos de nitrificação parcial e anammox em um mesmo reator, deste modo criando um conjunto de bactérias para eliminação do nitrogênio (LACKNER et al., 2014). A combinação destes dois processos tem recebido diferentes nomes: desamonificação, NP+ANAMMOX e CANON (BASSIN, 2011).

No processo de desamonificação, os grupos de bactérias nitrificantes (micro-organismos aeróbios) e anammox (micro-organismos anóxicos) devem cooperar ao longo do processo de forma a perfazerem um consórcio efetivo para remoção de nitrogênio (AHN, 2006).

As fórmulas estequiométricas para os processos de nitrificação parcial, anammox e desamonificação estão descritas abaixo, nas respectivas Equações 2, 3 e 4 (VANOTTI et al., 2012).



Este processo pode ser estabelecido em dois reatores em série ou em um único reator. Estes sistemas consomem até 63% menos oxigênio que um sistema de remoção de nitrogênio tradicional (THIRD et al., 2001).

3.2.1.1 Nitritação parcial

O processo de nitrificação é a conversão de amônia para nitrato, por meio de ação microbiana. Este processo é dividido em duas etapas: a nitritação e a nitratação.

A nitritação (Equação 5) é a conversão da amônia em nitrito, que ocorre pelo grupo de bactérias oxidadoras de amônia (BOA). Já a nitratação (Equação 6) é a conversão do nitrito para nitrato, via bactérias oxidadoras de nitrito (BON) (BITTON, 2005).



Assim, a nitritação, é a primeira parte do processo de nitrificação, tendo a oxidação do íon amônio somente a nitrito, pelas bactérias do grupo BOA, frequentemente do gênero *Nitrossomonas* (ZHU et al., 2008).

No caso da 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 chama-se nitritação parcial, conforme Equação 2 (ZHANG et al., 2011; DE PRA et al., 2012).

Refinados parâmetros controlativos de nitrito impedem o acúmulo do mesmo e permitem a estabilidade do processo. Isso pode se dar pelo favorecimento das BOA, devido à grande sensibilidade das BON em determinadas condições (IM et al., 2014).

Sendo assim, o grande desafio é manter as condições ideais de operação do processo de nitritação parcial. Para isso, se faz necessário o controle dos parâmetros de oxigênio dissolvido, temperatura, pH, amônia livre e ácido nitroso livre (GERARDI, 2002).

3.2.1.1.1 Oxigênio dissolvido

Tanto as BOA como as BON são bactérias que utilizam o oxigênio como aceptor final de elétrons no processo de oxidação. Ainda, quando se compara as BOA com as BON, observa-se que estas, embora possuam menor afinidade pelo oxigênio dissolvido (OD), exigem uma quantidade maior do mesmo. Isso significa que quando as BON são submetidas a baixas concentrações de OD, elas são inibidas em sua atividade oxidante, em razão da sensibilidade que apresentam em baixas concentrações (ZHU et al., 2008).

Este fato fica demonstrado quando se compara o crescimento das BOA e das BON com os valores de concentração de oxigênio. As BOA apresentam o valor de 0,3 mgO₂.L⁻¹, e as BON, de 1,1 mgO₂.L⁻¹ (CANZIANI et al., 2006).

Bassin (2011) fez um comparativo do efeito da concentração do oxigênio dissolvido no processo de nitrificação, conforme Tabela 1.

Tabela 1 Comparativo do efeito da concentração de OD no processo de nitrificação

Sistema	OD (mg.L ⁻¹)	Efeito	Referência
Lodos ativados	< 0,5	Acúmulo de amônio e nitrito	Ciudad et al. (2005)
	0,7	Acúmulo de nitrito em torno de 67% do amônio alimentado	
	1,0	80% oxidação de amônio, sendo 80% acumulados como nitrito	
	1,4	99% oxidação de amônio, sendo 70% acumulados como nitrito	
	2,4	99% oxidação de amônio, sendo 10% acumulados a nitrito	
	<0,5	Acúmulo de amônio e nitrito	
Crescimento em suspensão	1,7	Nitrificação completa	Ruiz et al. (2003)
	0,5	Acúmulo de nitrito	Hanaki et al (1990)
	6	Nitrificação completa	
Reator <i>air-lift</i>	1,0	Operação estável com 100% de acúmulo de nitrito	Kim et al (2003)
	< 1,0	Pequena conversão amônio e pequeno acúmulo de nitrito e nitrato	Garrido et al (1997)
	1,5	Conversão de 50% do amônio em nitrito	
	> 2,5	Nitrificação completa, oxidação de amônio dependendo da carga aplicada	
Reator com biofilme	0,5	Acúmulo estável de nitrito (90%) e 100% de remoção amônio	Bernet et al. (2001)
	> 0,5	Acúmulo de nitrato no efluente; diminuição do OD propicia novamente acúmulo de nitrito	
Filtro biológico aerado	2,0 – 5,0	Acúmulo de nitrito de até 60% na conversão de amônio	Joo et al. (2000)
Reator de leito móvel com biofilme	3,0	Conversão de 50% do amônio em nitrito. Nitrificação completa após 11 meses de operação	Fux et al. (2004)

Dessa forma, quando a concentração de oxigênio é restringida, se desfavorece o crescimento das BON, contribuindo para o acúmulo de nitrito (IM et al., 2014).

A influência da concentração do OD sobre o acúmulo do nitrito foi estudada por Bae et al. (2002), os quais observaram que em concentrações de 1,5 mgO₂.L⁻¹ ocorre maior acúmulo de nitrito, e que na concentração de 2,5 mgO₂.L⁻¹ há disponibilidade de oxigênio para atividade das BOM e, conseqüentemente, existe produção de nitrato que se acumulou no sistema. Também foi averiguado que em altas concentrações de OD (> 2,5 mgO₂.L⁻¹), pode ocorrer a nitrificação completa.

Por outro lado, Wei et al. (2014) afirmam que para se ter o processo de nitrificação parcial estável, deve-se manter o oxigênio dissolvido entre concentrações de 0,5 a 1,0 mgO₂.L⁻¹.

Então, a vantagem das BOA em relação às BON fica facilmente evidenciada em ambientes que apresentam restrição de oxigênio, sendo este um possível parâmetro a ser utilizado como estratégia para se ter a inibição seletiva das bactérias oxidadoras de nitrito, de modo a não prejudicar a ação das oxidadoras de amônia (YOO et al., 1999; OKABE et al., 2011a).

3.2.1.1.2 Temperatura

A temperatura é um parâmetro que influencia diretamente as taxas de crescimento das BOA e BON. Assim, Wiesmann et al. (2007) fizeram um comparativo entre diversas temperaturas e seus respectivos efeitos, a qual demonstra que conforme a temperatura aumenta, ocorre um crescimento das bactérias oxidadoras de amônia, conforme Tabela 2.

Tabela 2 Efeito da temperatura na velocidade máxima de crescimento (μ_{max}) das bactérias nitrificantes

Temperatura (°C)	μ_{max} BOA (h ⁻¹)	μ_{max} BON (h ⁻¹)	Referência
30	0,0822	0,058	Knowles et al. (1965)
25	0,0064	0,005	Bergeron (1978)
	0,038	0,041	Pirsing (1996)
22,5	-	0,019	Dombrowski (1991)
	0,074	0,019	Lindermann (2002)
20 - 22	0,0063	-	Horn-Hempel (1996)
20	0,0138	-	Dombrowski (1991)
	-	0,034	Okabe et al. (1995)
15 - 17	0,032	0,034	Wiesmann (1994)
	0,04	0,016	Nyhius (1985)

Neste contexto, pode-se observar na Figura 1 o efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento das BOA e das BON, em que se percebe que em temperaturas inferiores o crescimento das BON é promovido (ZHU et al., 2008).

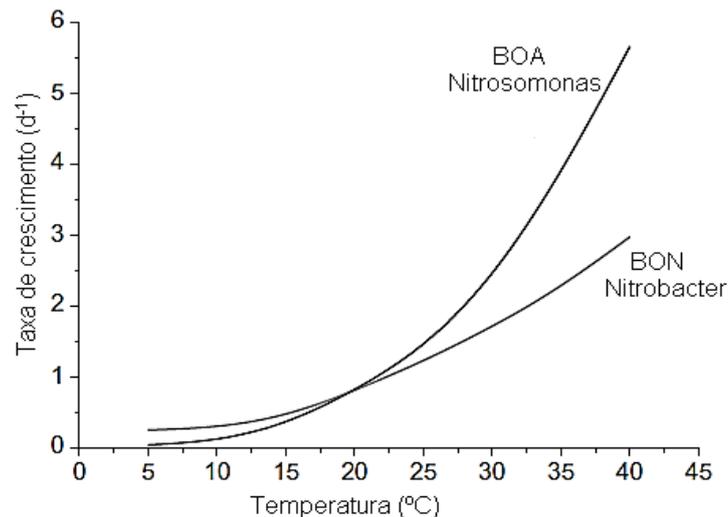


Figura 1 Efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e das bactérias oxidadoras de nitrito (BON).

Fonte: (ZHU et al., 2008).

Portanto, temperaturas mais elevadas promovem o crescimento das BOA. No entanto, altas temperaturas (>30 °C) podem levar a um grande consumo de energia para aquecer o efluente e, em algumas situações, a operação de reatores a menores temperaturas (≤ 25 °C) pode se tornar interessante.

3.2.1.1.3 pH, amônia livre e ácido nitroso

Em certas concentrações, a amônia livre (AL) e o ácido nitroso livre (ANL) têm um efeito inibitório no processo de nitrificação (PARK; BAE, 2009). Tendo em vista que essas concentrações dependem diretamente do pH, da temperatura e das concentrações de amônio e nitrito (LIANG; LIU, 2007).

Entende-se, então, que o pH é de grande importância, isso por ele reger o equilíbrio das formas nitrogenadas. Já que em pH neutro ou ácido, o nitrogênio amoniacal encontra-se sob a forma ionizada (NH_4^+); no entanto, à medida que o pH se eleva, o equilíbrio é deslocado para a forma livre e citotóxica (NH_3), a qual, com valores mais elevados de pH (pH > 8), é facilmente perdida para a atmosfera, como observado na Figura 2 (BITTON, 2005; SCHMIDELL NETO; REGINATTO, 2007).

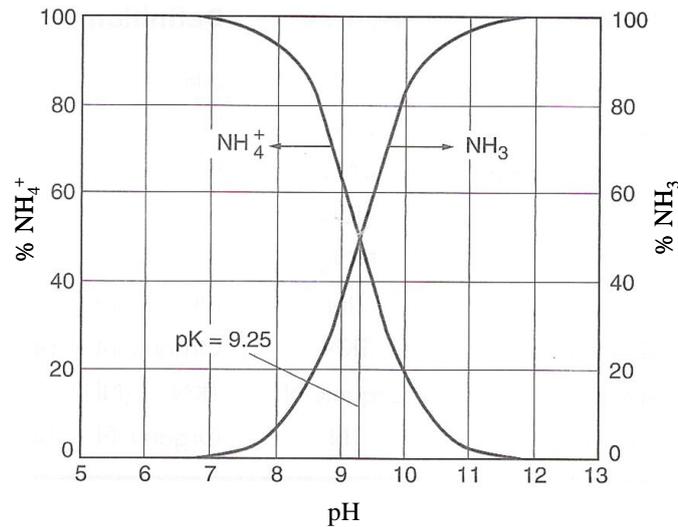


Figura 2 Equilíbrio amônia e amônio em função do pH.
Fonte: Bitton (2005)

A amônia livre (NH_3), apesar de ser a forma citotóxica, é a forma que a célula consegue utilizar como substrato (VAN HULLE et al., 2007); porém, quantidades excessivamente altas ou baixas de AL são ambas prejudiciais para a nitrificação.

Hawkins et al. (2010), Liang et al. (2011) e Okabe et al. (2011) demonstraram que em concentrações de AL até $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$, as BON podem ser inibidas, enquanto que as BOA toleram concentrações de até 150 mg.L^{-1} .

A nitrificação pode ser inibida por ácido nitroso livre (ANL) em uma concentração entre $0,22$ e $2,8 \text{ mg.L}^{-1}$. Da mesma forma, à medida que os valores de pH são reduzidos, o equilíbrio é deslocado para acréscimo nas concentrações de ANL. Esse composto apresenta-se tóxico para ambas as bactérias mesmo em baixas concentrações, o que justifica a importância de evitar sua formação (ANTHONISEN et al., 1976).

O equilíbrio químico do sistema para formação de AL e ANL pode ser calculado com base nas Equações 7 e 8, propostas por Anthonisen et al. (1976).

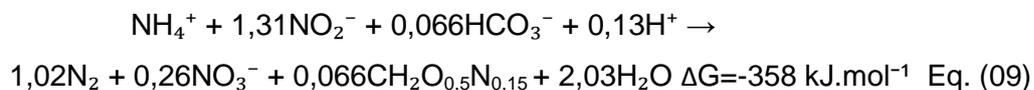
$$\text{AL (NH}_3, \text{mg. L}^{-1}) = \frac{17}{14} \times \frac{[\text{total de amônia como N}] \times 10^{\text{pH}}}{e^{\left[\frac{6344}{273 + T(^{\circ}\text{C})}\right]} + 10^{\text{pH}}} \quad \text{Eq. (07)}$$

$$\text{ANL (HNO}_2, \text{mg. L}^{-1}) = \frac{46}{14} \times \frac{[\text{N-NO}_2^-]}{e^{\left[\frac{2300}{273 + T(^{\circ}\text{C})}\right]} \times 10^{\text{pH}}} \quad \text{Eq. (08)}$$

3.2.1.2 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 (STROUS et al., 1999).

Este processo é uma rota alternativa que consiste na oxidação do íon amônio, via micro-organismos específicos, diretamente a nitrogênio gasoso, tendo o nitrito como acceptor de elétrons, produzindo uma pequena quantidade de nitrato, conforme Equação 9 (VAN DE GRAAF et al., 1995; SCHEEREN et al., 2011).



As bactérias com atividade anammox pertencem ao filo *Planctomycetes*, porém vários são os gêneros identificados como capazes de realizar este processo (KUENEN, 2008; ZHANG et al., 2008).

Estima-se, pela máxima atividade das bactérias e do fator de conversão de substrato em biomassa, que o tempo de duplicação para estas bactérias seja de 9 a 11 dias, tendo, assim, uma taxa de crescimento lenta; com isso, o processo produz pouco volume de lodo (VAN DE GRAAF et al., 1996; JETTEN et al., 2001).

Os micro-organismos responsáveis por esta reação são quimiolitotóxicos (produzem seu alimento a partir da energia liberada por reações químicas), anaeróbios e sofrem inibição reversível na presença de oxigênio (STROUS et al., 1998).

Além disto, há vários fatores que interferem no processo, como: oxigênio, temperatura, pH, consistência do grânulo e influência do nitrito, nitrato e amônio (JIN et al., 2012).

3.2.1.2.1 Oxigênio dissolvido

É importante conhecer a influência do oxigênio sobre o processo anammox, principalmente porque o mesmo será combinado com o processo de nitrificação parcial, conforme comentado anteriormente no item 3.2.1.1.

Desse modo, a interação entre as bactérias aeróbias e anaeróbias presentes no sistema desempenha papel fundamental para o desenvolvimento do processo de desamonificação. Enquanto as BOA demandam amônia e oxigênio como fonte de substrato, as bactérias com atividade anammox exigem amônia e nitrito. Sabe-se que as BON exigem nitrito e oxigênio, e caso estejam presentes no meio, podem interromper o processo de desamonificação devido à competição por oxigênio com as BOA e por nitrito com o processo anammox. Por isso, manter a seletividade das populações microbianas é uma condição fundamental no processo de desamonificação, sendo que o oxigênio pode ser utilizado para isto (BASSIN, 2011).

Baixas concentrações de oxigênio no meio podem interferir na eficiência do processo anammox, considerando que o mesmo ocorre em condições anóxicas.

A concentração de oxigênio dissolvido pode provocar a inibição completa do processo, inibição parcial ou até mesmo a competição entre bactérias aeróbias e anaeróbias oxidadoras de amônio, diminuindo, assim, a remoção de nitrogênio pelo processo anammox (SCHEEREN et al., 2011).

Strous et al. (1997) demonstraram que o metabolismo de bactérias com atividade anammox foi parcialmente inibido em concentrações de oxigênio dissolvido de $0,2\text{mg.L}^{-1}$, a qual ainda possibilita a reversibilidade quando em condições anóxicas. Já em concentrações de OD de até $1,0\text{mg.L}^{-1}$, ocorre inibição completa. Por esta razão, o OD deve ser estritamente controlado para que não haja mudança no aceptor de elétrons, a fim de evitar inibição do processo.

Cho et al. (2010) operaram um reator granular de fluxo ascendente, com concentração de OD de $0,5\text{mg.L}^{-1}$, o reator apresentou atividade anammox com elevada remoção de nitrogênio. Porém, houve a necessidade de injetar nitrogênio gasoso no meio de cultura para manter a concentração de OD baixa (até $0,5\text{mg.L}^{-1}$).

3.2.1.2.2 Temperatura e pH

A temperatura é um fator importante para o crescimento e atividade metabólica celular anammox, sendo que a temperatura ideal se encontra na faixa de $40 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (SLIEKERS et al., 2003). Em temperaturas maiores que $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, ocorre um decaimento irreversível na atividade (DOSTA et al., 2008).

Strous et al. (1999a) estimaram as velocidades específicas de consumo de substrato (nitrito e amônio) e formação de produto (nitrito) a diferentes temperaturas, em que foi observada atividade anammox na faixa de 20 a $43\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo que a ótima foi de $40 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, e observaram a ausência de atividade para temperaturas inferiores a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A faixa de pH apropriada para o processo anammox varia dependendo da espécie de bactéria, mas geralmente o pH adequado se situa entre $6,7$ e $8,3$, com a velocidade de remoção de nitrogênio máxima ocorrendo a pH $8,0$ (STROUS et al., 1999). Baixo pH diminui a concentração de AL, porém aumenta a concentração de ácido nitroso livre (ANL), visto que bactérias com atividade anammox são vulneráveis à inibição por ANL em concentração de $0,07\text{mg.L}^{-1}$ (JIN et al., 2012; MOSQUERA-CORRAL et al., 2005).

3.2.1.2.3 Consistência do grânulo

A tensão de cisalhamento é a medida da intensidade das forças agindo entre as partículas, causando, assim, a desestruturação do grânulo de biomassa com atividade anammox.

O efeito da tensão de cisalhamento no processo anammox, foi estudado em um reator SBR por Arrojo et al. (2006) com o intuito de expor o sistema às condições de cisalhamento. O reator foi operado sob velocidades de agitação diferentes, para que a estabilidade dos grânulos em relação à atividade biológica e, também, quanto ao tamanho, pudesse ser estudada.

Durante a maior parte do experimento, a remoção de nitrito manteve-se em 98% e a atividade anammox específica foi praticamente constante, em torno de $0,4 \text{ gN.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$, com diâmetro médio dos grânulos de 0,64 mm. Pelos resultados obtidos, observou-se que na velocidade de 250 rpm, a atividade das bactérias diminuiu para 40% e o diâmetro médio diminuiu para 45%. Deste modo, o cisalhamento provocou concentração de sólidos no efluente e também, acúmulo de nitrito no reator, contribuindo para a instabilidade do processo (ARROJO et al., 2008).

Tang et al. (2013) desenvolveram modelos matemáticos com base na compactação e expansão do grânulo em um reator de fluxo ascendente para estimar as altas taxas de conversão de nitrogênio de bactérias com atividade anammox. Eles evidenciaram que as altas taxas de remoção ocorrem em densidade de compactação de 50 a 55 %.

Lu et al. (2012) estudaram a estrutura, densidade e sedimentação do grânulo de bactérias com atividade anammox em reator de fluxo ascendente com alta remoção de nitrogênio e demonstraram que partículas com até 2,20 mm são ideais, a fim de evitar a flotação dos grânulos no reator.

Assim, deve-se ter cautela com a desestruturação do grânulo anammox, tendo em vista que isto pode causar acúmulo de nitrito e perda de atividade.

3.2.1.2.4 Influência do nitrato e amônio

Com a finalidade de aplicar o processo anammox no tratamento de águas residuárias que possuem alta concentração de nitrogênio amoniacal, é necessário conhecer o efeito que os substratos e produtos exercem sobre a atividade específica das bactérias com atividade anammox.

Strous et al. (1999) reportaram que o processo anammox não é inibido por amônio ou por nitrato em concentrações abaixo de 1000 mgN.L^{-1} . No entanto, outros estudos têm relatado que altos níveis de amônia suprimem o processo anammox (DAPENA-MORA et al., 2007; FERNÁNDEZ et al., 2012; STROUS et al., 1999). Dapena-Mora et al. (2007) testaram diferentes concentrações iniciais de amônio e nitrato individualmente, na qual estimaram a concentração de inibição de 50% da atividade com valores de 770 e 630 mgN.L^{-1} , respectivamente.

Dexiang et al. (2007) observaram baixa atividade anammox em baixas razões de bicarbonato: amônio (2,3:1), a atividade possivelmente é diminuída devido à limitação de

CO₂. Em contrapartida, alta concentração de bicarbonato (4,7:1) pode levar à inibição. Neste caso, a inibição está relacionada com a formação de AL, devido ao aumento do pH (pH > 8).

3.2.1.2.5 Influência do nitrito

A inibição ou redução da eficiência do processo das BOA, provocada pelas concentrações dos compostos nitrogenados, variam de um estudo para o outro, devido à espécie de bactéria utilizada, à configuração do reator e às condições físicas oferecidas ao processo (DAPENA-MORA et al., 2007).

Fux (2003) manteve bactérias com atividade anammox em concentração de nitrito de 40 mgN-NO₂⁻.L⁻¹, em que evidenciou a inativação irreversível das bactérias. Schierholt Neto (2007), em seu estudo, utilizou um reator de fluxo ascendente com biomassa imobilizada e observou o início da inibição do processo anammox por nitrito a uma concentração de 140 mgN-NO₂⁻.L⁻¹. Dapena-Mora et al. (2007) testaram diferentes concentrações iniciais de nitrito e estimaram a concentração de inibição de 50% da atividade no valor de 350 mgN-NO₂⁻.L⁻¹. Egli et al. (2001) observaram que o processo anammox foi somente inibido quando submetido a concentrações superiores a 182 mgN-NO₂⁻.L⁻¹.

Pesquisas realizadas por Strous et al. (1999) reportaram que uma maneira de tentar restaurar a atividade anammox, devido à inibição por nitrito, consiste na adição de quantidades traço de intermediários do processo, tais como hidroxilamina e hidrazina. Neste estudo, eles mostraram que com o aumento do nitrito a estequiometria do processo sofreu alteração. A estequiometria de consumo de amônio e nitrito passou de 1,3g de nitrito por grama de amônia, quando a concentração de nitrito foi de 0,14gN.L⁻¹, para quase 4g, quando a concentração de nitrito era de 0,7gN.L⁻¹.

A mudança significativa da estequiometria em altas concentrações de nitrito permite inferir que os micro-organismos, quando submetidos a essas condições, não usam apenas amônio como doador de elétrons, como também geram um doador de elétrons interno para reduzir o nitrito (BASSIN, 2011).

A concentração de nitrito é um fator muito importante a ser controlado neste processo. Assim, percebe-se que é fundamental ter uma determinada concentração de nitrito durante a partida do sistema. Porém, deve-se ter em vista que se a concentração de nitrito for muito baixa o substrato fica limitado, ocasionando baixo crescimento e, se as concentrações forem muito elevadas, estas podem ocasionar inibição do processo (BASSIN, 2011).

3.2.1.3 Arranjo de processos para desamonificação

3.2.1.3.1 Desamonificação em dois reatores

O processo de desamonificação em dois reatores ocorre da seguinte maneira: primeiramente tem-se um reator de nitrificação parcial (reator aerado) e, posteriormente, o reator anammox (reator não aerado), cada qual com suas respectivas características de operação, sendo tratados separadamente conforme observa-se na Figura 3 (VAN DER STAR et al., 2011).

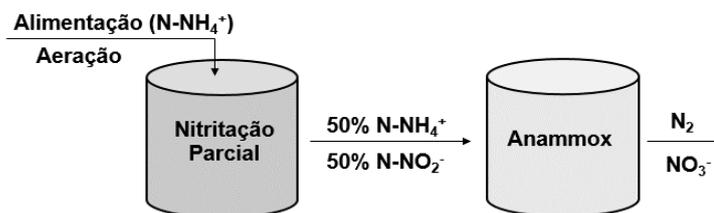


Figura 3 Representação esquemático do processo de desamonificação em dois reatores.

Assim, tem-se um primeiro reator operando em condições de aerobiose, com predominância de atividade das BOA, com a finalidade de gerar nitrito (OKABE et al., 2011).

É importante manter um controle rigoroso do primeiro reator, pois este pode limitar a eficiência global de eliminação de nitrogênio. Assim, como controle operacional do processo ideal, mantendo a estabilidade da atividade das bactérias oxidadoras de amônia, a fim de não diminuir a eficiência de remoção de nitrogênio posteriormente no processo anammox (FUX et al., 2002).

3.2.1.3.2 Desamonificação em reator único

O processo de desamonificação foi proposto em dois reatores como forma de ser facilmente operado e para ser economicamente viável em plantas de tratamento maiores, quando comparado aos processos de nitrificação/desnitrificação. Todavia, posteriormente, com o desenvolvimento de novas tecnologias, o sistema de reator único passou a ser mais utilizado. Este fato se deu em razão da sua simplicidade, bem como por este novo sistema usar menos material, espaço físico e, também, 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 esta pode ser alcançada com menor aeração, espaço e energia (HAO; VAN LOOSDRECHT, 2002; LACKNER et al., 2014).

A partir da Figura 4, pode-se entender melhor o funcionamento do processo de desamonificação em reator único.

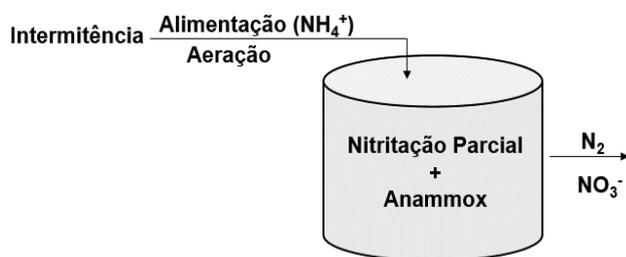
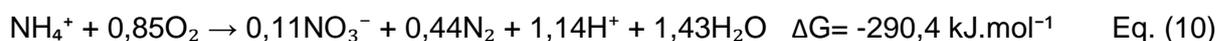


Figura 4 Esquema representando o processo de desamonificação em reator único.

Da mesma forma que em dois reatores, o processo de desamonificação em reator único consiste na oxidação parcial da amônia a nitrito sob condição de oxigênio limitado e, subsequentemente, a conversão deste nitrito, juntamente com o amônio remanescente a nitrogênio gasoso. Ambos os processos ocorrem em um único reator, e a equação global da reação de remoção de nitrogênio está descrita na Equação 10 (SLIEKERS et al., 2002; VANOTTI et al., 2012).



Considerando que bactérias com atividade anammox são reversivelmente inibidas por baixas concentrações de oxigênio, para que esse processo possa ocorrer em um único reator, a oxidação aeróbia do amônio deve remover todo o oxigênio (SLIEKERS et al., 2002; BASSIN, 2011).

Durante o processo, o acúmulo de nitrito é o ponto chave, porque, além de ser substrato, pode ser um agente inibidor para o processo anammox. Em razão destes fatos e com o intuito de controlar a transferência de oxigênio, a produção de nitrito deve ser rigorosamente controlada por meio de diferentes estratégias de aeração e configurações de reatores (LIU et al., 2008; CARVAJAL-ARROYO et al., 2014).

3.2.1.4 Configuração de reatores

A obtenção de condições ideais para o processo de desamonificação pode ser alcançada em diferentes tipos de sistemas. Em função do baixo crescimento das bactérias com atividade anammox, deve-se utilizar um reator que retenha a biomassa e possua alta eficiência na remoção de nitrogênio amoniacal. Desta forma, reatores que possuam a configuração de fluxo ascendente são muito utilizados (CASAGRANDE et al., 2013), também em escala real, pois são de menor custo operacional quando comparados com as configurações SBR, biorreator de membrana e UASB (CASAGRANDE et al., 2013; TANG et al., 2011).

Cho et al. (2010) utilizaram um reator de fluxo ascendente com anammox que removeu uma carga de 17,4 gN.L⁻¹.d⁻¹. Casagrande et al. (2013), com o mesmo objetivo,

conseguiram valores de $18,3 \text{ gN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$. Estes resultados são muito superiores aos de processos de nitrificação/desnitrificação, os quais ficam em torno de $0,41 \text{ gN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ (BORTOLI, 2010).

O processo de desamonificação foi originalmente proposto em reatores do tipo SBR, mas a proposta também é válida para sistemas com biofilme (EGLI et al., 2003) e reatores *gas-lift* (SLIEKERS et al., 2003).

Egli et al. (2003) estudaram a composição microbiana de um sistema de biodiscos rotativos com biofilme, o qual revelou a presença de BOA e anammox na parte externa e interna do biofilme, respectivamente. Nesse mesmo contexto, demonstraram que os reatores de biomassa em suspensão trabalham com ótimo rendimento por possuírem um gradiente de concentração de substrato e oxigênio dissolvido.

Porém, pensando na lógica de fluxo ascendente, que possuem maiores cargas de remoção de nitrogênio, diferentes configurações de leito de reatores têm sido propostas, dentre as quais destacam-se os reatores com leito fixo, expandido, suspenso e fluidizado, conforme Figura 5 (ZHENG et al., 2013).

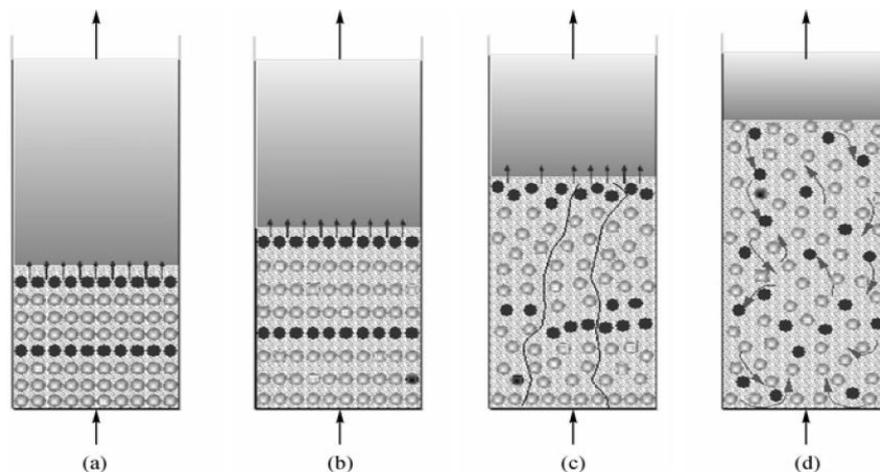


Figura 5 Representação esquemática de fluxo no reator. **(a)** leito estático, **(b)** leito expandido, **(c)** leito suspenso, **(d)** leito fluidizado.

Fonte: ZHENG et al. 2013.

Reatores com biomassa em suspensão estão destacando-se como preferência na utilização do tratamento de efluentes (CUI, 2012). Porém, estes reatores apresentam alguns problemas como a resistência na transferência de massa, devido a fluxos preferenciais que podem facilitar a ocorrência de zonas mortas no reator (KATO et al., 2003).

Dessa forma, reatores do tipo leito expandido são utilizados por possuírem maior proporção de tamanho (altura x superfície), proporcionando mais velocidade no fluxo ascendente e melhorando o contato do substrato com a biomassa (FANG et al., 2011). Este tipo de leito também propicia a permanência da biomassa no reator, o que contribui significativamente para a estabilidade do processo (KATO et al., 2003).

A eficiência de um reator com leito expandido, o seu controle operacional e a formação dos consórcios de micro-organismos dependem da movimentação das partículas. Logo, a velocidade ascensional empregada deve ser proporcional, a fim de promover a expansão das biopartículas contidas na zona de reação e impedir a desagregação do grânulo (KATO et al., 1997).

Considera-se leito fluidizado o reator com gradiente de pressão que não depende da velocidade ascensional, ao passo que os reatores expandidos são aqueles operados com velocidades ascensionais inferiores a velocidade mínima de fluidização (KUNII; LEVENSPIEL, 1969).

Jewell et al. (1981) consideram que reator de leito expandido tem sua expansão na ordem de 10 a 20% do leito estático inicial. Quando a expansão é superior a 100%, o reator é considerado fluidizado.

Portanto, para a aplicação do processo em escala real, algumas etapas devem ser seguidas. Inicialmente, entende-se que é necessário haver mais estudos com relação a configuração de reatores, usando-se efluentes sintéticos, em razão da importância de diminuir, ou ao menos estabilizar a interferência de fatores externos.

Posteriormente, quando superada esta fase e encontrada uma configuração ideal de reator para o processo de desamonificação, será possível a utilização de efluentes provenientes da biodigestão anaeróbia para o aprofundamento do estudo deste processo, sempre visando a sua efetiva aplicação em escala real.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Experimentação e Análises Ambientais (LEAA) da Embrapa Suínos e Aves, unidade descentralizada da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Concórdia/SC.

4.1 Caracterização do inóculo

Para estabelecer o processo de desamonificação, utilizou-se biomassa proveniente de dois reatores, um com atividade anammox e o outro nitrificante, cada qual com seus processos estabelecidos, ambos operados em escala laboratorial. Já as velocidades específicas foram obtidas por meio de ensaios cinéticos de consumo de substrato e formação de produto.

A razão da concentração celular da biomassa, nitrificante e anammox, utilizada na inoculação dos reatores objeto deste trabalho, foi determinada a partir da relação entre as velocidades específicas de consumo de nitrogênio de cada uma, de forma a encontrar um equilíbrio entre estes consórcios microbianos.

4.1.1 Ensaio cinético

Para ambas as bactérias, nitrificantes e anammox, o ensaio cinético foi realizado utilizando-se o reator em que os experimentos foram conduzidos (veja item 4.2), operando em batelada e com reciclo interno, somente. A temperatura do processo foi mantida constante em 25 °C. A vazão de ar foi controlada a 30 mL.min⁻¹.L⁻¹ por um compressor de ar acoplado a um controlador de vazão e a difusores submersos.

A cada 30 minutos, foram realizadas amostragens, acompanhamento do pH, oxigênio dissolvido, temperatura, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato e alcalinidade e, ao término do experimento, foi realizada análise de sólidos suspensos voláteis (SSV) para determinação da concentração celular (APHA, 2012). Cada ensaio teve duração média de 3 horas.

A composição dos meios de cultura utilizados para os ensaios cinéticos de bactérias com atividade anammox (anexo 1) e nitrificantes (anexo 2) seguiram o descrito por Schierholt Neto et al. (2006a) e Magrí et al. (2012), respectivamente.

A velocidade de consumo de substrato (r_s) e a velocidade específica de consumo de substrato (μ_s) foram determinadas a partir da regressão linear das concentrações de substrato em função do tempo, obtidas nos ensaios cinéticos, conforme as Equações 11 e 12, respectivamente.

$$r_s = - \frac{dS}{dt} \quad \text{Eq. (11)}$$

Onde:

r_s - velocidade de consumo de substrato ($\text{mgN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$);

S - concentração do substrato (mgN.L^{-1});

t - tempo (h).

$$\mu_s = \frac{1}{X} \left(- \frac{dS}{dt} \right) \quad \text{Eq. (12)}$$

Onde:

μ_s - velocidade específica de consumo de substrato ($\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

X - concentração celular ($\text{mgSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$).

4.1.2 Razão entre inóculos

Para determinar a razão ideal entre inóculos, partiu-se da hipótese de que para obter o equilíbrio entre o consumo de substrato de ambas as bactérias, anammox e nitrificante, suas velocidades de produção de substrato (via nitrificação parcial) e consumo pelo processo anammox devem ser similares.

A razão entre as concentrações de biomassa anammox e nitrificantes foram determinadas através de suas respectivas velocidades específicas de consumo de nitrogênio (μ_s), obtidas nos ensaios cinéticos de atividade, conforme a Equação 13.

$$\text{Razão entre inóculos} = \frac{\mu_{N\text{-anammox}}}{\mu_{N\text{-nitriif.}}} \quad \text{Eq. (13)}$$

Onde:

$\mu_{N\text{-nitriif.}}$ - velocidade específica de consumo de NH_4^+ pelas bactérias nitrificantes ($\text{gN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

$\mu_{N\text{-anammox}}$ - velocidade específica de consumo de NH_4^+ e NO_2^- pelas bactérias com atividade anammox ($\text{gN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

A concentração de biomassa nitrificante inoculada foi calculada mantendo-se a concentração de biomassa anammox constante e relacionando as velocidades específicas de consumo de nitrogênio, conforme Equação 14.

$$X_{nitrif.} = \frac{X_{anammox} \times \mu_{N-anammox}}{\mu_{N-nitrif.}} \quad \text{Eq. (14)}$$

Onde:

$X_{nitrif.}$ - concentração celular nitrificante (g.SSV.L⁻¹);

$X_{anammox}$ - concentração celular anammox (g.SSV.L⁻¹);

4.2 Aparato experimental

O trabalho foi composto por dois sistemas experimentais, chamados de reator LS e reator LE (Figura 6 e Figura 7).

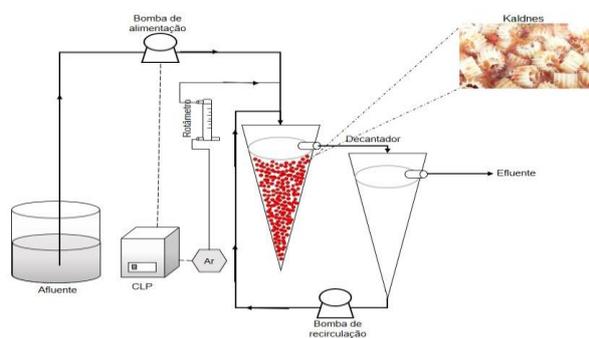


Figura 6 Representação esquemática do sistema operacional do reator LS (leito suspenso).

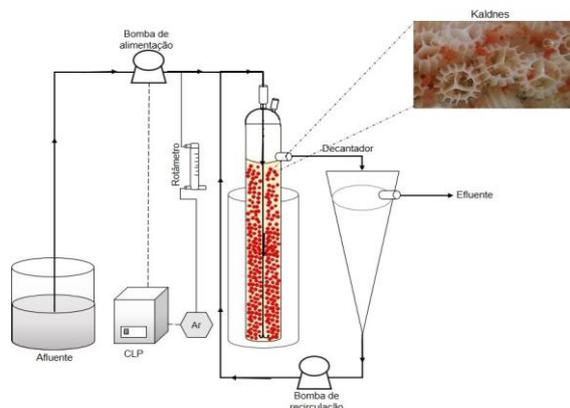


Figura 7 Representação esquemática do sistema operacional do reator LE (leito expandido).

Os dois sistemas utilizaram: banho termostático para manter a temperatura dos reatores a 25 °C, aquecido (Atman 200 Eletronic Heater) e recirculado por uma bomba submersa (Sarlobetter Bomba 520), um sedimentador (cone Imhoff, com volume útil de 1 L) para reciclo de biomassa com vazão de 6,7 L.d⁻¹ (2,5x maior que vazão de entrada). O meio suporte utilizado para crescimento, aderência e retenção da biomassa foi do tipo Kaldnes (55g v/v).

A alimentação e aeração dos reatores foram controladas por um Controlador Lógico Programável (CLP) (Dexter, modelo µDX série 100), regido pelo software de programação

gráfica PG v6.8 da Dexter. As vazões de alimentação e o reciclo de biomassa foram controladas por bombas peristálticas (Milan, BP-600).

Os reatores possuíam fluxo ascendente com aeração e alimentação intermitentes e volume útil de 1 L e o tempo de retenção hidráulica (TRH) de 9 h. Foram utilizados ciclos de 30 minutos, sendo a alimentação e a aeração ligadas por 15 minutos (fase aeróbia) e 15 minutos desligada (fase anóxica). O reator LS foi construído a partir de um cone Imhoff de acrílico e possuía leito suspenso. Já o reator LE foi construído em vidro e com leito expandido. Os parâmetros operacionais de cada reator estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 Parâmetros operacionais para os reatores LS e LE

Parâmetro	Unidade	Reator LS	Reator LE
Leito	-	Suspenso	Expandido
Temperatura	°C		25
TRH	h		9
Vazão alimentação	L.d ⁻¹		2,70
Vazão recirculação	L.d ⁻¹		6,7
Volume útil	L		1
Carga	KgN.m ⁻³ .d ⁻¹		0,8
Meio suporte	g.L ⁻¹		55
Ciclos	-	15 on / 15 off	

Os reatores foram alimentados com meio de cultura sintético, composto por nitrogênio amoniacal, nutrientes e microelementos, conforme descrito por Magrí et al. (2012) – anexo 2. Com relação ao parâmetro pH, este foi somente monitorado para averiguar se o mesmo mantinha-se estável.

4.2.1 Aeração dos reatores

A aeração dos reatores se deu por injeção de ar no reator, a qual foi controlada por um compressor de ar 2,5 W (A230, Big Air) acoplado a um rotâmetro (Gilmont, GF-9260) e, posteriormente, ligado a um difusor de ar da marca Boyu, flexível e poroso de borracha de 15cm inserido no fundo do reator.

A operação dos reatores foi dividida em três fases (Tabela 4), conforme vazão de aeração. A primeira fase com vazão de ar de 30 mL.min⁻¹.L⁻¹, a segunda fase com 20 mL.min⁻¹.L⁻¹ e a terceira fase com 30 mL.min⁻¹.L⁻¹. A vazão de ar inicial de 30 mL.min⁻¹.L⁻¹ foi utilizada com base em estudos prévios (DE PRÁ, 2013; CORADI, 2014).

Tabela 4 Divisão de fases por vazão de ar dos reatores A e B

Fase	Dias de operação	Vazão de ar (mL.min ⁻¹ .L ⁻¹)
I	0-12	30
II	13-35	20
III	36-55	30

4.2.2 Vazão de alimentação dos reatores

A vazão de alimentação com meio sintético dos reatores A e B foi calculada por meio da Equação 15, com definição prévia da carga de nitrogênio a ser aplicada.

$$Q = \frac{CNA \times V}{S} \quad \text{Eq. (15)}$$

Onde:

Q - Vazão (L.d⁻¹);

CNA - Carga (mgN.L⁻¹.d⁻¹);

V - Volume útil do reator (L);

S - Concentração de nitrogênio amoniacal total na alimentação (mgN.L⁻¹).

4.2.3 Operação e monitoramento dos reatores

O acompanhamento dos sistemas foi realizado por análises físico-químicas LEAA/Embrapa. As coletas e pontos de amostragem estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 Pontos de amostragem, frequência de coleta e análises realizadas

Pontos de amostragem	Análises realizadas	Frequência das análises
Entrada	N-NH ₃ , N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , Alcalinidade	Diariamente
Meio do reator	pH, OD, temperatura qPCR	Diariamente 1 vez por fase
Saída	N-NH ₃ , N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , Alcalinidade	Diariamente

4.2.4 Cálculo dos coeficientes estequiométricos

Os coeficientes estequiométricos são dados importantes para o acompanhamento do processo. A partir destes é possível comparar o resultado obtido com a literatura e, assim, saber se o processo está estabelecido. Dessa forma, estes são calculados com base nas Equações 16, 17, 18, 19 e 20.

$$Coef.N - NO_3^- = \frac{(NO_3^- out - NO_3^- in)}{(NH_4^+ in - NH_4^+ out)} \quad Eq. (16)$$

$$Coef.N_2 = \frac{\left(1 - \left(\frac{(NO_2^- out - NO_2^- in)}{(NH_4^+ in - NH_4^+ out)} + (Coef. NO_3^-)\right)\right)}{2} \quad Eq. (17)$$

$$Coef.O_2 = \frac{\left((Coef.NO_3^- \times 3) + \left(\frac{(NO_2^- out - NO_2^- in)}{(NH_4^+ in - NH_4^+ out)} \times 2\right) + \frac{\left(4 - \frac{(CaCO_3 in - CaCO_3 out)}{(NH_4^+ in - NH_4^+ out)}\right) \times \frac{14}{50}}{2}\right)}{2} \quad Eq. (18)$$

$$Coef.H^+ = \left(\frac{CaCO_3 in - CaCO_3 out}{NH_4^+ in - NH_4^+ out}\right) \times \frac{14}{50} \quad Eq. (19)$$

$$Coef.H_2O = \left(\frac{(4 - Coef.H^+)}{2}\right) \quad Eq. (20)$$

4.3 Determinações analíticas

Para acompanhar o desenvolvimento do processo de desamonificação nos reatores, foram realizadas análises de nitrogênio na forma de íon amônio, nitrito, nitrato e de alcalinidade. Também foram monitorados a temperatura, o pH e a concentração de OD na fase aeróbia e anóxica.

4.3.1 Nitrogênio amoniacal total (NAT)

As análises de nitrogênio amoniacal total foram realizadas pelo método potenciométrico com eletrodo de íon seletivo da marca Thermo, segundo procedimento descrito no Standard Methods (APHA, 2012), com alteração do volume de amostra.

4.3.2 Nitrito e Nitrato

A determinação de nitrito e nitrato foram realizadas por meio do método colorimétrico em um sistema de análise por injeção em fluxo (APHA, 2012), modificado segundo Schierholt Neto et al. (2006).

O sistema utilizado foi o Multicanal FIA lab – 2500, com cabos de fibra ótica SMA 200 mm, que ligam a célula de reação ao espectrofotômetro (Ocean-optics S2000 – escala ótica de 200 a 850 nm). Lâmpada de halogênio de quartzo. Carreador: água destilada. Reagente de cor: sulfanilamida, ácido ortofosfórico e N-1-naftiletilenodiamina dihidroclorato, sendo todo reagente grau P.A. O comprimento de onda utilizado na leitura foi de 540nm.

Para a análise de nitrato, utilizou-se também, uma coluna com aproximadamente 5g de cádmio, como catalisador para promover a redução do nitrato a nitrito e uma solução de cloreto de amônio e EDTA sal dissódico como reagente tampão.

4.3.3 Alcalinidade

Para determinação de alcalinidade, o método utilizado foi o titulométrico (APHA, 2012). Este método é aplicável à determinação da presença de carbonato e bicarbonato em efluentes de sistemas de tratamentos de resíduos e água em geral.

Utilizou-se potenciômetro TECNAL Tec-3MP; titulador semiautomático TITRONIC T-200. Para a análise, preparou-se uma solução padrão de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,005 mol.L⁻¹, e o valor de alcalinidade foi obtido segundo a Equação 21.

$$\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1} = \frac{\text{M.A.} \cdot 100000}{V} \quad \text{Eq. (21)}$$

Onde:

M - molaridade do ácido sulfúrico padronizado (mol.L⁻¹);

A - volume de ácido sulfúrico padronizado (mL);

V - volume de amostra (mL).

4.3.4 Sólidos Suspensos Totais, Fixos e Voláteis

As análises da série de sólidos foram realizadas segundo procedimento descrito no Standard Methods (APHA, 2012), no qual as amostras são filtradas em filtro 0,45 µm utilizando cadinho de Gooch, secas em estufa a 105 °C por uma hora (SST) e calcinadas em mufla a 550 °C por 30 minutos (SSF). Os SSV foram determinados por diferença entre SST e SSF.

4.3.5 pH e Oxigênio Dissolvido

As determinações de pH foram realizadas com potenciômetro da marca HANNA Instruments, modelo HI 8424, com eletrodo de pH e calibrado segundo os procedimentos descritos no Standard Methods (APHA, 2012).

As determinações de oxigênio dissolvido foram realizadas com medidor de oxigênio dissolvido, da marca YSI modelo 55 Dissolved Oxygen.

4.4 Quantificação de bactérias por reação em cadeia da polimerase (qPCR)

A quantificação da biomassa nitrificante foi realizada pela detecção do gene da amoniomonoxigenase (*amoA*), característico desse grupo de micro-organismos. Já a biomassa com atividade anammox foi quantificada pela detecção do gene da hidrazina oxidoreductase (*hzo*). As reações foram realizadas com SYBR green, e processados em equipamento Rotor Gene 6000 (Corbett Research, NSW, Australia).

A detecção do gene *amoA* seguiu o protocolo descrito por Agnes et al. (2013), e o do gene *hzo* descrito por Coradi (2014).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Reator LS

5.1.1 Atividades das biomassas utilizadas na inoculação do reator

No presente estudo, ensaios cinéticos de consumo de substrato e formação de produto foram realizados para verificar, além do grau de atividade da biomassa, a razão ideal de inóculo utilizado para a partida do reator LS.

5.1.1.1 Biomassa nitrificante

Na Tabela 6 estão apresentados os valores para velocidade de consumo (r_s) de substrato e formação de produto e velocidade específica (μ_s) de consumo de substrato e formação de produto obtidas no ensaio cinético para a biomassa nitrificante no reator LS.

Tabela 6 Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa nitrificante no reator LS

	NH_4^+	$-\text{NO}_2^-$	$-\text{NO}_3^-$
$r_s(\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1})$	11,76	13,67	4,93
$\mu_s(\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1})$	50,05	58,18	21,01

Todos os valores foram obtidos pela regressão linear dos dados experimentais em função do tempo (anexo 3), e o coeficiente angular representou a velocidade (r_s) da reação estudada.

Além disso, para o cálculo das velocidades específicas, a concentração de sólidos foi de 23 mgSSV.L⁻¹. Como pode ser observado, a velocidade específica de consumo de substrato amônio foi de 50,05 mgN-NH₄⁺gSSV⁻¹.h⁻¹, enquanto que a velocidade específica de produção de nitrito foi 58,18 mgN-NO₂⁻gSSV⁻¹.h⁻¹, e de nitrato 21,01 mgN-NO₃⁻gSSV⁻¹.h⁻¹.

Os valores obtidos neste estudo mostram-se acima dos encontrados por De Prá (2013), que obteve para o amônio 47,38 mgN-NH₄⁺gSSV⁻¹.h⁻¹, nitrito 33,98 mgN-NO₂⁻gSSV⁻¹.h⁻¹ e nitrato 12,17 mgN-NO₃⁻gSSV⁻¹.h⁻¹. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que as bactérias nitrificantes apresentam 0,94 vezes maior velocidade específica de consumo de amônio, sendo, assim, o lodo nitrificante estava com boa atividade de remoção de nitrogênio amoniacal.

5.1.1.2 Biomassa com atividade anammox

Na Tabela 7 são mostrados os valores obtidos de velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) obtidas no ensaio cinético no reator LS para a biomassa com atividade anammox (anexo 4).

Tabela 7 Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa com atividade anammox no reator LS

	NH_4^+	NO_2^-	$-\text{NO}_3^-$
$r_s(\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1})$	14,58	21,89	3,82
$\mu_s(\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1})$	2,21	4,53	0,79

A biomassa com atividade anammox teve uma concentração de sólidos de $4.820 \text{ mgSSV.L}^{-1}$. Os valores encontrados para as velocidades de consumo de amônio ($14,58 \text{ mgN-NH}_4^+.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) e nitrito ($21,89 \text{ mgN-NO}_2^-.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) resultaram em uma velocidade de consumo de nitrogênio total de $36,47 \text{ mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ – valor este superior ao de De Prá (2013) e de Coradi (2014), que obtiveram, em seus estudos, velocidade de consumo de nitrogênio de $16,86 \text{ mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e $10,92 \text{ mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, respectivamente.

Portanto, o resultado deste estudo foi 2,16 e 3,34 vezes superior, respectivamente, ao citados acima.

5.1.1.3 Quantidade de biomassa inoculada

Para que haja eficiência no processo de desamonificação, é necessário que a atividade de ambas as bactérias envolvidas estejam em equilíbrio dentro do reator, de modo que as velocidades de conversão do nitrogênio não afetem a eficiência de remoção do sistema.

A partir dos testes cinéticos com as biomassas nitrificante e anammox, obteve-se as velocidades específicas de consumo de substrato indicadas nos itens anteriores, que foram posteriormente utilizadas para o cálculo da quantidade de biomassa, na forma descrita no item 4.1.2.

Desta forma, a razão da quantidade entre biomassa nitrificante e anammox encontrada foi de 0,15, e as concentrações de biomassa nitrificante e as com atividade anammox a serem inoculadas no reator foram de $0,54 \text{ gSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $3,63 \text{ gSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$, respectivamente.

As concentrações de biomassa com atividade anammox e nitrificante foram diferentes em função do lodo nitrificante estar mais enriquecido e de estas possuírem velocidade de crescimento superior ao das bactérias com atividade anammox. Schmidell e

Reginatto (2007) relatam $0,77 \text{ d}^{-1}$ para a velocidade de crescimento das BOA, enquanto Strous et al. (1998) relatam $0,065 \text{ d}^{-1}$ para a velocidade de crescimento das bactérias com atividade anammox.

5.1.2 Inoculação, partida e operação do reator

Para se obter homogeneidade entre as culturas empregadas no reator LS, este foi inoculado com $0,54 \text{ gSSV}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa nitrificante e $3,63 \text{ gSSV}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa com atividade anammox, e posteriormente homogeneizado por 1 minuto com pulso de oxigênio.

O reator foi operado por 55 dias com o oxigênio dissolvido controlado, em três etapas, cada qual submetida aos períodos aeróbio e anóxico, conforme a Tabela 8.

Tabela 8 Concentração de oxigênio dissolvido nos períodos aeróbio e anóxico, durante as diferentes fases do reator LS

	Vazão de ar ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$)	Período aeróbio O_2 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Período anóxico O_2 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Fase I	30	0,72	0,03
Fase II	20	0,58	0,02
Fase III	30	0,65	0,07

A fase I operou por 12 dias com vazão de ar de $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média de oxigênio dissolvido de $0,72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico $0,03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Assim, percebe-se que praticamente quase todo o oxigênio dissolvido foi consumido na oxidação da amônia.

Já a fase II operou por 24 dias com vazão de ar de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média oxigênio dissolvido de $0,58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico $0,02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Logo, também nesta fase foi consumido praticamente quase todo o oxigênio dissolvido.

Por fim, a fase III, que operou por 19 dias, voltou a usar comovazão de ar $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média de $0,65 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico $0,07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, ou seja, nesta fase em específico houve o aumento do residual do oxigênio dissolvido.

O acompanhamento das formas nitrogenadas, da carga aplicada, da carga removida, o percentual de remoção de amônia e de nitrogênio total no reator LS são mostrados na Figura 8.

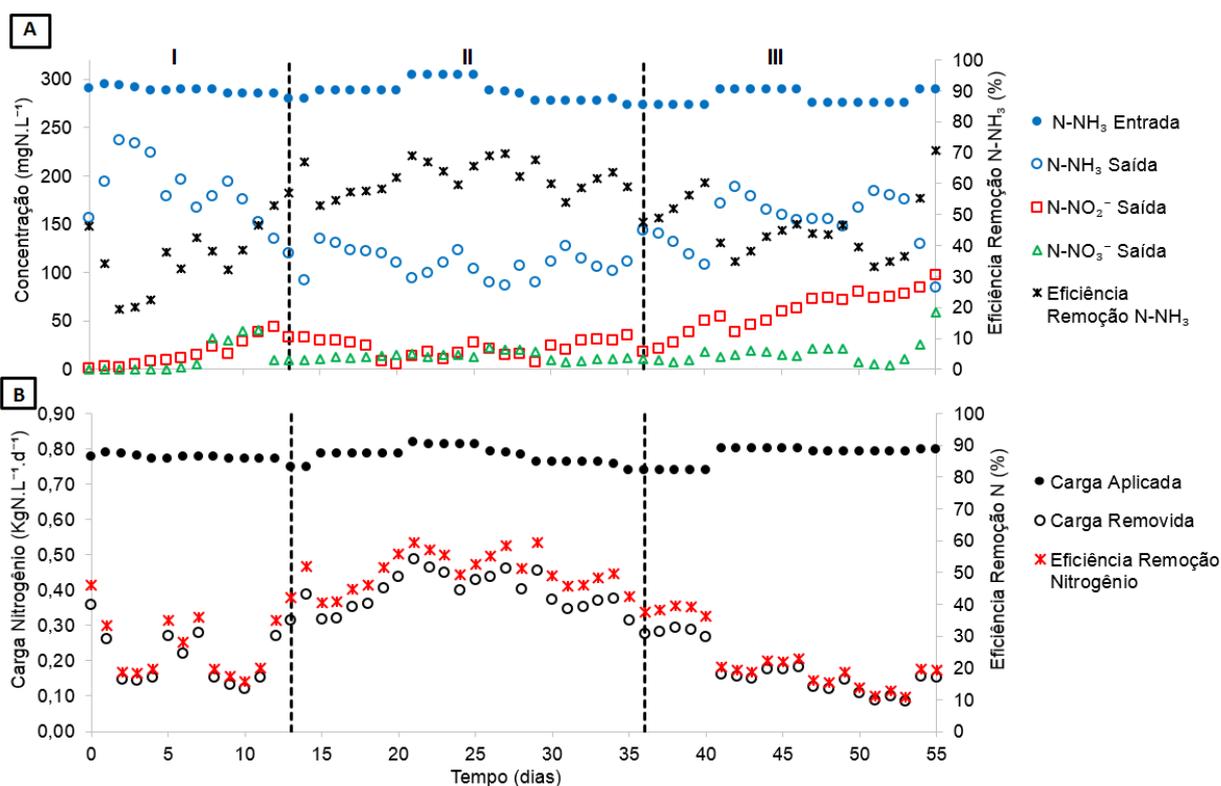


Figura 8 Desempenho do reator LS durante período de operação. **A:** acompanhamento das formas nitrogenadas e percentual de remoção de amônia. **B:** acompanhamento da carga aplicada, removida e eficiência de remoção de nitrogênio.

Como se observa na fase I da Figura 8A, a conversão de nitrogênio amoniacal se estabilizou de forma que aproximadamente toda a amônia foi convertida em nitrito e nitrato, apesar da eficiência no consumo de $34,20 \pm 9,43\%$ ser considerada baixa, visto que Figueria et al. (2012) obtiveram 85% de eficiência na remoção de amônia.

A remoção de nitrogênio total teve média de $23,75 \pm 7,72\%$ de eficiência, ou seja, manteve-se baixa durante toda a fase I (Figura 8b). Sendo assim, o processo de desamonificação estava sendo desfavorecido devido à condição em que o meio se apresentava.

Neste sentido, Coradi (2014) estudou um reator em condições operacionais similares com o deste trabalho, sendo que a única diferença foi $0,1 \text{ KgN.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a menos de carga aplicada que o utilizado neste trabalho ($0,8 \text{ KgN.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$).

No estudo de Coradi (2014), houve a conversão do amônio em nitrito, o que se atribuiu à atividade das BOA, e não houve atividade anammox. Assim, com base nos testes realizados, o autor concluiu que o OD pode ter suprimido a capacidade de remoção de nitrogênio das bactérias anaeróbias.

A análise do acompanhamento dos coeficientes estequiométricos para o processo de desamonificação no reator LS está demonstrada na Figura 9. Por ela, na fase I fica claramente perceptível o deslocamento dos coeficientes estequiométricos experimentais com relação aos teóricos, o que se entendeu como um período de instabilidade do reator LS.

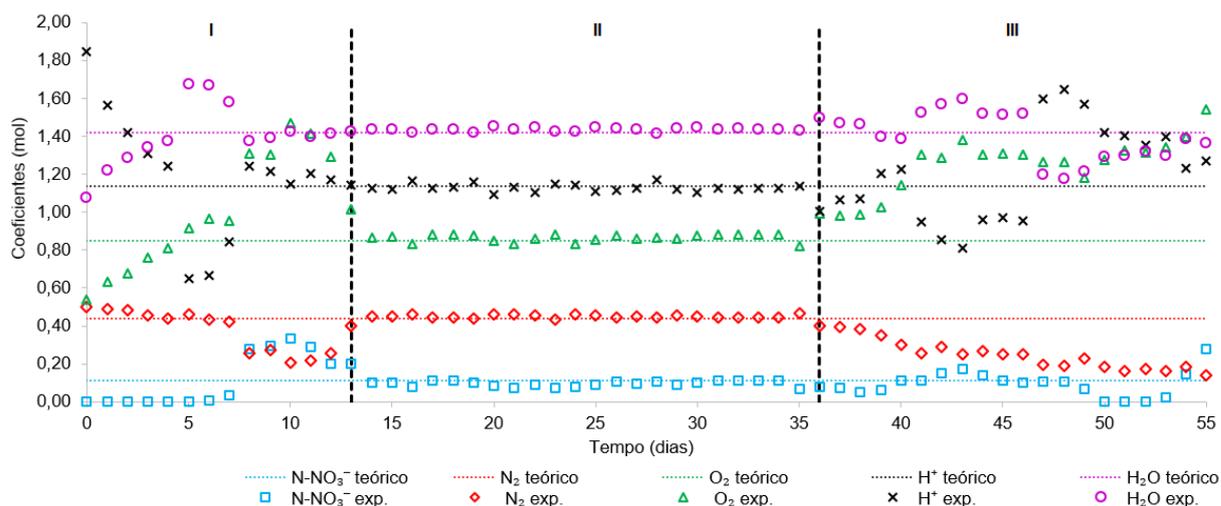


Figura 9 Acompanhamento dos coeficientes estequiométricos do processo de desamonificação para o reator LS.

O coeficiente estequiométrico do oxigênio elevou-se na fase I, haja visto que quanto maior a demanda de oxigênio, mais elevada é a carga de nitrogênio oxidada. O coeficiente de N-NO_3^- não se apresentava próximo ao citado pela literatura (SLIEKERS et al., 2002), indicando que as bactérias oxidadoras de nitrito não estavam sendo inibidas.

O cálculo do coeficiente estequiométrico de N_2 pode ser utilizado como indicador de que a atividade anammox está sendo inibida, visto que o nitrogênio gasoso é o seu principal produto (SANT'ANNA JR, 2010).

Portanto, entende-se que as causas do não estabelecimento do processo de desamonificação na fase I foram a não adaptação do inóculo anammox e a exposição ao oxigênio dissolvido. Estas situações aparentaram ter causado a inibição da capacidade de remoção de nitrogênio pelo processo anammox, o que acabou por favorecer as bactérias oxidadoras de amônia, que se adaptaram mais rapidamente à condição do reator.

Para confirmar esta redução na capacidade de conversão de nitrito e amônia pelas bactérias do processo anammox, no 12º dia de operação realizou-se um teste da atividade anammox. Estão demonstradas na Tabela 9 as velocidades de consumo de substrato e formação de produto pelo processo anammox.

Tabela 9 Velocidade de consumo de substrato e formação de produto (r_s) das bactérias com atividade anammox no reator LS na pré-inoculação e nas fases I, II e III

Fase	$r\text{N-NH}_4^+$	$r\text{N-NO}_2^-$ *	$-r\text{N-NO}_3^-$ *
Pré-inoculação	14,58	21,89	3,81
Fase I (dia 12)	8,93	6,30	1,17
Fase II (dia 21)	14,59	20,65	1,65
Fase III (dia 37)	7,61	2,25	0,16

* $\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$

Nota-se na Tabela 9 que as velocidades de consumo de amônio e nitrito e produção de nitrato das bactérias com atividade anammox sofreram redução na capacidade de conversão de nitrogênio.

Comparando-se a velocidade de consumo de amônio e de nitrito, tem-se que na pré-inoculação foi 1,63 e 3,47 vezes superior à fase I, respectivamente. Assim, a velocidade de consumo de nitrogênio na forma de amônio e nitrito, pelo processo anammox, foi reduzida em 58,24% quando compara-se a fase I ao período inicial. Também, a velocidade de produção de nitrato do início se mostrou 3,25 vezes superior à da fase I.

Porém, apesar desta redução nas velocidades de consumo de substrato e formação do produto, as bactérias com atividade anammox ainda mostravam capacidade de remoção de amônio e nitrito do reator.

Expor o reator a maiores concentrações de oxigênio dissolvido propicia o crescimento de bactérias nitrificantes, por serem elas, além de aeróbias, favorecidas pela velocidade máxima de crescimento, que é superior à das bactérias com atividade anammox, conforme comentado anteriormente (STROUS et al., 1998).

Logo, como as bactérias com atividade anammox são mais sensíveis em determinadas condições operacionais, tornam-se limitantes do processo de desamonificação (SUNEETHI, 2014). Assim, a mudança no oxigênio dissolvido (OD) é uma boa estratégia para melhorar o controle do processo de desamonificação.

Desta forma, na fase II optou-se por diminuir a vazão de ar do reator de $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ para $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, a fim de favorecer a sua adaptação e restringir o oxigênio dissolvido.

Na fase II, após a mudança da vazão de ar, as concentrações de nitrito e nitrato na saída do reator LS (Figura 8a) mantiveram-se estáveis e as de amônia baixaram, o que acabou por elevar a eficiência média da remoção de amônia para $61,37 \pm 5,36\%$. Ou seja, 1,8 vezes maior do que o obtido na fase I ($34,2 \pm 9,43\%$).

A fase II (Figura 8b) foi o período em que o reator removeu maiores cargas de nitrogênio, $0,40 \pm 0,05 \text{ KgN}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, com eficiência média de remoção de $50,50 \pm 5,86\%$, sendo, por isso, 2,13 vezes acima da obtida na fase I ($23,7 \pm 7,72\%$). Foi neste período que o reator LS apresentou a eficiência máxima de remoção de nitrogênio, que foi de 59,5%.

De Prá (2013) e Sliemers et al. (2002), trabalhando o processo de desamonificação em um reator de leito suspenso, removeram $0,24 \text{ KgN}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ e $0,16 \text{ KgN}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, respectivamente. Já Third et al. (2005), trabalhando em um reator de batelada sequencial, atingiram uma carga de $0,08 \text{ KgN}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$. Isto demonstra que o presente estudo no reator LS removeu de 1,6 a 5 vezes mais nitrogênio em relação aos valores descritos na literatura.

Para confirmar o estabelecimento do processo de desamonificação no reator LS, procedeu-se um teste de atividade anammox, cujos resultados estão apresentados na Tabela 9.

As velocidades de consumo de NH_4^+ e NO_2^- e produção de NO_3^- pelas bactérias com atividade anammox na fase II, quando comparadas com as da fase I, tiveram um aumento na capacidade de conversão de nitrogênio, demonstrando que estas bactérias estavam com atividade similar às encontradas na inoculação do reator LS.

Com base nesta descrição, observa-se que a velocidade de consumo de amônio e nitrito para a fase II foi, respectivamente, 1,63 e 3,27 vezes maior do que as obtidas na fase I. Da mesma forma, a velocidade de produção de nitrato na fase II foi 1,41 vezes maior do que a da fase I.

A relação entre a capacidade de produção de nitrato e o consumo de amônio nas fases I e II foram, respectivamente, de 0,13 e 0,11, podendo-se comparar estes valores com o coeficiente estequiométrico de nitrato citado na literatura, que é de 0,11 (AHN, 2006). Dessa forma, com base com resultados obtidos na fase II, conclui-se que o processo de desamonificação estava estabelecido no reator.

Neste contexto, os coeficientes estequiométricos voltaram a se aproximar aos valores encontrados pela literatura (VANOTTI et al., 2012), situação que comprova o processo de desamonificação no reator LS, após o 12º dia de operação (Figura 9).

Os cálculos das médias dos coeficientes estequiométricos para o processo de desamonificação obtidos estão demonstrados na Tabela 10, na qual se observa que as fases I e III foram inferiores à fase II.

Tabela 10 Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LS nas fases I, II e III

Fase	N- NO_3^-	N_2	O_2	H^+	H_2O
Vanotti et al. (2012)	0,11	0,44	0,85	1,14	1,43
Fase I	0,20	0,37	1,02	1,19	1,40
Fase II	0,10	0,42	0,87	1,13	1,43
Fase III	0,08	0,25	1,22	1,19	1,40

Os resultados da fase II indicam que os valores obtidos foram próximos aos descritos por Vanotti et al. (2012), sendo estes consistentes com o esperado para o processo de desamonificação.

Devido à complexa interação entre os micro-organismos e as reações químicas no processo de desamonificação, é natural que ocorram variações nos valores estequiométricos, em função das diferentes espécies operantes no reator (DE PRÁ, 2013).

Portanto, levando-se em conta que cada mol de NH_3 oxidado requer cerca de 2 mols de O_2 , o processo de desamonificação no reator LS reduziu 56,5% a quantidade de oxigênio necessária para remoção biológica do nitrogênio, quando comparado com o processo convencional de nitrificação/desnitrificação (BITTON, 2005). Destaca-se que foram utilizados 0,87 mol de oxigênio para oxidar 1 mol de amônia.

A fase II se mostrou estável, com baixas concentrações de nitrito e nitrato na saída do reator, quais sejam, $22,46 \pm 9,80 \text{ mgN-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ e $13,16 \pm 3,91 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente, apesar da saída de amônia estar com $111,15 \pm 14,77 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$.

Para se aumentar o consumo de amônia, é necessário ter maior quantidade de nitrito, conforme demonstrado na equação do processo anammox (Equação 9). Porém, como havia pouco residual de nitrito na saída do reator na fase II, foi optado na fase III por aumentar a vazão de ar de 20 para $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, para oxidar mais amônia, a fim de remover maior carga de nitrogênio pelo processo de desamonificação no reator LS.

Na fase III, após a mudança da vazão de ar do reator LS, a concentração de nitrito na saída do reator elevou-se de forma crescente até $97,87 \text{ mgN-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 8a). Isso significa que se estava oxidando mais amônia para nitrito do que o necessário e, conseqüentemente, mais uma vez inibindo o processo anammox.

Carvajal-Arroyo et al. (2014), trabalhando com a resistência de bactérias com atividade anammox à exposição ao nitrito, concluíram que estas, quando aclimatadas a tratar altas cargas de nitrogênio (acima de $0,95 \text{ KgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), são mais resistentes à inibição por nitrito do que as com menores cargas ($0,20 \text{ KgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$). Porém, em qualquer condição as bactérias com atividade anammox são mais sensíveis ao acúmulo de nitrito, o que inibe o processo anammox.

Após o 52º dia de operação, a concentração de nitrato na saída do reator aumentou, indicando que, além das bactérias oxidadoras de amônia estarem sendo favorecidas, as de nitrito estavam tendo atividade.

Com essa mudança ocorrida na fase III, baixou-se a carga removida e a eficiência de remoção de nitrogênio do reator LS para uma média de $0,18 \pm 0,07 \text{ KgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ e $24,04 \pm 10,95\%$, respectivamente.

Ainda, pelo acompanhamento dos coeficientes estequiométricos no reator LS na fase III, constatou-se o afastamento dos valores calculados para este período de estudo quando comparados aos da literatura (THIRD et al., 2001), conforme se observa na Tabela 10.

Houve um aumento no valor de O_2 (de 0,85 para 1,22) e diminuição no de NO_3^- (de 0,11 para 0,08), indicando que ocorreu maior disponibilidade de oxigênio no reator do que a demanda exigida pelo processo de desamonificação, acarretando a predominância do processo de nitrificação. Deste modo, o oxigênio excedente foi utilizado pelas BOA para uma maior oxidação de amônia a nitrito, já que o reator apresentou concentrações no efluente, em média, de $63,5 \pm 9,17 \text{ mgN-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$.

Como pode ser observado na fase III da Tabela 9, as velocidades de consumo de NH_4^+ e NO_2^- , bem como a produção de NO_3^- pelas bactérias com atividade anammox, quando comparadas com as da fase II, tiveram uma diminuição na capacidade de conversão de nitrogênio, demonstrando que estas bactérias estavam sendo inibidas.

Com base nesta descrição, observa-se que a velocidade de consumo de amônio e nitrito para a fase III demonstrou ser, respectivamente, 0,52 e 0,11 vezes menor do que as obtidas na fase II. Da mesma forma, a velocidade de produção de nitrato foi 0,097 vez inferior do que a da fase II, conforme Tabela 10.

Averiguou-se as relações entre a capacidade de produção de nitrato e o consumo de amônio nas fases II e III, as quais foram, respectivamente, de 0,11 e 0,02 e, comparando-as com o coeficiente estequiométrico de nitrato citado na literatura para o processo de desamonificação, que é de 0,11 (AHN, 2006), observou-se que o processo de nitrificação estava sobrepondo-se ao de desamonificação.

Assim, levando em conta os melhores resultados nas condições de operação nas fases I, II e III, entendeu-se que a melhor opção de vazão de ar é aquela da fase II, que equivale a $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$.

5.1.3 Quantificação da biomassa

Foram coletadas amostras dos inóculos anammox e nitrificante e do Reator LS durante as fases do processo. A partir disso, foram realizadas análises de quantificação por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para acompanhar e quantificar a interação entre os principais micro-organismos envolvidos no processo. Os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 Quantificação de bactérias nitrificante e anammox durante período de operação do reator LS

Fase	Nitrificante *	Anammox*
Pré-inoculação	$1,67 \times 10^5$	$6,48 \times 10^4$
Fase I (dia 6)	$1,20 \times 10^5$	$3,73 \times 10^4$
Fase II (dia 21)	$1,07 \times 10^5$	$7,99 \times 10^4$
Fase III (dia 37)	$4,54 \times 10^6$	$3,73 \times 10^4$

* $\text{cg} \cdot \text{L}^{-1}$

A fase I apresentou inibição na atividade do processo anammox. Porém, de acordo com a Tabela 11, não houve perda significativa na quantidade de bactérias com atividade anammox, o que inclusive pode ter contribuído para o aumento desta quando da fase II.

Da mesma forma, ao se passar da fase II para a III, manteve-se em 10^4 a quantidade de bactérias com atividade anammox, o que deixa a entender que estas bactérias, embora inibidas, ainda se encontravam presentes no reator.

Percebe-se com isso que a quantidade de bactérias com atividade anammox pode estar relacionada ao longo tempo de duplicação das mesmas, de 9 a 11 dias (STROUS et al., 1998).

Por outro lado, as bactérias nitrificantes tiveram aumento de 1 log₁₀ na fase III, o que se justifica pelo aumento da vazão de ar, que favoreceu este tipo de bactéria aeróbia, por estas mostraram-se mais resistentes à inibição do que as bactérias com atividade anammox.

Salienta-se que com controle dos parâmetros operacionais é possível manter o equilíbrio destas duas populações, fazendo com que a eficiência de remoção de nitrogênio não seja afetada por esta diferença de resultado (SANT'ANNA JR, 2010).

5.2 Reator LE

5.2.1 Determinações das atividades das biomassas utilizadas na inoculação do reator

Neste estudo, os ensaios cinéticos de consumo de substrato e formação de produto foram realizados para verificar, além do grau de atividade da biomassa, a razão ideal de inóculo utilizado para a partida do reator LE.

5.2.1.1 Biomassa nitrificante

Na Tabela 12 estão apresentados os valores para velocidade de consumo e formação de substrato e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto obtidos no ensaio cinético para a biomassa nitrificante no reator LE.

Tabela 12 Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa nitrificante no reator LE

	NH_4^+	$-\text{NO}_2^-$	$-\text{NO}_3^-$
$r_s(\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1})$	19,22	17,95	6,36
$\mu_s(\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1})$	84,52	78,94	27,95

Todos os valores foram obtidos pela regressão linear dos dados experimentais em função do tempo (anexo 5), em que o coeficiente angular representou a velocidade (r) da reação estudada.

Além disso, para o cálculo das velocidades específicas (μ_s), a concentração de sólidos foi de 220mgSSV.L⁻¹. Como pode ser observado, a velocidade específica de consumo do substrato amônio foi de 84,52 mgN-NH₄⁺.gSSV⁻¹.h⁻¹, enquanto que a velocidade específica de produção de nitrito foi de 78,94 mgN-NO₂⁻.gSSV⁻¹.h⁻¹, e a de nitrato foi de 27,95 mgN-NO₃⁻.gSSV⁻¹.h⁻¹.

Os valores obtidos neste estudo mostram-se próximos dos encontrados por Coradi (2014), que foram para o amônio de 104,28 mgN-NH₄⁺.gSSV⁻¹.h⁻¹, nitrito de 71,08 mgN-NO₂⁻.gSSV⁻¹.h⁻¹ e de nitrato 46,96 mgN-NO₃⁻.gSSV⁻¹.h⁻¹. Assim, comparando os

resultados, entende-se que as bactérias nitrificantes apresentam alta velocidade específica de consumo e produção.

5.2.1.2 Biomassa com atividade anammox

Na Tabela 13 encontram-se os valores de r_s e μ_s obtidos no ensaio cinético no reator LE para a biomassa com atividade anammox (anexo 6).

Tabela 13 Velocidade de consumo de substrato e formação produto (r_s) e velocidade específica de consumo de substrato e formação de produto (μ_s) para biomassa com atividade anammox no reator LE

	NH_4^+	NO_2^-	$-\text{NO}_3^-$
$r_s(\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1})$	17,62	25,06	4,53
$\mu_s(\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1})$	3,40	4,84	0,87

A biomassa com atividade anammox teve concentração de sólidos de 5.170 mgSSV.L⁻¹. Os valores encontrados para as velocidades de consumo de amônio (17,62 mgN-NH₄⁺.L⁻¹.h⁻¹) e nitrito (25,06 mgN-NO₂⁻.L⁻¹.h⁻¹) somam uma velocidade de consumo de nitrogênio de 42,68 mgN.L⁻¹.h⁻¹. De Prá (2013) obteve em seu estudo uma velocidade de consumo de nitrogênio total de 16,86 mgN.L⁻¹.h⁻¹, que se mostrou 2,53 vezes inferior do que o valor encontrado neste estudo.

5.2.1.3 Quantidade de biomassa inoculada

Para a eficácia da desamonificação, é indispensável que as atividades de ambas as bactérias envolvidas no processo estejam em equilíbrio dentro do reator, de modo que as velocidades de conversão do nitrogênio não afetem a eficiência de remoção do sistema.

As velocidades específicas de consumo de substrato indicadas a partir de testes cinéticos com as biomassas nitrificante e anammox foram utilizadas para o cálculo da quantidade de biomassa.

A razão encontrada entre a quantidade de biomassa nitrificante e a com atividade anammox foi de 0,102 e as concentrações de biomassa nitrificante e as com atividade anammox a serem inoculadas no reator foram de 0,35 e 3,48 gSSV⁻¹.L⁻¹, respectivamente.

As concentrações de biomassa com atividade anammox e nitrificante foram diferentes em função do lodo nitrificante estar mais enriquecido e destas possuírem velocidade de crescimento superior ao das bactérias com atividade anammox.

5.2.2 Inoculação, partida e operação do reator

Para se obter homogeneidade entre as culturas empregadas no reator LE, este foi inoculado com $0,35 \text{ gSSV}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa nitrificante e $2,48 \text{ gSSV}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa com atividade anammox, e posteriormente homogeneizado por 1 minuto com pulso de oxigênio.

O reator foi operado por 55 dias com o oxigênio dissolvido controlado, em três etapas, cada qual submetida aos períodos aeróbio e anóxico, conforme a Tabela 14.

Tabela 14 Concentração de oxigênio dissolvido nos períodos aeróbio e anóxico, durante as diferentes fases do reator LE

	Vazão de ar (mL.min⁻¹.L⁻¹)	Período aeróbio O₂(mg.L⁻¹)	Período anóxico O₂(mg.L⁻¹)
Fase I	30	0,87	0,06
Fase II	20	0,58	0,03
Fase III	30	0,67	0,05

A fase I operou por 12 dias com vazão de ar de $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média de $0,87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico, $0,06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Já a fase II operou por 24 dias com vazão de ar de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média de $0,58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico $0,03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Logo, também nesta fase foi consumido quase todo o oxigênio dissolvido.

Por fim, a fase III, que operou por 19 dias, voltou a usar como vazão de ar $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, tendo durante o período aeróbio concentração média de $0,67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e no período anóxico $0,05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Assim, nesta fase específica houve o aumento do residual do oxigênio dissolvido.

A Figura 10 mostra o acompanhamento das formas nitrogenadas, percentual de remoção de amônia, remoção de nitrogênio total, carga aplicada e carga removida durante este período no reator LE.

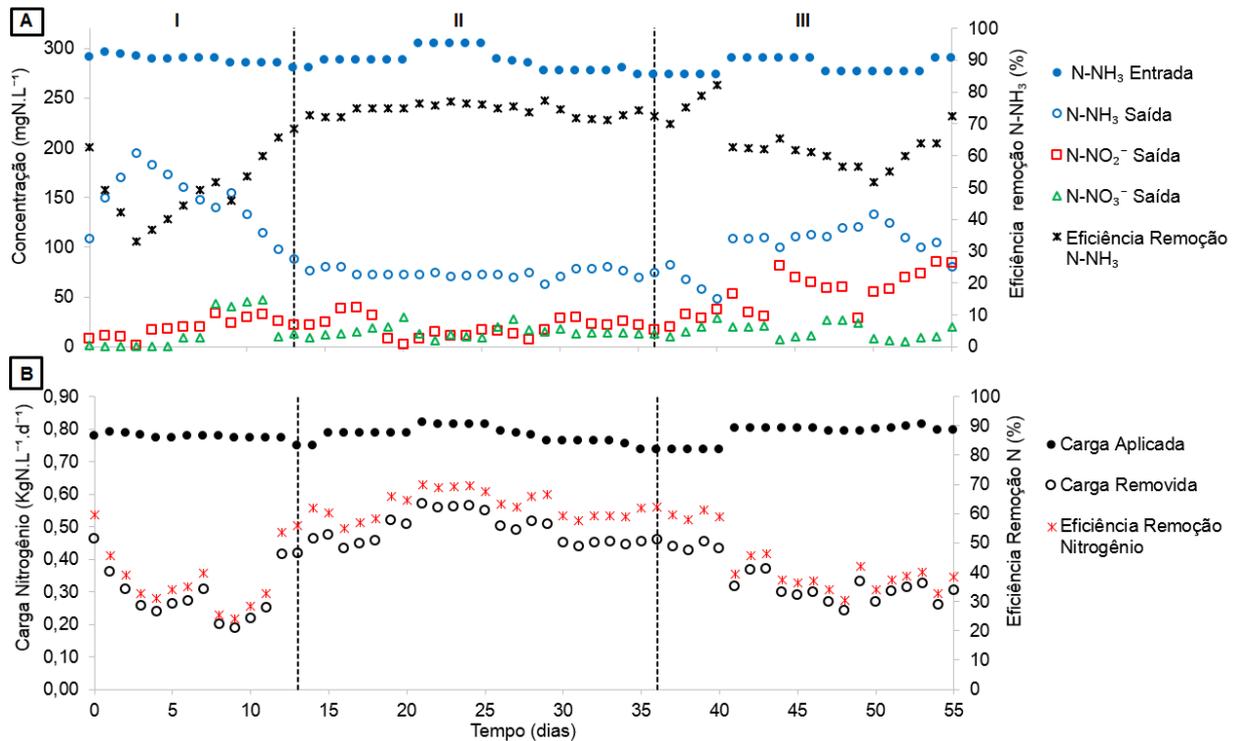


Figura 10 Desempenho do reator LE durante período de operação. **A:** acompanhamento das formas nitrogenadas e percentual de remoção de amônia. **B:** acompanhamento da carga aplicada, removida e eficiência de remoção de nitrogênio.

A fase I mostra que a conversão de nitrogênio amoniacal foi crescente e uma parte da amônia consumida foi convertida a nitrito e a nitrato, que permaneceram na saída do reator (Figura 10a).

Estes resultados indicam que com base nas Equações 5 e 6 citadas anteriormente, pode-se inferir que o processo de nitrificação foi predominante na fase I. Ainda, por ser o processo de nitrificação dividido em duas etapas, a nitratação e nitratação, primeiramente ocorre a oxidação da amônia a nitrito e posteriormente a nitrato (ZHU et al., 2008).

Para fins de alimentação do processo anammox, deve-se limitar em 50% a conversão do íon amônio a nitrito, para que haja o substrato necessário a tornar desejável a estequiometria do processo (ZHANG et al., 2011; DE PRA et al., 2012).

Na Figura 11 pode-se verificar o acompanhamento dos coeficientes estequiométricos para o processo de desamonificação no reator LE.

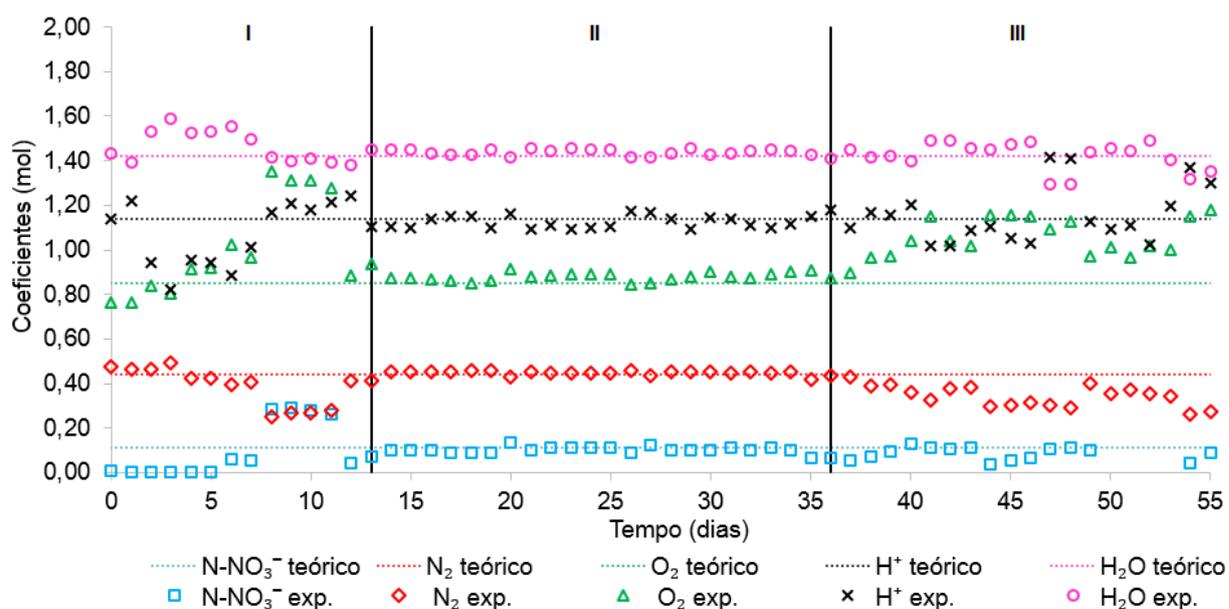


Figura 11 Acompanhamento dos coeficientes estequiométricos do processo de desamonificação para o reator LE.

Na fase I é claramente perceptível o afastamento dos coeficientes estequiométricos experimentais com relação aos teóricos no processo de desamonificação, o que se caracteriza como um período de instabilidade do reator LE.

O coeficiente estequiométrico do oxigênio elevou-se na fase I, em razão de que quanto maior a demanda de oxigênio mais elevada é a carga de nitrogênio oxidada. Também, o coeficiente de N-NO_3^- não se apresentava próximo ao citado pela literatura (AHN, 2006), indicando que as bactérias oxidadoras de nitrito não estavam sendo inibidas.

Assim, a possível causa para não ter se estabelecido o processo de desamonificação na fase I foi a inibição do processo anammox, causada pelo favorecimento das bactérias nitrificantes e pela exposição ao oxigênio dissolvido também, fatores estes que podem ter suprimido a capacidade de remoção de nitrogênio das bactérias com atividade anammox e favorecido as oxidadoras de amônia e nitrito.

Para confirmar a redução na capacidade de conversão de nitrito e amônia na fase I, no 12º dia de operação do reator LE, realizou-se um teste de atividade anammox.

As velocidades de consumo de amônia e nitrito e produção de nitrato pelo processo anammox no reator LE, são apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 Velocidades de consumo e produção de nitrogênio das bactérias com atividade anammox no reator LE napré-inoculação e nas fases I, II, III

Fase	$r\text{N-NH}_4^+$ *	$r\text{N-NO}_2^-$ *	$-r\text{N-NO}_3^-$ *
Pré-inoculação	17,62	25,06	4,53
Fase I (dia 12)	12,34	17,21	2,69
Fase II (dia 21)	18,59	26,07	3,71
Fase III (dia 37)	9,68	2,44	2,37

* $\text{mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$

Nota-se que na fase I as velocidades de consumo de amônio e nitrito, assim como a produção de nitrato das bactérias com atividade anammox, foram 1,42, 1,45 e 1,68 vezes inferiores, respectivamente, às da pré-inoculação, demonstrando que as bactérias com atividade anammox tiveram uma diminuição na capacidade de conversão de nitrogênio.

Porém, apesar desta redução nas velocidades de consumo de substrato e formação do produto, por estarem sendo inibidas pela formação de nitrito, as bactérias com atividade anammox ainda mostravam capacidade de remoção de amônio e nitrito do reator.

Li et al. (2004) estudaram um reator com configuração SBR em escala real, no qual inferiram que, além da amônia, o nitrito é um substrato necessário à ocorrência do processo anammox. Porém, quando a concentração de nitrito aumenta, é possível que venha a ocorrer a inibição do processo anammox. Inibição esta que pode se dar de forma reversível ou irreversível, dependendo do grau de exposição ao nitrito. Desse modo, Li et al. (2004) decidiram manter o OD em níveis menores para o início do processo de desamonificação.

As bactérias com atividade anammox são limitantes da desamonificação. Assim, para solucionar esta situação, a mudança na concentração oxigênio dissolvido é uma boa estratégia de controle deste processo (CHINI et al., 2014). Portanto, optou-se por diminuir a vazão de ar do reator de 30 para 20 mL.min⁻¹.L⁻¹, a fim de favorecer a sua adaptação, visando a restrição do oxigênio dissolvido e, com isso, oxidando somente o necessário de amônia a nitrito.

Imediatamente depois da mudança da vazão de ar, as concentrações de nitrito e nitrato na saída do reator LE (Figura 10A), na fase II, mantiveram-se estáveis, e a de amônia diminuiu, elevando a eficiência média da remoção de amônia para 73,71 ± 2,78%. Logo, 1,60 vezes maior do que o obtido na fase I (45,99 ± 7,76%).

Já na Figura 10b, observou-se que a fase II foi o período em que o reator removeu maiores cargas de nitrogênio, 0,49 ± 0,04KgN.m⁻³.d⁻¹, com eficiência média de remoção de nitrogênio de 62,15 ± 5,02%, sendo 1,74 vezes acima do obtido na fase I (35,59 ± 9,70%). Foi neste período que o reator LE apresentou a eficiência máxima de remoção de nitrogênio, que foi de 69,78%.

De Prá (2013), trabalhando o processo de desamonificação em um reator de leito suspenso, removeu 57,93% do nitrogênio total (NT), e Vázquez-Padín et al. (2011) removeram 55,55% de NT em um reator SBR, resultados estes que fazem concluir que a eficiência de remoção está relacionada com a configuração do reator utilizado e às condições aplicadas ao processo.

Comparando-se os resultados obtidos na remoção total de nitrogênio, percebe-se que este estudo obteve 7,28% e 11,88% a mais de eficiência que De Prá (2013) e Vázquez-Padín et al. (2011), respectivamente.

Com o intuito de confirmar o estabelecimento do processo de desamonificação no reator LE, procedeu-se um teste de atividade anammox. Os resultados deste teste estão demonstrados na Tabela 15.

Na fase II as velocidades de consumo de NH_4^+ e NO_2^- e produção de NO_3^- pelas bactérias com atividade anammox, quando comparadas com as da fase I, tiveram um aumento na capacidade de conversão de nitrogênio, demonstrando que estas bactérias estavam com atividade similar às encontradas na inoculação do reator LE.

Com base nesta descrição, observa-se que a velocidade de consumo de amônio e nitrito para a fase II demonstrou ser para ambos 1,5 vezes maior do que as obtidas na fase I. Igualmente, a velocidade de produção de nitrato foi 1,37 vez maior do que a da fase I.

Em relação aos coeficientes estequiométricos, estes voltaram a se aproximar dos valores encontrados pela literatura na fase II (VANOTTI et al., 2012), situação que comprova o processo de desamonificação no reator LE (Figura 11).

Os cálculos das médias dos coeficientes estequiométricos para o processo de desamonificação obtidos estão demonstrados na Tabela 16, a seguir, na qual se observa que as fases I e III foram novamente inferiores à fase II.

Tabela 16 Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LE nas fases I, II e III

Fase	N- NO_3^-	N_2	O_2	H^+	H_2O
Vanotti et al. (2012)	0,11	0,44	0,85	1,14	1,43
Fase I	0,23	0,38	1,02	1,06	1,47
Fase II	0,10	0,44	0,88	1,13	1,44
Fase III	0,06	0,36	1,03	1,09	1,46

Os resultados da fase II indicam que os valores obtidos foram próximos aos descritos por Vanotti et al. (2012), sendo estes consistentes com o esperado para o processo de desamonificação.

É natural que ocorram variações nos valores estequiométricos em função das diferentes espécies operantes no reator, em razão da complexa interação entre os micro-organismos e as reações químicas no processo de desamonificação (DE PRÁ, 2013).

Quando comparado com o processo convencional de nitrificação/desnitrificação (BITTON, 2005), a fase II do processo de desamonificação do reator LE reduziu em aproximadamente 56% o consumo de oxigênio necessário para remoção biológica do nitrogênio amoniacal.

Na fase III, com o objetivo de diminuir a concentração de amônia na saída do reator LE, que na fase II era em média de $75,71 \pm 6,93 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 10a), foi optado por aumentar a vazão de ar de 20 para $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$.

Igualmente, após a mudança da vazão de ar do reator LE no início da fase III, a concentração de nitrito na saída do mesmo, elevou-se de forma crescente até

85,65 mgN-NO₂⁻.L⁻¹ (Figura 10a). Isso significa que o mesmo estava oxidando mais amônia para nitrito do que o necessário, inibindo o processo anammox outra vez, já que em qualquer condição de exposição ao nitrito, as células anammox são mais sensíveis (VAN DER STAR et al., 2011).

Por outro lado, com relação à mudança de aeração na fase III, baixou-se a carga removida e a eficiência de remoção de nitrogênio do reator LE, para uma média de $0,35 \pm 0,07$ KgN.m⁻³.d⁻¹ e $44,64 \pm 11,20\%$, respectivamente.

Ainda, pelo acompanhamento dos coeficientes estequiométricos no reator LE na fase III, constatou-se o afastamento dos valores calculados para este período de estudo quando comparados aos da literatura (VANOTTI et al., 2012), conforme se observa na Tabela 16.

Na fase III houve aumento no valor de O₂, de 0,85 para 1,03, e diminuição no de NO₃⁻, de 0,11 para 0,06, o que indica haver maior disponibilidade de oxigênio no reator do que a demanda exigida pelo processo de desamonificação, o que acarretou na predominância do processo de nitrificação, ou seja, o oxigênio excedente foi utilizado pelas BOA para uma maior oxidação de amônia a nitrito, já que o reator apresentou concentrações no efluente, em média, de $49,05 \pm 21,64$ mgN-NO₂⁻.L⁻¹.

Como pode ser observado na fase III da Tabela 15, as velocidades de consumo de NH₄⁺ e NO₂⁻, bem como a produção de NO₃⁻ pelas bactérias com atividade anammox, quando comparadas com as da fase II, apresentaram diminuição na capacidade de conversão de nitrogênio, demonstrando que estas bactérias estavam sendo inibidas.

Com base nesta descrição, observa-se que a velocidade de consumo de NH₄⁺ e NO₂⁻ para a fase III demonstrou ser, respectivamente, 0,52 e 0,09 vezes menor do que as obtidas na fase II. Da mesma forma, a velocidade de produção de nitrato na fase III foi 0,63 vez inferior do que a da fase II.

Portanto, observando-se os melhores resultados nas condições operacionais antes discutidas, entendeu-se que a melhor opção de vazão de ar é a de 20 mL.min⁻¹.L⁻¹.

5.2.3 Quantificação da biomassa

Das amostras coletadas do inóculo anammox e nitrificante e também, do reator LE durante as mudanças que ocorreram no mesmo, foram realizadas análises de qPCR, a fim de acompanhar e quantificar a interação entre os principais micro-organismos envolvidos no processo. Os resultados estão apresentados na

Tabela 17.

Tabela 17 Quantificação de bactérias nitrificante e anammox durante período de operação do reator LE

Fase	Nitrificante *	Anammox*
Pré-inoculação	1,22x 10 ⁵	5,55x 10 ⁴
Fase I (dia 6)	7,40 x 10 ⁵	7,45x 10 ⁴
Fase II (dia 21)	5,18x 10 ⁵	2,42x 10 ⁵
Fase III (dia 37)	1,10x 10 ⁶	3,67x 10 ⁵

* cg.L⁻¹

A fase I demonstrou ter havido perda na atividade do processo anammox. Entretanto, não houve declínio significativo na quantidade de bactérias com atividade anammox, o que se acredita ter contribuído para o aumento de cerca de 1 log₁₀ quando da fase II (Tabela 17).

Da mesma forma, ao se passar da fase II para a III, manteve-se em 10⁵ a quantidade de bactérias com atividade anammox, o que deixa a entender que estas bactérias, embora inibidas, ainda se encontravam presentes no reator. Logo, a população das bactérias com atividade anammox foi crescendo durante as diferentes fases deste estudo.

Conforme Kato et al. (2003), reatores de leito expandido se mostram uma configuração mais eficaz na retenção de biomassa, razão esta que pode ter contribuído no crescente aumento das bactérias com atividade anammox no reator LE.

A população das bactérias nitrificantes permaneceu estável nas fases I e II do reator LE. Já na fase III houve aumento de cerca de 1 log₁₀, o que justifica o aumento significativo na saída de nitrito, de 49,05 ± 21,64 mgN-NO₂⁻.L⁻¹ (Figura 10a).

5.3 Comparação de reatores

Em um primeiro momento, comparando-se os resultados obtidos nos reatores LS e LE, com relação à mudança de vazão de ar, entendeu-se que a melhor opção foi a de 20 mL.min⁻¹.L⁻¹. Tal entendimento se dá porque houve estabilidade dos reatores na fase II (vazão de 20 mL.min⁻¹.L⁻¹), período em que foi comprovado o estabelecimento do processo de desamonificação.

Na

Tabela **18** está demonstrado um comparativo, dividido por fases, entre a eficiência de remoção de nitrogênio e a carga de nitrogênio aplicada nos reatores LS e LE.

Tabela 18 Comparação da eficiência de remoção de nitrogênio e da carga de nitrogênio removida nos reatores LS e LE

Fase	Eficiência de remoção de nitrogênio (%)		Carga de nitrogênio removida (KgN.m ⁻³ .d ⁻¹)	
	Reator LS	Reator LE	Reator LS	Reator LE
I	23,75 ± 7,72	35,59 ± 9,70	0,20 ± 0,07	0,28 ± 0,07
II	50,50 ± 5,86	62,15 ± 5,02	0,40 ± 0,05	0,49 ± 0,04
III	24,04 ± 10,95	44,64 ± 11,20	0,18 ± 0,07	0,35 ± 0,07

Analisando-se os resultados da

Tabela **18**, percebe-se que o reator LE foi o mais eficiente. Destaca-se que o mesmo possui a configuração de leito expandido, a qual tem uma transferência de massa melhor do que a de leito suspenso, fato este que pode ter influenciado em uma melhor eficiência do reator LE em relação ao reator LS.

Na fase I, a eficiência de remoção de nitrogênio no reator LE foi 1,49 vez superior ao reator LS. Já na fase II foi de 1,23 vez maior ou 23,06% mais eficiente. No que se refere à fase III foi 1,85 vez maior. Ou seja, o reator LE apresentou superioridade em todas as fases averiguadas com relação à eficiência de remoção de nitrogênio.

A carga de nitrogênio removida no reator LS foi 0,71 vez inferior ao reator LE na fase I. Já na fase II foi de 0,81 vez menor. Por fim, em relação à fase III ela foi 0,51 vez menor. Portanto, também neste quesito o reator LE demonstrou ser a melhor configuração.

Registra-se que, observando-se os dados da

Tabela 18, a fase II evidenciou se tratar do melhor período para ambos os reatores. Nesta fase, os reatores LS e LE removeram as maiores cargas de nitrogênio, apresentando eficiências máximas de 59,5 e 69,78%, respectivamente.

As velocidades de consumo de amônio e nitrito e produção de nitrato obtidas durante o experimento na fase II estão destacadas na Tabela 19.

Tabela 19 Velocidades de consumo e produção de nitrogênio das bactérias com atividade anammox no reator LSe LEna fase II

Reator	$rN-NH_4^+$ *	$rN-NO_2^-$ *	$-rN-NO_3^-$ *
Reator LS	14,59	20,65	1,65
Reator LE	18,59	26,07	3,71

* $mgN.L^{-1}.h^{-1}$

Comparando as velocidades de amônio, nitrito e nitrato pelas bactérias com atividade anammox, percebeu-se que o reator LE foi 1,27, 1,26 e 2,24 vezes superior ao reator LS, respectivamente. Também destaca-se que a relação de consumo de nitrito por amônio para ambos os reatores foi de 1,4.

Na Tabela 20 está demonstrada a média dos coeficientes estequiométricos obtidos na fase II para o processo de desamonificação nos reatores LS e LE.

Tabela 20 Média dos coeficientes estequiométricos (mol) para o processo de desamonificação no reator LSe LE na fase II

	N-NO₃⁻	N₂	O₂	H⁺	H₂O
Vanotti et al. (2012)	0,11	0,44	0,85	1,14	1,43
Reator LS	0,10	0,42	0,87	1,13	1,43
Reator LE	0,10	0,44	0,88	1,13	1,44

Com relação às médias dos coeficientes estequiométricos referentes ao processo de desamonificação, durante o período de estabilidade da fase II, novamente o reator LE comprou, ainda que de forma mínima, superioridade ao reator LS.

Como foi observado, os coeficientes dos reatores tiveram valores próximos aos da literatura (VANOTTI et al., 2012). A pequena diferença existente pode ser influência da configuração, visto que a de leito expandido apresenta melhor transferência de massa (ZHENG et al., 2013).

Comparando o consumo de oxigênio do processo de desamonificação em cada reator com o do processo convencional de nitrificação/desnitrificação, o qual requer cerca de 2 mols de O₂ para cada mol de NH₃ oxidado (BITTON, 2005), observou-se que nos reatores A e B foram necessários 0,87 mol e 0,88 mol, respectivamente, o que representa 56,5 e 56% a menos de oxigênio necessário para remoção biológica do nitrogênio do que no processo convencional.

Quanto às populações de bactérias anammox e nitrificantes em cada reator, estas permaneceram estáveis. As bactérias nitrificantes tiveram aumento de cerca de 1 log₁₀ somente na fase III para ambos os reatores, o que justificou o aumento na concentração de nitrito na saída dos reatores.

Por fim, nas bactérias com atividade anammox houve uma pequena diferença entre os reatores. No reator LS, a população permaneceu em torno de 10⁴ (Tabela 11), não apresentando variação durante as diferentes fases de estudo, enquanto que para o reator LE, a população permaneceu em torno de 10⁴ somente na fase I (

Tabela 17), nas demais fases ela aumentou para 10^5 .

6 CONCLUSÕES

1. Foi possível estabelecer o processo de desamonificação nos dois reatores, um reator de leito expandido e outro de leito suspenso;

2. Nas configurações testadas, a vazão de ar de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ foi a melhor opção para ambos os reatores;

3. Na comparação da influência de cada configuração de reator sobre a eficiência de remoção de nitrogênio no processo de desamonificação, o reator de leito expandido foi 23,06% mais eficiente ao reator de leito suspenso;

4. Na quantificação de biomassa bacteriana anammox e nitrificante, não houve alterações significativas no reator de leito suspenso, somente crescimento de nitrificante na fase III. Já para o reator de leito expandido, além deste crescimento, também apresentou aumento na quantidade de bactérias com atividade anammox na fase II.

7 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

1. Estudar diferentes vazões de aeração com diversificadas cargas de nitrogênio aplicada;
2. Avaliar o comportamento do processo de desamonificação com efluente previamente tratado em digestão anaeróbia e de eletrofloculação, proveniente da suinocultura;
3. Otimizar tempo de aeração, de ciclo e de retenção hidráulica, a fim de aumentar a eficiência na remoção de nitrogênio;
4. Mensurar os gases emitidos no processo, em especial os causadores do efeito estufa.

REFERÊNCIAS

- AGNES, G.; NICOLOSO, R. S.; DA SILVA, M. L. B.; DE OLIVEIRA, P. A. V.; HIGARASHI, M. M.; MEZZARI, M. P.; MILLER, P. R. M. Correlating denitrifying catabolic genes with N₂O and N₂ emissions from swine slurry composting. **Bioresource Technology**, v. 140. p. 368–375. 2013.
- AHN, Y.H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1709-1721. 2006.
- AMARAL, A. C.; 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**, v. 34, p. 567-576, 2014.
- ANTHONISEN, A. C.; LOEHR R. C.; PRAKASAM, T. B. S.; SRINATH, E. G. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 48, p. 835-852. 1976.
- APHA, AWWA & WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22 ed. Washington, DC: American Public Health Association. 2012.
- ARROJO, B.; FIGUEROA, M.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L.; MÉNDEZ, R. Influence of gas flow-induced shear stress on the operation of the anammox process in a SBR. **Chemosphere**, v. 72. p. 1687-1693. 2008.
- ARROJO, B.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R. Effects of mechanical stress on anammox granules in a sequencing batch reactor (SBR). **Journal of biotechnology**, v. 123. p. 453-463. 2006.
- BAE, W.; BAEK, S.; CHUNG, J.; LEE, Y. Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors. **Biodegradation**, v.12, p. 359-366. 2002.
- BASSIN, J.P. Novos processos de remoção biológica de nitrogênio. In: Marcia Dezotti; Geraldo Lippel Sant'Anna; João Paulo Bassin. (Org). **Processos Biológicos Avançados para Tratamento de Efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência. v. 1. cap. 5. 2011.
- BERNHARD, A. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. **Nature Education Knowledge** 3, v.10. 2010.
- BITTON, G. **Wastewater microbiology**. 3. ed. New Jersey: Ed. John Wiley & Sons. 2005.
- BORTOLI, M. **Partida, Operação e Otimização de um sistema de nitrificação/desnitrificação visando a remoção de nitrogênio de efluente da suinocultura pelo processo Ludzack-Ettinger modificado**. Dissertação mestrado engenharia química, UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2010.

CANZIANI, R.; EMONDI, V.; GARAVAGLIA, M.; MALPEI, F.; PASINETTI, E.; BUTTIGLIERI, G. Effect of oxygen concentration on biological nitrification and microbial kinetics in a cross-flow membrane bioreactor (MBR) and moving-bed biofilm reactor (MBBR) treating old landfill leachate. **Journal of Membrane Science**, n. 286, p. 202-212. 2006.

CARVAJAL-ARROYO, J. M.; PUYOL, D.; LI, G.; SWARTWOUT, A.; SIERRA-ÁLVAREZ, R.; FIELD, J. A. Starved anammox cells are less resistant to NO_2^- inhibition. v. 65, p. 170-176. 2014.

CASAGRANDE, C. G.; KUNZ, A.; DE PRA, M.C.; BRESSAN, C.R.; SOARES, H.M. High nitrogen removal rate using anammox process at short hydraulic retention time. **Water Science & Technology**, v. 67.5. p. 968-975. 2013.

CERVANTES, F. J. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution**. London, NY: IWA Publishing. p. 420. 2009.

CHINI, A.; 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. 2014.

CHO, S.; TAKAHASHI, Y.; FUJII, N.; YAMADA, Y.; SATOH, H.; OKABE, S. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. **Chemosphere**, v.78, p.1129–1135. 2010.

CIUDAD, G.; RUBILARA, O.; MUÑOZA, P.; RUIZB, G.; CHAMYB, R.; VERGARAA, C.; JEISONA, D. Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process. **Process Biochemistry**, v. 40. p. 1715-1719. 2005.

CORADI, M. **Avaliação de estratégias de aeração e influência da matéria orgânica no desempenho do processo de desamonificação**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2014.

CUI, F. **Cold CANON: anammox at low temperatures**. Master of Science in Civil Engineering. Delft University of Technology. Delf. 2012.

DAPENA-MORA, A.; FERNÁNDEZ, I.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R.; JETTEN, M. S. M. Evaluation of activity and inhibition effects on ANAMMOX process by batch tests based on the nitrogen gas production. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.859–865, 2007.

DE PRA, M. C. **Estabelecimento e estudo cinético do processo de desamonificação utilizando-se um reator único para remoção de nitrogênio à temperatura ambiente**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2013.

DE PRA, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; PERONDI, T.; CHINI, A. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using partial nitritation process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 87. p. 1641-1647. 2012.

DEXIANG, L.; XIAOMING, L.; QI, Y.; GUANGMING, Z.; LIANG, G.; XIU, Y. Effect of inorganic carbon on anaerobic ammonium oxidation enriched in sequencing batch reactor. **Journal of environmental sciences**, v. 20, p. 940-944. 2007.

DOSTA, J.; FERNÁNDEZ, I.; VÁSQUEZ-PADÍN, J.R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L.; MATA-ÁLVARES, J.; MÉNDEZ, R. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154. p. 688-693. 2008.

EGLI, K.; BOSSHARD, F.; WERLEN, C.; LAIS, P.; SIEGRIST, H.; ZEHNDER, A.J.B.; VAN DER MEER, J.R. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. **Microbial Ecology**, n. 45. p. 419-432. 2003.

EGLI, K.; FANGER, U.; ALVAREZ, P. J. J.; SIEGRIST, H.; VAN DER MEER, J. R.; ZEHNDER, A. J. B. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. **Archives microbiology**, v. 175, p. 198-207. 2001.

FANG, C.; O-THONG, S.; BOE, K.; ANGELIDAKI, I. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). **Journal of Hazardous Materials**, v. 189. p. 229-234. 2011.

FERNÁNDEZ, I.; DOSTA, J.; FAJARDO, C.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R. Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the ANAMMOX process. **Environmental Management**, v. 95, p. 170–174, 2012.

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

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.; BOUWMAN, A. F.; BUTTERBACH-BAHL, K.; DENTENER, F.; STEVENSON, D.; AMANN, M.; VOSS, M. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. **Philosophical Transactions B Royal Society**, v. 368. 2013.

FUX, C. **biological nitrogen elimination of ammonium-rich sludge digester liquids**. PhD thesis, ETH-Zürich, Switzerland, 2003.

FUX, C.; BOEHLER, M.; HUBER, P.; BRUNNER, I.; SIEGRIST, H. Biological treatment of ammonium-rich wastewater by nitrification and subsequent anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in a pilot plant. **Journal of Biotechnology**, v. 99, p. 295-306. 2002.

GERARDI, M. H. **Wastewater bacteria**. New Jersey: John Wiley & Sons. 2002.

HAO, X.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Model-based evaluation of temperature and inflow variations on partial nitrification-anammox biofilm process. **Water Research**, v. 36. p. 4839-4849. 2002.

HAWKINS, S.; ROBINSON, K.; LAYTON, A.; SAYLER, G. Limited impact of free ammonia on *Nitrobacter* spp. inhibition assessed by chemical and molecular techniques. **Bioresource technology**, 2010.

IM, A.; JUNG, J.; BAE, H.; KIM, D.; GIL, K.. Correlation between nitrite accumulation and the concentration of AOB in a nitrification reactor. **Environmental Earth Science**, v.72, p.289-297. 2014.

JETTEN, M. S. M.; WAGNER, M.; FUERST, J.; VAN LOOSDRECHT, M.; KUENEN, G.; STROUS, M. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. **Environmental biotechnology**, v. 12. p. 283-288. 2001.

JEWELL, W. J. et al. Municipal wastewater treatment with anaerobic attached microbial film expanded bed process. **Journal of water pollution control federation**, v. 53, n.4, p.482-490. 1981.

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

KATO, M. T.; FIELD, J. A.; LETTINGA, G. The anaerobic treatment of low strength wastewaters in UASB and EGSB reactors. **Water science and technology**, v. 36, n.6-7, p. 375-382. 1997.

KATO, M.T.; FLORENCIO, L.; ARANTES, R.F.M. Post-treatment of UASB effluent in an EGSB reactor type using flocculent sludge. **Water Science & Technology**, v. 48. n. 6. p. 279-284. 2003.

KHIN, T.; ANNACHHATRE A. P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology advances**, p. 519-532. 2004.

KUENEN, J. G. Anammox bacteria: from discovery to application. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6. p. 320-326. 2008.

KUNII, D.; LEVENSPIEL, O. **Engineering fluidization**. New York: John Wiley. 1969.

KUNZ, A.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. O. Tecnologias de manejo e tratamento de dejetos de suínos estudadas no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 22. p.651-665. 2005.

LACKNER, S.; GILBERT, E. M.; VLAEMINCK, S. E.; JOSS, A.; HORN, H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full-scale Partial Nitrification/Anammox Experiences - an Application Survey. **Water research**, v.55, p. 292-303. 2014.

LIANG, Z.; HAN, Z.; YANG, S.; LIANG, X.; DU, P.; LIU, G.; YANG, Y. A control strategy of partial nitrification in a fixed bed biofilm reactor. **Bioresource technology**, v. 102. p. 710-715. 2011.

LIANG, Z.; LIU, J. Control factors of partial nitrification for landfill leachate treatment. **Journal of environmental sciences**, v. 19. p. 523-529. 2007.

LIU, S. T.; YANG, F. L.; GONG, Z.; SU, Z. C. Assessment of the positive effect of salinity on the nitrogen performance and microbial composition during the start-up of CANON process. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80. p. 4512-4520. 2008.

LIU, S. T.; ZENG, H.; LI, X.; ZENG, T.; CHANG, X.; CAI, Y.; ZHANG, J. Biodiversity and quantification of functional bacteria in completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite (CANON) process. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 399-406. 2012.

LU, H.; ZHENG, P.; JI, Q.; ZHANG, H.; JI, J.; WANG, L.; DING, S.; CHEN, T.; ZHANG, J.; TANG, C.; CHEN, J. The structure, density and settlability of anammox granular sludge in high-rate reactors. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 312–317. 2012.

MAGRÍ, A., VANOTTI, M. B., SZÖGI, A. A., CANTRELL, K. B. Partial Nitrification of Swine Wastewater in View of its Coupling with the ANAMMOX Process. **Journal of Environmental Quality**, v. 41. p. 1989-2000. 2012.

MOSQUERA-CORRAL, A.; GONZÁLEZ, F.; CAMPOS, J.L.; MÉNDEZ, R. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. **Process Biochemistry**, v. 40. p. 3109-3118. 2005.

OBAJA, D.; MACE, S.; COSTA, J.; SANS, C.; MATA-ALVES, J. Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 87. p. 103-111. 2003.

OKABE, S.; AOI, Y.; SATOH, H.; SUWA, Y. Nitrification in wastewater treatment. In: Ward, B. B.; ARP, D. J.; KLOTZ, M. G. (Org.) Nitrification. Washington: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Cap. 16. p. 237. 2011a.

OKABE, S.; OSHIKI, M.; TAKAHASHI, Y.; SATOH, H. Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process. **Bioresource technology**, v. 102. p. 6801-6807. 2011.

PARK, S.; BAE, W. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. **Process Biochemistry**, v. 44. p. 631-640. 2009.

SADEQ, M.; MOE, C. L.; ATTARASSI, B.; CHERKAOUI, I.; ELAOUAD, R.; IDRISSE, L. Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1–7 years in Moroccan areas. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 211, p. 546-554. 2008.

SANT'ANNA JUNIOR, Geraldo lippel. **Tratamento biológico de efluentes**: fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: Ed. Interciência. Cap.8. 2010.

SCHEEREN, M. B.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DRESSLER, V. L. O processo anammox como alternativa para tratamento de águas residuárias, contendo alta concentração de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15. n. 12. p. 1289-1297. 2011.

SCHIERHOLT NETO, G. F. **Desenvolvimento de uma flora de micro-organismos oxidadores anaeróbios de amônia utilizando inóculos provenientes de dejetos de**

suíno. Dissertação mestrado engenharia química. UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2007.

SCHIERHOLT NETO, G. F. et al. **Análise por injeção em fluxo para determinação de nitrato e nitrito em amostras de águas e dejetos de animais**. In: XI Encontro Nacional sobre Metodologias de Laboratório da Embrapa. Anais. Concórdia: EMBRAPA. p. 35-35. 2006.

SCHIERHOLT NETO, G. F.; KUNZ, A.; VANOTTI, M.; SOARES, H. M.; MATEI, R. M. **Aclimação e acompanhamento da atividade de lodos de efluentes de suinocultura para remoção de nitrogênio pelo processo de oxidação anaeróbia de amônia (anammox)**. XXX Congresso Internacional de Ingenieria Sanitaria y Ambiental. Anales. Puntadel este. 2006a.

SCHMIDELL, W.; REGINATTO, V. **Processos de eliminação de nitrogênio**. In: SCHMIDELL, W.; SOARES, H. M.; ETCHEBEHERE, C.; MENES, R. J.; BERTOLA, N. C.; CONTRERAS, E. M. Tratamento biológico de águas residuárias. Florianópolis, Cap. VI. 2007.

SEGANFREDO, M. A. **Gestão ambiental na suinocultura**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2007.

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

SLIEKERS, A.; THIRD, K. A.; ABMA, W.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. et al. CANON and ANAMMOX in a gas-lift reactor. **FEMS Microbiology Letters**, v. 218, p. 339-344, 2003.

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

STROUS, M.; GERVEN, E.; KUENEN, G.; JETTEN, M. Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 6, p. 2446-2448. 1997.

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

STROUS, M.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. **Applied Environmental Microbiology**, v.65, p.3248-3250. 1999a.

SUNEETHI, S.; SRI SHALINI, S. KURIAN, J. State of the art strategies for successful anammox startup and development: a review. **International Journal of Waste Resources**, v. 4, 4. 2014.

TANG, C.; HEB, R.; ZHENG, P.; CHAI, L.; MIN, X. Mathematical modeling of high-rate Anammox UASB reactor based on granular packing patterns. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250-251, p. 1-8. 2013.

TANG, C. J., ZHENG, P., CHEN, T. T., ZHANG, J. Q., MAHMOOD, Q., DING, S., CHEN, X. G., CHEN, J. W.; WU, D. T. Enhanced nitrogen removal from pharmaceutical wastewater using SBA-ANAMMOX process. **Water Research**, v. 45, p. 201-210. 2011.

TECHIO, V.H.; STOLBERG, J.; KUNZ, A.; ZANIN, E.; PERDOMO, C.C. Genotoxicity of swine effluents. **Water Science & Technology**, v. 63.5. p. 970-976. 2011.

THIRD K. A.; PAXMAN, J.; SCMID, M.; STROUS, M.; JETTEN, M. S.; CORD-RUWISCH, R. Treatment of nitrogen-rich wastewater using partial nitrification and ANAMMOX in the CANON process. **Water Science and Technology**, v. 52, p. 47-54. 2005.

THIRD, K. A.; SLIEKERS, A. O.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The CANON System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 24. p. 588-596. 2001.

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

VAN DE GRAAF, A. A.; MULDER, A.; de BRUIJN, P.; JETTEN, M. S. M.; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61. n. 4. p. 1246-1251. 1995.

VAN DER STAR, W. R. L.; ABMA, W. R.; BORAN KARTAL, A.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. **Application of the anammox process**. In: Ward, B. B.; ARP, D. J.; KLOTZ, M. G. (Org.) Nitrification. Washington: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Cap. 10. p. 237. 2011.

VAN HULLE, S. W. H.; VOLCKE, E. I. P.; TERUEL, J. L.; DONCKELS, B.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; VANROLLEGHEM, P. A. Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitritation process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82. p. 471-480. 2007.

VANOTTI, M.; MARTINEZ, J.; FUJII, T.; SZÖGI, A.; HIRA, D. **Ammonia removal using nitrification and anammox in a single reactor**. ASABE. Dallas – Texas. 2012.

VÁZQUEZ-PADÍN, J.R.; FERNÁNDEZ, I.; MORALES, N.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R. Autotrophic nitrogen removal at low temperature. **Water Science and Technology**, v. 63, p. 1282–1288. 2011.

VIANCELLI, A.; KUNZ, A.; ESTEVES, P. A.; BAUERMANN, F. V.; FURUKAWA, K.; FUJI, 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 Technology**, v. 54. n. 5. p. 1035-1041. 2011.

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

WEI, D.; DU, B.; XUE, X.; DAI, P.; ZHANG, J. Analysis of factors affecting the performance of partial nitrification in a sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 1863-1870. 2014.

WIESMANN, U.; CHOI, I. S.; DOMBROWSKI, E.M. **Fundamentals of biological wastewater treatment**. Wiley-VCH. 2007.

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

ZHANG, L.; YANG, J.; HIRA, D.; FUJII, T.; FURUKAWA, K. High-rate partial nitrification treatment of reject water as a pretreatment for anaerobic ammonium oxidation (anammox). **Bioresource Technology**, v. 102. p. 3761-3767. 2011.

ZHANG, L.; ZHENG, P.; TANG, C.; JIN, R. Anaerobic ammonium oxidation for treatment of ammonium-rich wastewaters. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9. p. 416-426. 2008.

ZHENG, M.; YAN, Z.; ZUO, J.; WANG, K. Concept and application of anaerobic suspended granular sludge bed (SGSB) reactor for wastewater treatment. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 8, p. 797-804. 2013.

ZHU, G.; PENG, Y.; LI, B.; GUO, J.; YANG, Q.; WANG, S. Biological removal of nitrogen from wastewater. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, v. 192. p. 159-195. 2008.

ANEXOS

Anexo 1 Composição e concentração da solução de macronutrientes e micronutrientes para o meio sintético anammox

Nutriente - Macronutrientes	Concentração (mg.L⁻¹)
KHCO ₃	125
KH ₂ PO ₄	27
FeSO ₄ .H ₂ O	9
EDTA	5
MgSO ₄ .7H ₂ O	240
CaCl ₂ .2H ₂ O	143
NH ₄ Cl	Conforme carga
NaNO ₂	Conforme carga
15 mL.L ⁻¹ da solução de micronutrientes	
Nutriente - Micronutrientes	Concentração (mg.L⁻¹)
ZnSO ₄	1247
MnSO ₄	1149
CuSO ₄ .5H ₂ O	44
Al ₂ (SO ₄) ₃ .14H ₂ O	201
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	129
CoCl ₂ .6H ₂ O	30
KCl	100
EDTA	975

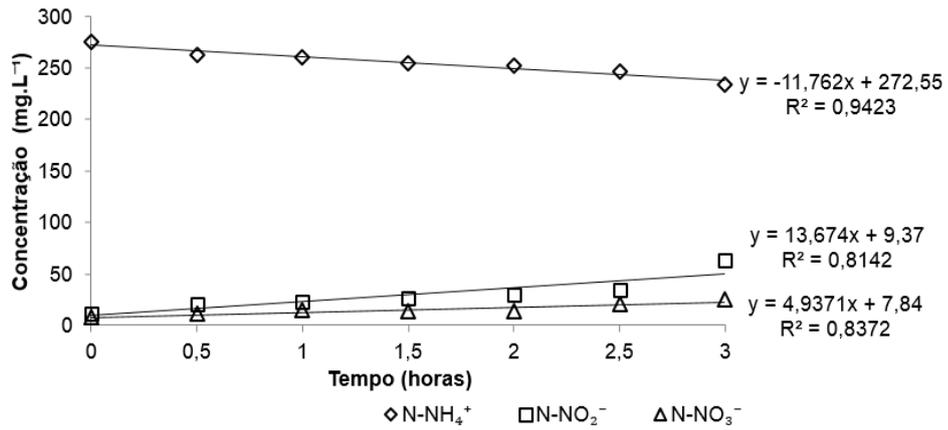
Fonte: Schierholt Neto et al. (2006a).

Anexo 2 Composição e concentração do meio de cultura para nitrificante e desamonificação

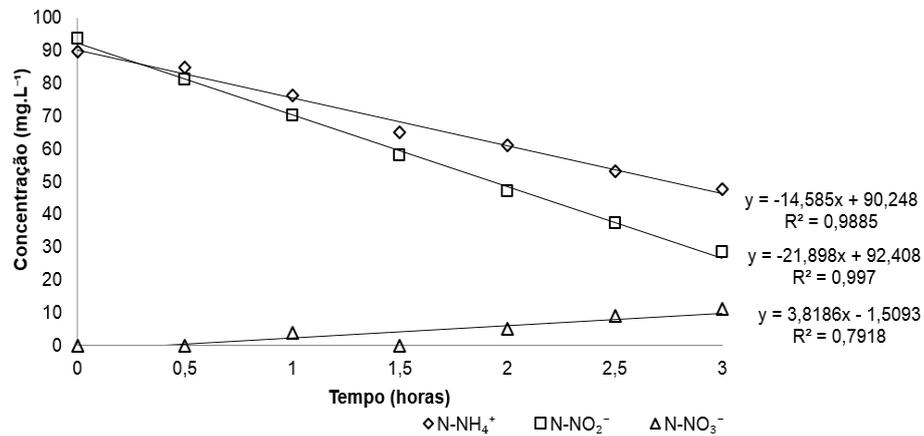
Nutriente	Concentração (mg.L⁻¹)
NH ₄ Cl	229,1 – 1145,7
K ₂ HPO ₄	100
NaHCO ₃	582,2 – 2911,4
Na ₂ CO ₃	78,2 – 391,1
MgSO ₄ .7H ₂ O	60
FeSO ₄ .7H ₂ O	8
CaCl ₂ .2H ₂ O	8
Solução de elementos traço	0,1 mL.L ⁻¹
Solução de elementos traço	Concentração (mg.L⁻¹)
ZnSO ₄	1247
MnSO ₄	1149
CuSO ₄ .5H ₂ O	44
Al ₂ (SO ₄) ₃ .14H ₂ O	201
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	129
CoCl ₂ .6H ₂ O	30
KCl	100
EDTA	975

Fonte: Magrí et al. (2012).

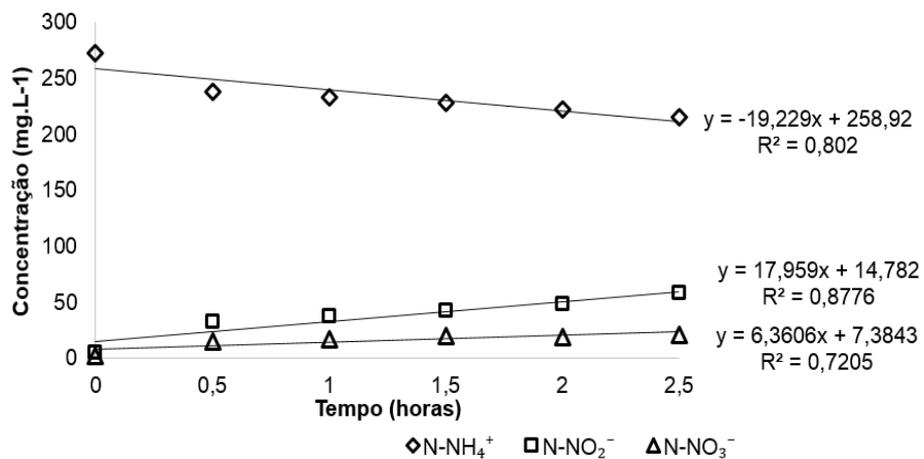
Anexo 3 Concentração das formas nitrogenadas durante o ensaio cinético nitrificante no reator LS.



Anexo 4 Concentração das formas nitrogenadas durante o ensaio cinético anammox no reator LS.



Anexo 5 Concentração das formas nitrogenadas durante o ensaio cinético nitrificante no reator LE.



Anexo 6 Concentração das formas nitrogenadas durante o ensaio cinético anammox no reator LE.

