

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

**DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR DE LEITO  
FIXO DE CALCÁRIO DOLOMÍTICO E ENXOFRE ELEMENTAR**

**ADRIANA NERES DE LIMA MODEL**

**CASCADEL – Paraná – Brasil**

**2016**

**ADRIANA NERES DE LIMA MODEL**

**DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR DE LEITO  
FIXO DE CALCÁRIO DOLOMÍTICO E ENXOFRE ELEMENTAR**

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

Orientador: Benedito Martins Gomes

**CASCADEL - Paraná - Brasil**

**Fevereiro - 2016**

ADRIANA NERES DE LIMA MODEL

"DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR DE LEITO FIXO DE CALCÁRIO DOLOMÍTICO E ENXOFRE ELEMENTAR"

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação "*Stricto Sensu*" em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:

  
Orientador: Prof. Dr. Benedito Martins Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

  
Prof. Dr. Dagoberto Yukio Okada

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp

  
Prof. Dr. Fernando Hermés Passig

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Curitiba

  
Prof.ª Dra. Cristiane Kreutz

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Campo Mourão

  
Prof.ª Dra. Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

Cascavel, 16 de fevereiro de 2016.

## BIOGRAFIA

Adriana Neres de Lima Model, nascida em 5 de março de 1989, no município de Coronel Vivida/PR. Graduada em 2009 pelo Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *campus* de Campo Mourão. Concluiu o mestrado em Engenharia Agrícola, em 2012, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *campus* de Cascavel.

Ingressou, no ano de 2012, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola nível doutorado, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, orientada pelos Professores Dr. Benedito Gomes e Dra. Simone Damasceno Gomes e estuda o tema “Remoção biológica de nitrogênio em efluentes agroindustriais”.

*“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco;  
à medida que vamos adquirindo conhecimentos,  
instala-se a dúvida”*

*Johan Wolfgang Von Goethe (1779-1832)*

## DEDICATÓRIA

*"Com admiração, pela grandeza do que você está construindo sem que ninguém o veja".*

*(A mulher invisível - Nicole Jonhson)*

*Às quatro mulheres "invisíveis" da minha vida,  
Solange Mohr, Eleni Calza, Maria de Lourdes Neres (in memoriam) e, especialmente,  
Noeli Neres de Lima.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas cruzaram meu percurso nesse período; umas de passagem e outras presentes no dia-a-dia. No entanto, algumas foram fundamentais na conclusão desse desafio e não poderia deixar de agradecê-las com toda a minha sinceridade;

Ao meu esposo, Jonny Christian Model, pelo amor, pela paciência, por encarar os desafios ao meu lado e pelo incentivo nos momentos de incertezas;

Aos meus pais, Noeli e Altamiro, e ao meu irmão, Luís Felipe, sempre tão preocupados e atenciosos, pelo amor incondicional, pelas palavras de otimismo que me acalmaram e pela compreensão durante as minhas ausências;

Aos meus avós, Maria de Lourdes (*in memorian*) e Bernardino Neres (*in memorian*), que iniciaram essa caminhada ao meu lado e continuam me iluminando do céu, pelos abraços e sorrisos sinceros e pelo exemplo de vida que me deram força e coragem;

A minha família, em especial meus padrinhos Solange e Edson Mohr e Eleni e Antoninho Calza, que apesar da distância, nunca deixaram de estar ao meu lado;

À Carla Limberger, Joseane Bortolini, Francielly Torres e Denise Palma, pelo fiel companheirismo no laboratório, pela vivência e aprendizado, pelo incentivo nas dificuldades e desânimo, pelos valiosos momentos de descontração e gargalhadas no final de tarde. Enfim, pela amizade verdadeira que se fortaleceu em meio a atribuições, pressões e contratempos;

Ao Edison da Cunha, pelo auxílio na realização das análises experimentais e pelas brincadeiras que descontraíram os momentos de cansaço;

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Benedito Martins Gomes e Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Damasceno Gomes, pela oportunidade da realização deste estudo, pela orientação e confiança em mim depositada;

Aos professores da Pós-graduação em Engenharia Agrícola e colaboradores, em especial aos professores Divair Christ, Silvia Renata Coelho Machado, Eloy Lemos de Mello, Cristiane Kreutz, Karina Querne de Carvalho e Fernando Passig, pelo auxílio na busca por metodologias, pelas sugestões, por dividirem experiências e pelo estímulo em continuar;

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro concedido;

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por disponibilizar a estrutura necessária ao longo do doutorado, proporcionar experiências e possibilitar meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A Deus, pelo privilégio desse conquista!

## RESUMO

A nitrificação acoplada à desnitrificação autotrófica, a partir do enxofre elementar como doador de elétrons, pode ser uma opção adequada no pós-tratamento de efluentes anaeróbios, os quais contêm nitrogênio amoniacal que deve ser nitrificado, cujas baixas concentrações de carbono ( $C/N < 5$ ) dificultam a desnitrificação heterotrófica. Devido ao consumo de alcalinidade nos dois processos, materiais calcários podem ser utilizados como alcalinizantes para garantir as eficiências de remoção do nitrogênio. Com base nessa constatação, esta pesquisa propôs a aplicação da nitrificação seguida da desnitrificação autotrófica em único reator contendo enxofre elementar e calcário dolomítico na remoção de nitrogênio de efluente anaeróbio proveniente de frigorífico avícola. Devido às lacunas presentes na literatura sobre a aplicação da desnitrificação autotrófica a partir do enxofre elementar em efluentes reais, esse estudo foi dividido em três etapas. Na primeira etapa, avaliou-se o desempenho da desnitrificação autotrófica em quatro reatores anóxicos de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico nas proporções de 4:0, 3:1, 1:1 e 1:3. Os reatores foram submetidos à alimentação de carga nitrogenada constante de  $0,114 \text{ kg N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  em cinco condições de alcalinidade inicial (1000, 800, 600, 400 e  $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ). Os reatores apresentaram comportamento semelhante nas cinco condições experimentais avaliadas. As maiores eficiências de desnitrificação (entre 84,8 e 94,9%) foram observadas nas três primeiras condições, com taxa de desnitrificação de  $0,102 \pm 0,002 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  e consumo aparente de alcalinidade superior a  $244,8 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . As eficiências de desnitrificação tenderam a diminuir em função do decréscimo da alcalinidade inicial a partir da terceira condição experimental ( $600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) devido ao consumo excessivo e ao incremento insuficiente de alcalinidade ( $< 180 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) a partir do calcário dolomítico. Na segunda etapa, o reator anóxico com composição de leito na relação de 1:3, em condição inicial de alcalinidade de  $600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , foi operado em TDH de 14, 10 e 6 horas. O reator apresentou eficiências de desnitrificação de  $94,4 \pm 2,0$  e  $94,9 \pm 2$  e  $71,1 \pm 7,8\%$  e taxas de desnitrificação de  $0,115 \pm 0,007$ ,  $0,164 \pm 0,007$  e  $0,217 \pm 0,025 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  para os TDH de 14, 10 e 6 horas, respectivamente. No TDH de 6 horas, a sobrecarga aplicada e a limitada transferência de massa, devido ao acúmulo de gases no leito, podem ter contribuído para diminuição do desempenho do reator. A terceira etapa abordou estratégias de alimentação com mistura de efluentes amonificado e nitrificado em diferentes proporções de 1:3 (E1), 1:1 (E2) e 3:1 (E3) em reator anóxico-aeróbio de leito fixo de enxofre elementar: calcário dolomítico de 1:3 em condição inicial de alcalinidade de  $1000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . O reator apresentou eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total de  $67,3 \pm 6,4$  e  $64,2 \pm 6,3\%$  para a condição E1,  $63,4 \pm 6,4$  e  $53,1 \pm 7,1\%$  para E2 e  $14,2 \pm 4$  e  $33,8 \pm 1,7\%$  para E3. A geração de sulfeto de hidrogênio a partir, principalmente, do efeito de desproporção do enxofre no compartimento anóxico, pode ter contribuído para a inibição parcial das bactérias nitrificantes. A dificuldade em manter o processo de nitrificação foi caracterizada como fator limitante na remoção de nitrogênio. As baixas eficiências de remoção de nitrogênio total indicaram que a nitrificação seguida da desnitrificação autotrófica, a partir do enxofre elementar em único reator, não foi adequada para remover compostos nitrogenados de efluente anaeróbio de frigorífico avícola.

**Palavras-chave:** biofilme, sulfato, nitrificação, alcalinidade, comportamento hidrodinâmico.



## ABSTRACT

### AUTOTROPHIC DENITRIFICATION OF POULTRY EFFLUENT IN FIXED BED REACTOR OF DOLOMITIC LIMESTONE AND ELEMENTAL SULFUR

Nitrification associated to autotrophic denitrification, up from an elemental sulfur as an electron donor, can be an adequate option during the post-treatment of anaerobic effluent, which contains ammoniacal nitrogen that should be nitrified, and whose low carbon concentrations ( $C/N < 5$ ) make heterotrophic denitrification difficult. Due to the alkalinity consumption in both processes, lime materials can be applied as alkalizing to ensure the nitrogen removal efficiencies. Therefore, based on this finding, this research has proposed nitrification application followed by autotrophic denitrification in a single reactor containing elemental sulfur and dolomitic limestone to remove nitrogen from an anaerobic effluent from a cold storage from poultry industry. Thus, this study was divided into three steps due to some gaps in literature on the application of autotrophic denitrification up from elemental sulfur in real effluents. In the first step, the performance of autotrophic denitrification was evaluated in four anoxic fixed-bed reactors of elemental sulfur and dolomitic lime at 4:0, 3:1, 1:1 and 1:3 ratios. The reactors were submitted to constant nitrogen feed load ( $0.114 \text{ kg N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) under five initial alkalinity conditions (1,000, 800, 600, 400 and  $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ). The reactors showed similar behavior under those five evaluated experimental conditions. The greatest denitrification efficiencies (from 84.8 to 94.9%) were observed in the first three conditions, whose denitrification rate was  $0.102 \pm 0.002 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  and apparent consumption of alkalinity superior to  $244.8 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . Denitrification efficiencies tended to decrease due to the decrease in the initial concentration of alkalinity up from the third experimental condition ( $600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) due to an excessive consumption and inadequate increase of alkalinity ( $< 180 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) from dolomitic limestone. During the second step, the anoxic reactor with bed composition (1: 3 ratio), whose initial alkalinity condition was  $600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , operated at 14, 10 and 6 h HRT. The reactor showed denitrification efficiencies of  $94.4 \pm 2.0$ ;  $94.9 \pm 2$ ;  $71.1 \pm 7.8\%$  as well as denitrification rates of  $0.115 \pm 0.007$ ;  $0.164 \pm 0.007$  and  $0.217 \pm 0.025 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  for HRT of 14, 10 and 6 hours, respectively. At the sixth hour-HRT, the applied overload and limited mass transfer may have contributed to performance decrease into the reactor due to the accumulation of gases in the bed. The third step approached about feeding strategies with mixing ammonified as well as nitrified one in different rates 1:3 (E1), 1:1 (E2) and 3:1 (E3) in anoxic-aerobic reactor of fixed bed with elemental sulfur: dolomitic limestone 1: 3, under  $1,000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  initial condition of alkalinity. The reactor presented some efficiencies of ammoniacal and total nitrogen removal of  $67.3 \pm 6.4$  and  $64.2 \pm 6.3\%$  for E1 condition,  $63.4 \pm 6.4$  and  $53.1 \pm 7.1\%$  for E2 and  $14.2 \pm 4.4$  and  $33.8 \pm 1.7\%$  for E3. The generation of hydrogen sulfide mainly from sulfur imbalance effect in anoxic compartment may have contributed to a partial inhibition of nitrifying bacteria. The difficulty in keeping the nitrification process was characterized as a limiting factor during nitrogen removal. Low total nitrogen removal efficiencies have implied that nitrification followed by autotrophic denitrification from elemental sulfur in a single reactor was inadequate to remove nitrogenous compounds of anaerobic effluent from a cold storage from poultry industry.

**Keywords:** biofilm, sulfate, nitrification, alkalinity, hydrodynamic behavior.

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO GERAL DA TESE .....</b>	<b>10</b>
<b>ARTIGO 1: EFEITO DA ALCALINIDADE INICIAL E PROPORÇÃO DE ENXOFRE ELEMENTAR: CALCÁRIO DOLOMÍTICO NA DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR DE LEITO FIXO .....</b>	<b>12</b>
RESUMO .....	12
1 INTRODUÇÃO .....	12
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	14
2.1 CONFIGURAÇÃO DOS REATORES E CONDIÇÕES OPERACIONAIS .....	14
2.2 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO .....	16
2.3 INOCULAÇÃO E ACLIMATAÇÃO .....	16
2.4 AMOSTRAGEM E MONITORAMENTO ANALÍTICO .....	16
2.5 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS .....	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
3.1 EFICIÊNCIA DA DESNITRIFICAÇÃO .....	18
3.2 INCREMENTO DA ALCALINIDADE .....	20
3.3 PRODUÇÃO DE SULFATO .....	23
3.4 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL .....	24
3.5 COMPORTAMENTO HIDRODINÂMICO .....	25
4 CONCLUSÕES .....	28
REFERÊNCIAS .....	29
<b>ARTIGO 2: NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR ANÓXICO-AERÓBIO DE LEITO FIXO DE ENXOFRE ELEMENTAR E CALCÁRIO DOLOMÍTICO .....</b>	<b>34</b>
RESUMO .....	34
1 INTRODUÇÃO .....	34
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	36
2.1 CONFIGURAÇÃO DO REATOR ANÓXICO .....	36
2.1.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO E CONDIÇÕES OPERACIONAIS .....	37
2.2 CONFIGURAÇÃO DO REATOR ANÓXICO-AERÓBIO .....	38
2.2.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO E CONDIÇÕES OPERACIONAIS .....	39
2.3 AMOSTRAGEM E MONITORAMENTO ANALÍTICO .....	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
3.1 DESEMPENHO DO REATOR ANÓXICO .....	41

3.1.1	EFICIÊNCIA DA DESNITRIFICAÇÃO E PRODUÇÃO DE SULFATO .....	41
3.1.2	ALCALINIDADE E PH.....	45
3.1.3	DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL .....	47
3.2	DESEMPENHO DO REATOR ANÓXICO-AERÓBIO .....	48
3.2.1	PRODUÇÃO DE SULFATO .....	51
4	CONCLUSÕES .....	53
	REFERÊNCIAS .....	54

## APRESENTAÇÃO GERAL DA TESE

A seleção do tema “desnitrificação autotrófica” no desenvolvimento desse projeto de tese foi direcionada pela evolução dos trabalhos sobre a remoção biológica de nitrogênio de efluentes agroindustriais desenvolvidos pela Linha de Pesquisa Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola/Universidade Estadual do Oeste do Paraná. A abordagem da linha de pesquisa é justificada pela importância econômica de frigoríficos e abatedouros para a região associada aos impactos ambientais representados pela atividade agroindustrial.

Inicialmente, a linha de pesquisa abordou a configuração de reator em batelada sequencial (RBS) no tratamento de efluentes provenientes do processamento de carne avícola, bovina e pescados. Dessa forma, os processos de nitrificação e desnitrificação foram explorados em reatores separados. Na nitrificação, foram analisados os efeitos dos parâmetros do tempo de ciclo (TC), concentração inicial de nitrogênio amoniacal e vazão de ar (ZENATTI et al., 2009, ANDRADE et al., 2010). Na desnitrificação, foram estudados os efeitos da velocidade de agitação e relação DQO/N (KUMMER et al., 2011).

Em uma segunda etapa, os processos de nitrificação e desnitrificação foram contemplados em um único reator na configuração inicial estudada (RBS) e os parâmetros avaliados foram: relação C/N, TC, concentração inicial de nitrogênio amoniacal e vazão de ar (MEES et al., 2011, 2013, 2014, DALLAGO et al., 2012, LIMA et al., 2014, LIMBERGER et al., 2015).

A abordagem em contemplar a nitrificação e a desnitrificação em um único reator, porém em fluxo contínuo, com possibilidade de incluir os processos de digestão anaeróbia e amonificação, foi estendida na configuração de reator compartimentado anaeróbio-aeróbio de leito fixo. Nessa configuração, os fatores tempo de detenção hidráulica (TDH) e razão de circulação foram avaliados no tratamento de efluentes de abatedouro bovino (KREUTZ et al., 2014) e frigorífico avícola (LIMBERGER, 2016).

Vale ressaltar que as configurações estudadas abrangeram os processos convencionais de remoção de nitrogênio: nitrificação autotrófica seguida de desnitrificação heterotrófica. A partir disso, surgiu a possibilidade de estudar a desnitrificação autotrófica como alternativa da desnitrificação heterotrófica.

Dentro desse contexto, decidiu-se avaliar a desnitrificação autotrófica de efluente nitrificado avícola em reator anóxico de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico e verificar a possibilidade de contemplar os processos de nitrificação e desnitrificação autotróficas em um único reator. Para atingir os objetivos traçados, a tese foi desenvolvida em três etapas, e apresentada em dois artigos.

Na primeira etapa, quatro reatores anóxicos de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico, nas proporções de 4:0, 3:1, 1:1 e 1:3, foram utilizados para a desnitrificação autotrófica de efluente de frigorífico avícola. Os reatores foram submetidos à alimentação de carga nitrogenada constante ( $0,114 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) em situações de declínio da alcalinidade inicial (1000, 800, 600, 400 e 200  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ). O substrato de alimentação foi nitrificado em RBS. Nessa etapa, houve a identificação do efeito de desproporção do enxofre causada pela depleção de aceptores de elétrons do meio.

Na segunda etapa, o reator com composição de leito na relação de 1:3, em condições iniciais de alcalinidade de 600  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , foi operado em diferentes TDH (14, 10, 6 horas). A condição de operação foi selecionada em função de aspectos como desempenho, incremento e alcalinidade e efeito de desproporção de enxofre. O substrato de alimentação foi nitrificado em RBS.

A terceira etapa abordou estratégias de alimentação com mistura de efluentes amonificado e nitrificado em diferentes proporções (1:3, 1:1, 3:1) em reator anóxico-aeróbio de leito fixo de enxofre elementar:calcário dolomítico de 1:3. A mistura dos efluentes teve como objetivo evitar o efeito de desproporção de enxofre, a oxidação do sulfeto de hidrogênio e, conseqüentemente, a acidificação do meio. Dessa forma, foi possível contemplar os processos de nitrificação e desnitrificação autotrófica, por recirculação em um único reator.

A primeira etapa foi abordada no artigo 1, enquanto a segunda e a terceira etapas foram abordadas no artigo 2. O fluxograma das etapas realizadas para o desenvolvimento da tese é apresentado na Figura 1.

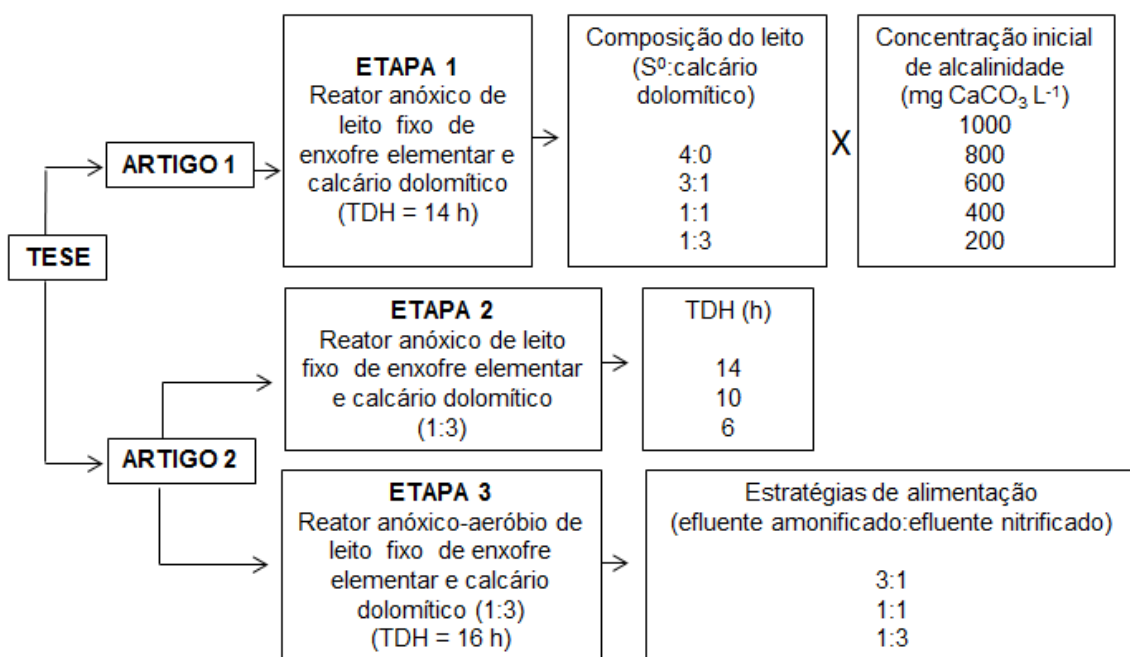


Figura 1 Fluxograma das etapas realizadas no desenvolvimento da tese.

## ARTIGO 1: EFEITO DA ALCALINIDADE INICIAL E PROPORÇÃO DE ENXOFRE ELEMENTAR:CALCÁRIO DOLOMÍTICO NA DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR DE LEITO FIXO

### RESUMO

A desnitrificação autotrófica, a partir do enxofre elementar, é uma alternativa à desnitrificação heterotrófica para substratos caracterizados pela baixa relação C/N. Nesse processo, os compostos nitrogenados são reduzidos a partir do enxofre elementar ao invés do carbono, como ocorre no processo convencional. No entanto, os relatos na literatura em relação à aplicação desse processo em efluentes reais são limitados. A baixa relação C/N apresentada por efluentes reais nitrificados é fator favorável a sua aplicabilidade. Porém, o processo pode ser limitado devido à presença de baixa alcalinidade nesses efluentes. Assim, o estudo do uso de fontes suplementares de alcalinidade e do efeito das variações de alcalinidade afluente se fazem necessários. Dentro desse contexto, este estudo teve por objetivo avaliar o desempenho da desnitrificação autotrófica de efluente nitrificado avícola em reatores de leito fixo de enxofre elementar:calcário dolomítico (1:0, 3:1, 1:1, 1:3), operados em condições de declínio de alcalinidade inicial (1000, 800, 600, 400 e 200 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>). Eficiências de desnitrificação superiores a 84,8% foram observadas em condições de alcalinidade inicial superiores a 600 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, nos quatro reatores, associadas às produções máximas de 445,1 mg SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> L<sup>-1</sup>. Dissoluções máximas de calcário dolomítico de 180 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> foram registradas com valores de pH inferiores a 6. A lenta dissolução do calcário dolomítico desfavoreceu as eficiências de desnitrificação em condições de alcalinidade inicial inferiores a 600 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Nas proporções de enxofre elementar:calcário dolomítico de 1:0 e 3:1 foi requerida a alcalinidade teórica em pelos menos duas vezes mais, a qual é necessária para manter o desempenho do sistema, enquanto nas proporções 1:1 e 3:1, essa relação foi de 1,5. O processo de desnitrificação autotrófica demonstrou ser viável quanto ao tratamento de afluente avícola nitrificado, porém sua eficiência foi vinculada às características do substrato de alimentação e à dissolução do calcário dolomítico.

**Palavras-chave:** biofilme; bicarbonato de sódio; sulfato; nitrato; comportamento hidrodinâmico.

## 1 INTRODUÇÃO

Convencionalmente, a remoção biológica de nitrogênio é realizada pelos processos de nitrificação autotrófica seguida da desnitrificação heterotrófica. Nesses processos, o nitrogênio amoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) é oxidado a nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) em fase aeróbia e, posteriormente, reduzido a nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) em fase anóxica.

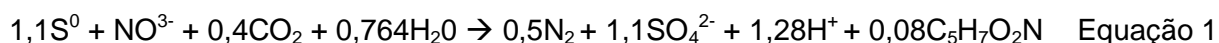
Em efluentes provenientes de tratamento anaeróbio, a matéria orgânica remanescente é detectada em baixas concentrações e caracterizada por baixa degradabilidade. Portanto, faz-se necessária a adição de fontes exógenas de carbono, como doadores de elétrons, para que a desnitrificação heterotrófica seja efetiva (relação C/N superior a 5) (METCALF; EDDY, 2003, KUMMER et al., 2011). As fontes de C comumente

utilizadas são metanol, etanol, glicose, sacarose e ácido acético (GUO et al., 2007, PAREDES et al., 2007, CASTRILLON et al., 2009, BARANA et al., 2013), que contribuem para o aumento dos custos operacionais do sistema.

A desnitrificação autotrófica à base de compostos reduzidos de enxofre tem sido reportada como alternativa à desnitrificação heterotrófica no tratamento de substratos caracterizados por elevadas concentrações de nitratos/nitritos e baixo teor de matéria orgânica (WAN et al., 2009; ZHOU et al., 2011; JAROSZINSKI et al., 2012). Nesse processo, os compostos nitrogenados são reduzidos principalmente por bactérias das espécies *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans*, que utilizam de compostos inorgânicos como o sulfeto ( $S^{-2}$ ), enxofre elementar ( $S^0$ ) e tiosulfato ( $S_2O_3^{-2}$ ), como doadores de elétrons para a desnitrificação (BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006, MANCONI; CARUCCI; LENS, 2007).

Entre os compostos reduzidos de enxofre, evidencia-se o uso do enxofre elementar devido ao seu baixo custo, em relação a doadores de elétrons comerciais orgânicos (TANDUKAR et al., 2009; PARK; YOO, 2009) e características como atoxicidade (MOON et al., 2006), insolubilidade em água e disponibilidade imediata como um mineral ou subproduto do processamento de combustível, como usinas de energia de queima de carvão.

Na reação de redução do nitrato a nitrogênio gasoso, o enxofre elementar é oxidado a sulfato (Equação 1) (BATCHELOR; LAWRENCE, 1978).



As principais vantagens da desnitrificação autotrófica, em relação à desnitrificação heterotrófica, são a menor produção de lodo e o controle menos rígido de dosagem de doadores de elétrons (KOENIG; LIU, 2001a; KIMURA; NAKAMURA; WATANABE, 2002; KIM et al., 2004; ROCCA; BELGIORNO; MERIC, 2007). Os rendimentos de biomassa reportados dos microrganismos desnitrificantes autotróficos são de 0,40-0,57 g SSV g  $NO_3^{-1}$ . Todavia, para desnitrificantes heterotróficas são de 0,80-1,20 g SSV g  $NO_3^{-1}$  (NOEL; KUTZNER, 1985; OH et al., 2000).

Embora a desnitrificação autotrófica apresente benefícios, a utilização do enxofre elementar como doador de elétrons pode resultar em elevadas produções de sulfato e consumo de alcalinidade (LIU; KOENIG, 2002; MOON et al., 2008; SAHINKAYA et al., 2011). Estima-se que pelo menos 4,57 g  $CaCO_3$  e 7,5 g de  $SO_4^{-2}$  são consumidos e produzidos, respectivamente, por grama de nitrato reduzido (SAHINKAYA et al., 2011; SAHINKAYA; KILIC, 2014).

Devido ao consumo de alcalinidade no processo, alguns pesquisadores reportaram a utilização de material calcário como fonte de alcalinidade e carbono inorgânico para os microrganismos (MOON et al., 2008; SAHINKAYA et al. 2011, ZHOU et al, 2011) e manutenção do pH na faixa desejada de 6,8 a 8,2 (KOENIG; LIU, 2001b). Vale ressaltar que a disponibilização da alcalinidade pela dissolução desse material pode estar associada a sua caracterização, aos valores de pH e à alcalinidade inicial do substrato.

Os resultados obtidos na literatura demonstram que a desnitrificação autotrófica em reatores contendo enxofre elementar e calcário como leito fixo têm sido aplicados de forma eficiente no tratamento de substratos sintéticos e de águas subterrâneas contaminados com nitratos (OH, et al, 2001; MOON, et al., 2006; MOON et al., 2008; LIU et al., 2009; SAHINKAYA et al. 2011; SAHINKAYA; DURSUN, 2012. No entanto, as discussões sobre o efeito da alcalinidade inicial presente nos substratos sobre a dissolução do calcário e a aplicação em efluentes reais são pouco reportadas.

Por isso, a aplicação da desnitrificação autotrófica, a partir do enxofre elementar em efluentes nitrificados, pode ser propícia devido à característica da baixa relação C/N. Porém, o desempenho do processo pode ser limitado devido à presença de baixas alcalinidades nesses efluentes. Assim, o estudo do uso de fontes suplementares de alcalinidade e do efeito das variações de alcalinidade afluente se faz necessário.

Dentro desse contexto, esse estudo teve por objetivo avaliar o desempenho da desnitrificação autotrófica de efluente nitrificado avícola em reatores de leito fixo de enxofre elementar:calcário dolomítico em proporções de 1:0, 3:1, 1:1, 1:3, operados em condições de declínio alcalinidade: 1000, 800, 600, 400 e 200 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Configuração dos reatores e condições operacionais**

A unidade experimental foi composta por quatro reatores cilíndricos de leito fixo constituídos por policloreto de vinila, operados em fluxo contínuo ascendente. O volume útil de cada reator, com dimensões de 75 mm de diâmetro interno e 750 mm de comprimento, era de 1,268±0,074 L, assim distribuído: 0,165 L (câmara de alimentação), 0,914±0,074 L (leito reacional) e 0,188 L (câmara de saída) (Figura 1). Quatro pontos de amostragem foram dispostos ao longo da altura do reator: P1 (alimentação), P2 (270 mm), P3 (470 mm) e P4 (saída).



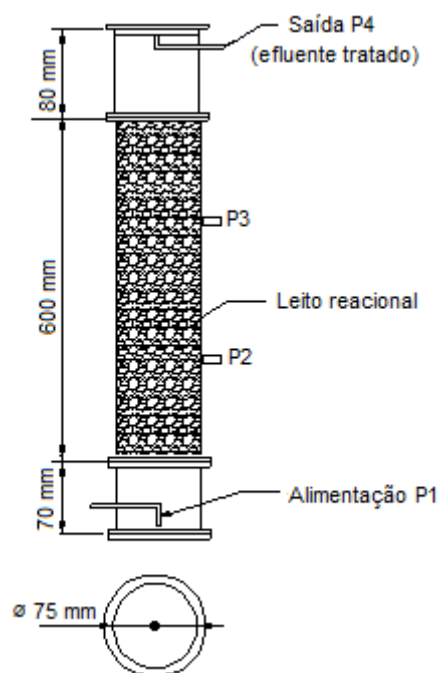


Figura 1 Desenho esquemático do reator.

Enxofre elementar (99% e  $d=2,1 \text{ g cm}^{-3}$ ) e calcário dolomítico ( $\text{CaO}=31,8\%$ ,  $\text{MgO}=22,7\%$  e  $d=1,8 \text{ g cm}^{-3}$ ) com granulometria entre 9,5 e 12,5 mm foram utilizados como leitos fixos. As proporções enxofre elementar:calcário dolomítico, em volume, utilizadas nos reatores foram de 1:0 (R1), 3:1 (R2), 1:1 (R3) e 1:3 (R4) (Tabela 1). Enquanto a porosidade dos leitos resultou em  $47\pm 3\%$ .

Tabela 1 Proporções da composição dos leitos dos reatores

Reator	R1	R2	R3	R4
(Enxofre elementar:calcário dolomítico)	(1:0)	(3:1)	(1:1)	(1:3)
Volume de enxofre (%)	100	75	50	25
Enxofre elementar (g)	2361,3	1784,9	1149,1	600,1
Calcário dolomítico (g)	0	723,3	1446,3	2165,6

Bombas peristálticas foram utilizadas no abastecimento dos reatores a partir de recipiente de alimentação mantido em refrigeração ( $4^{\circ} \text{C}$ ). Os reatores foram acondicionados em câmara de controle de temperatura a  $29\pm 1,2^{\circ} \text{C}$  e operados por 150 dias com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 14 horas e carga nitrogenada aplicada de  $0,114 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

Cinco condições iniciais de alcalinidade foram avaliadas: 1000, 800, 600, 400 e  $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . O ajuste da alcalinidade foi proporcionado pela adição de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ).

## 2.2 Caracterização do substrato

O efluente nitrificado proveniente de frigorífico avícola foi utilizado como substrato de alimentação. Inicialmente, o efluente, predominantemente amonificado, foi coletado na saída da primeira lagoa anaeróbia do sistema de tratamento da agroindústria. Posteriormente, foi nitrificado em reatores em batelada sequencial (RBS), com volume útil de 6 L a  $28\pm 0,9^\circ\text{C}$  e tempo de ciclo (TC) 24 horas (inoculação com lodo aeróbio:  $2,9\text{ g SSV L}^{-1}$ ; 20% (v/v)).

O efluente nitrificado, utilizado na alimentação dos reatores desnitrificantes, apresentou a seguinte caracterização:  $\text{pH}=5,1\pm 0,3$ ;  $59,3\pm 4,3\text{ mg NO}_3^- \text{L}^{-1}$ ;  $4,1\pm 3,2\text{ mg NH}_4^+ \text{L}^{-1}$ ;  $3,2\pm 1,2\text{ mg NO}_2^- \text{L}^{-1}$ ;  $28,1\pm 4,8\text{ mg SO}_4^{2-} \text{L}^{-1}$  e  $\text{DQO}=97,8\pm 8,2\text{ mg O}_2 \text{L}^{-1}$ . O ajuste da alcalinidade foi proporcionado pela adição de  $\text{NaHCO}_3$  conforme a condição a ser avaliada.

## 2.3 Inoculação e aclimação

O inóculo para a desnitrificação autotrófica foi obtido a partir de lodo ( $14\text{ g SSV L}^{-1}$ ) do compartimento anaeróbio de reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo, e aclimatado em RBS com volume útil de 4 L operado a  $30\pm 1,2^\circ\text{C}$  e TC de 12 horas.

O substrato nitrificado suplementado com tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) foi utilizado na alimentação do RBS conforme metodologia adaptada de Moon et al. (2004) a fim de estabelecer uma comunidade autotrófica, a partir de lodo predominantemente heterotrófico. Após oito semanas de operação, o inóculo enriquecido ( $12\text{ g SSV L}^{-1}$ ) foi transferido para os quatro reatores de leito fixo na proporção de 32% (v/v). A aderência dos microrganismos ao leito foi promovida por repouso (14 h) e recirculação (24 h) do substrato.

A partida do reator ocorreu com alimentação de substrato nitrificado com alcalinidade inicial de  $1000\text{ mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$  (primeira condição experimental avaliada). A atividade biológica desnitrificante foi considerada estável a partir da quinta semana de operação com eficiências de remoção de nitrato superiores a 90%.

## 2.4 Amostragem e monitoramento analítico

Após atingir o estado de equilíbrio aparente, seis amostras foram coletadas para cada ponto de amostragem em cada condição testada. Os perfis temporais foram plotados a partir das amostras coletadas em P1 e P2, ou seja, amostras afluentes e efluentes. Os perfis

especiais, referentes à altura do reator, foram plotados a partir das amostras coletadas em P1, P2, P3 e P4.

Os parâmetros físico-químicos determinados foram pH (4500 H<sup>+</sup>), Demanda Química de Oxigênio (DQO) (5220 D), NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (4500 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> I), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> I) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (4500 C) de acordo com metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Concentrações de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) (8051) e sulfeto de hidrogênio em meio aquoso (8131) foram determinadas por kits da marca Hach, preparados de acordo com as recomendações da APHA (2005). A alcalinidade total foi mensurada por metodologia proposta por Dillalo e Albertson (1961), modificada por Ripley *et al.* (1986).

A caracterização do calcário dolomítico, por espectrometria de fluorescência de raios X (FRX) em termos de CaO e MgO, foi realizada no início e no final do experimento, quando da abertura dos reatores.

As variáveis-respostas utilizadas para verificar o desempenho do reator foram: eficiência de desnitrificação em termos de NO<sub>x</sub> (%), taxa de desnitrificação (kg NO<sub>x</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>), produção de sulfato (mg SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> L<sup>-1</sup>) e incremento de alcalinidade (mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>).

## 2.5 Ensaios hidrodinâmicos

Eosina Y (2 mg mL<sup>-1</sup>) foi utilizada como traçador nos ensaios de estímulo-resposta tipo pulso na última condição operacional avaliada. As concentrações do traçador foram determinadas por método colorimétrico em espectrofotômetro Hach DR2010 (516 nm). O volume e o tempo de injeção do traçadores foram de aproximadamente 10 mL e 50 s, respectivamente. O período dos ensaios foi três vezes o TDH teórico (14 h) com intervalos de coleta (P4) de 45 min ( $\Delta t_i=0,75$ ).

A caracterização hidrodinâmica foi obtida a partir do ajuste das curvas experimentais de Distribuição do Tempo de Residência (DTR) em função do tempo adimensional com base nos modelos teóricos uniparamétricos de dispersão de pequena (PD) e de grande intensidade (GD) e de tanques em série (N-CSTR) pela metodologia proposta por Levenspiel (2000). O volume de zonas mortas (Vd) foi determinado de acordo com Peña, Mara e Avella, (2006), a presença de um curto-circuito ( $\Psi$ ) com Sarathai, Koottatep e Morel (2010) e Thackston, Shields e Schroeder (1987) e a eficiência hidráulica ( $\lambda$ ) com Sarathai, Koottatep e Morel (2010) e Persson, Somes e Wong (1999).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Eficiência da desnitrificação

A utilização de lodo enriquecido com substrato à base de  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NaHCO}_3$  permitiu rápida partida dos reatores. Ao atingir o estado de equilíbrio aparente, o efeito do decréscimo da alcalinidade inicial foi avaliado em alimentação de carga nitrogenada constante. As eficiências de desnitrificação foram avaliadas a partir da remoção de  $\text{NO}_x$  ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ), porém as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  se mantiveram superiores a 94% do nitrogênio nitrificado total.

Os reatores apresentaram comportamento semelhante nas cinco condições experimentais avaliadas. As maiores eficiências média de desnitrificação (entre 84,8 e 94,9%) foram observadas nas três primeiras condições, com taxa de desnitrificação de  $0,102 \pm 0,002 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  e consumo aparente de alcalinidade superior a  $244,8 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , para os quatro reatores. O termo consumo aparente foi utilizado para designar a diferença entre as alcalinidades inicial e final, no entanto, essa diferença não pode ser atribuída como consumo real devido ao possível incremento de alcalinidade no sistema. As eficiência de desnitrificação e o consumo de alcalinidade tenderam a diminuir em função do decréscimo da alcalinidade inicial a partir da terceira condição experimental ( $600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) em R1, R2 e R3 (Figura 2).

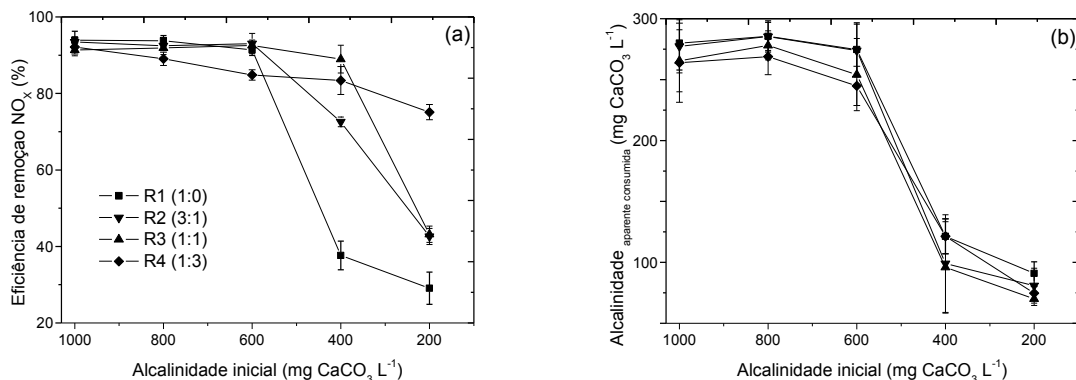


Figura 2 (a) Eficiência da desnitrificação  $\text{NO}_x$  (%) e (b) consumo aparente de alcalinidade ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) nas cinco condições experimentais avaliadas para R1, R2, R3 e R4.

Na última condição avaliada ( $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ), as taxas de desnitrificação diminuíram para  $0,034 \pm 0,003$ ,  $0,047 \pm 0,003$  e  $0,051 \pm 0,004 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  para R2, R3 e R4, respectivamente. A queda na eficiência da desnitrificação foi mais evidente em R1, devido à ausência de calcário dolomítico da composição do leite, com taxa de desnitrificação de  $0,044 \pm 0,006$  e  $0,034 \pm 0,003 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  nas condições de 400 e 200  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ,

respectivamente. Nessas condições, valores de pH de  $5,0 \pm 0,3$  foram reportados. Dessa forma, foi possível observar o início de incremento de alcalinidade a partir do material calcário.

As eficiências de desnitrificação tenderam a aumentar em condições de elevação da alcalinidade inicial associadas a maiores proporções de calcário dolomítico, devido provavelmente à manutenção do pH e ao incremento da alcalinidade. Uma análise mais precisa sobre esse comportamento será discutida no item 3.2.

Moon et al., (2006) avaliaram a desnitrificação de água subterrânea contaminada, com concentração inicial de  $30 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  e  $820 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , em reatores em bateladas sequenciais com proporções de enxofre elementar:calcário (2-5 mm) de 1:1, 2:1, 3:1, e 4:1. Eficiências de remoção superiores a 95% foram obtidas após três dias de operação. No entanto, as constantes obtidas de 5,490 (1:1), 3,903 (2:1), 4,072 (3:1), e 2,984  $\text{mg N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  (4:1) revelaram a tendência de maiores velocidades de reação nos reatores com maior proporção enxofre elementar:calcário, atribuídas à maior área superficial no enxofre elementar. Os autores reportaram que os resultados sugeriram que o nível de alcalinidade fornecido pelo calcário poderia ser um fator limitante no processo. Porém, vale ressaltar o excesso de alcalinidade proporcionado no sistema, pois para a obtenção da desnitrificação completa, de acordo com a estequiometria ( $4,57 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_3^{-1}$ ), apenas  $137,1 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  seriam necessários.

A baixa solubilidade aquosa do enxofre elementar pode limitar a transferência de massa (DARBI; VIRARAGHAVAN, 2003; SIERRA-ALVAREZ et al., 2007; CHRISTIANSON et al., 2015), cuja limitação é acentuada conforme ocorre o desgaste dos grânulos. No entanto, a transferência de massa não foi considerada como fator limitante do processo, devido à disponibilidade de áreas de contato suficiente, proporcionadas pelo excesso de enxofre elementar na composição dos leitos.

Além de doadores de elétrons, os grânulos de enxofre elementar serviram como material suporte para a biomassa. Na abertura dos reatores, ao final do experimento, a porcentagem de massa perdida de enxofre elementar foi de  $1,6 \pm 0,6\%$  para R1, R2 e R3. Todavia, para R4, o qual foi operado por mais tempo em diferentes cargas nitrogenadas aplicadas, a perda de massa foi de 4,5%.

Além de disponibilizar áreas de contato adequadas para manter a eficiência do reator, a granulometria do enxofre elementar selecionada (9,5 e 12,5 mm) associada à baixa produção de lodo na desnitrificação autotrófica, não favoreceu à colmatação do leito nem ao arraste biomassa do sistema (MOON et al., 2004, 2006, 2008; SIERRA-ALVAREZ et al, 2007).

Sob aspectos construtivos e operacionais, a durabilidade do leito, necessidade de controle menos rígido de dosagem de doadores de elétrons e a baixa produção de biomassa

facilitam a manutenção do reator. No entanto, a redução da granulometria do enxofre elementar, em função do tempo de operação, pode favorecer a obstrução dos leitos e a transferência de massa, devido à redução da área superficial disponível.

### 3.2 Incremento da alcalinidade

A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que a eficiência de desnitrificação foi influenciada principalmente pela disponibilidade de alcalinidade no sistema, porém, de acordo com a estequiometria teórica de  $4,57 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_3^{-1}$ , cerca de  $300 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  seriam necessários para remover  $66,0 \text{ mg NO}_x \text{ L}^{-1}$ .

As taxas de desnitrificação e, conseqüentemente, as eficiências de remoção relacionaram diretamente com os valores de pH. Em valores de pH inferiores 6,5, foram verificadas eficiências de desnitrificação abaixo de 75%, com acúmulo máximo de nitrito de  $18 \text{ mg NO}_2^{-} \text{ L}^{-1}$ . De acordo com Oh et al. (2000), a faixa ótima de pH para a ocorrência da desnitrificação autotrófica varia entre 7 e 8, com detecção de produtos intermediários em valores de pH inferiores. Ressalta-se que os menores valores de pH foram reportados nas menores condições de alcalinidade inicial ( $400$  e  $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) para os quatro reatores avaliados (Figura 3a). Isso pode ser um indicativo de que o incremento de alcalinidade proporcionada pela presença do calcário dolomítico pode não ter sido suficiente para tamponar o meio.

Apesar das menores eficiências de desnitrificação terem sido reportadas em valores menores de pH, o incremento de alcalinidade observado foi maior nessas condições. O incremento da alcalinidade foi verificado a partir da relação entre a alcalinidade aparente consumida e o nitrogênio reduzido. No R1, em que não havia calcário dolomítico na composição do leito, para as cinco condições avaliadas, a relação  $\text{alcalinidade}_{\text{aparente consumida}}:\text{NO}_x \text{ reduzido}$  ( $4,8 \pm 0,1 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_x^{-1}$ ) foi superior à relação estequiométrica de  $4,57 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_3^{-1}$ . Esse fato pode ser atribuído à utilização dos íons  $\text{HCO}_3^{-}$  ( $\text{NaHCO}_3$ ) como fonte de carbono inorgânico no metabolismo dos microrganismos autotróficos (GHAFARI; HASAN; AROUA, 2010).

Nos demais reatores, a diferença entre a relação teórica e a relação obtida experimentalmente evidenciou correlação inversa com os valores de pH (Figura 3), ou seja, os menores valores de pH proporcionaram os maiores incrementos de alcalinidade, indicadores pelas menores relações  $\text{alcalinidade}_{\text{aparente consumida}}:\text{NO}_x \text{ reduzido}$ .

Os maiores incrementos foram verificados em R3 e R4, nas condições de alcalinidade inicial de  $400 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  ( $3,4 \pm 0,7$  e  $3,2 \pm 0,3 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_x^{-1}$ ) e  $200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  ( $3,5 \pm 0,4$  e  $2,9 \pm 0,1 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_x^{-1}$ ).

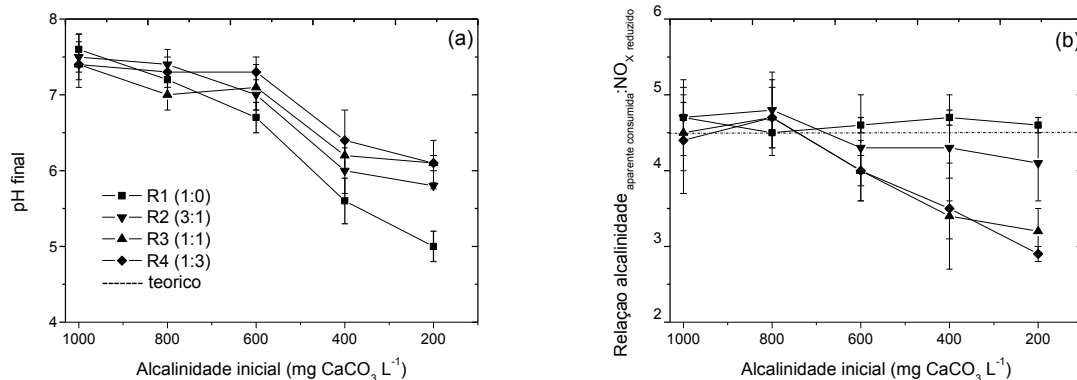


Figura 3 (a) pH final e (b) relação alcalinidade<sub>aparente consumida</sub>:NO<sub>x</sub> reduzido nas cinco condições experimentais avaliadas para R1, R2, R3 e R4.

A elevação das proporções de calcário dolomítico na composição dos leitos permitiu maiores incrementos de alcalinidade devido às maiores áreas superficiais disponíveis. No entanto, é possível observar a similaridade de incremento entre R3 e R4 (Figura 3b e 4a), a qual sugere diferenças não relevantes em proporções de calcário dolomítico superiores a 50%. O fornecimento de alcalinidade não é afetado apenas pela quantidade de calcário presente no sistema, mas pela sua dissolução e pelas interações biológicas e químicas de desnitrificação autotrófica (KOENIG; LIU, 2002; SAHINKAYA; DURSUN, 2012). De acordo com Sahinkaya, Kilic e Duygulu (2014), a dissolução do material calcário poderia ser limitada em função de baixos TDH. No entanto, para esse experimento, o aumento do TDH de 14 horas poderia impulsionar a formação do sulfeto de hidrogênio.

Logo, a maior dissolução do calcário dolomítico no sistema foi atribuída à redução do pH, proporcionada pelo consumo de alcalinidade, cujos valores máximos foram próximos a 180 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (Figura 4b). Como observado nesse experimento, o pH tem sido indicado como um dos principais parâmetros na dissolução de materiais à base de cálcio (KOENIG; LIU, 2002; LIU; KOENIG, 2002). No entanto, o incremento de alcalinidade a partir do decréscimo do pH não foi suficiente para tamponar o sistema e para a manutenção da atividade dos microrganismos, os quais foram parcialmente inibidos.

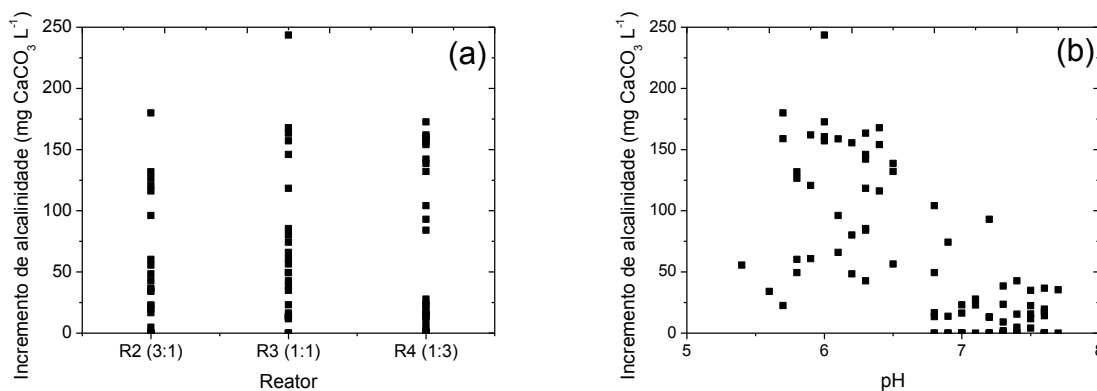


Figura 4 Incrementos de alcalinidade em função (a) da composição do leito dos reatores e (b) pH.

Moon, Nam e Kim (2006) avaliaram um reator de leito fixo de enxofre elementar (2-5 mm) alimentado com água residuária sintética ( $60 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ) em alcalinidade inicial de 300, 600, 1200 e  $1800 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . As constantes cinéticas de 0,269, 0,976, 2,631 e  $3,110 \text{ mg NO}_3^- \frac{1}{2} \text{ L}^{\frac{1}{2}} \text{ d}^{-1}$  evidenciaram maior velocidade de desnitrificação de acordo com o aumento da alcalinidade inicial. Remoções completas foram verificadas em relações de alcalinidade<sub>inicial</sub>:alcalinidade<sub>teórica requerida</sub> superiores a 2. No entanto, indícios de saturação de alcalinidade foram reportados em relações superiores a 4.

Koenig e Liu (2002) operaram reatores de leito fixo de enxofre elementar:calcário nas proporções de 1:0, 4:1, 2:1 e 1:1 alimentados com substrato sintético ( $62\text{-}250 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ) e diferentes alcalinidades iniciais (622, 476, 231, 168 e  $74 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ). A compilação dos resultados pelos autores sugeriu que, em águas residuárias com concentração máxima de  $100 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ , as relações alcalinidade<sub>inicial</sub>:alcalinidade<sub>teórica requerida</sub> para as proporções de enxofre elementar:calcário de 1:0, 4:1, 3:1, 2:1, e 1:1 seriam de aproximadamente >1,7, 1,7-1,2, 1,2-1,0, 1,0-0,5, e <0,5, respectivamente, para manter eficiências de desnitrificação satisfatória. Além disso, incrementos máximos de alcalinidade em aproximadamente  $400 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  foram reportados.

Devido à baixa taxa de dissolução em valores de pH entre 6 e 8, apresentados nesse experimento, o calcário dolomítico não foi considerado agente alcalinizante satisfatório em tratamento de efluentes com baixa alcalinidade, como é o caso da maioria dos efluentes nitrificados.

Vale ressaltar que elevadas eficiências de desnitrificação obtidas a partir da utilização do calcário têm sido reportadas por diversos autores em reatores de leito fixo alimentados com água subterrânea ou efluentes sintéticos, porém a maioria desses relatos não especifica o tipo de calcário utilizado. Moon, Nam e Kim (2006) compararam o uso de diferentes agentes alcalinizantes no processo de desnitrificação autotrófica e obtiveram taxas de dissolução iniciais de alcalinidade de 88, 38 e  $14 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  a partir de concha de ostra ( $\text{CaO}=52,2\%$  e  $\text{MgO}=0,7\%$ ), calcário calcítico (51,0 e 3,2%) e dolomítico, respectivamente (28,6 e 20,8%). O pH influenciou diretamente nas taxas de dissolução e a utilização da concha de ostra e do calcário calcítico proporcionou maiores eficiências de desnitrificação.

A presença do magnésio na composição do calcário dolomítico tem sido indicada como redutora da capacidade de reatividade da rocha (HOSTEN; GÜLSÜN, 2004; MOON; SIAGI; MBARAWA, 2009). Na abertura dos reatores ao final do experimento, R2 e R3 apresentaram perda de massa de  $0,7\pm 0,1\%$  e concentrações de CaO e MgO de  $30,5\pm 0,4$  e  $21,0\pm 0,2\%$ , respectivamente. O R4, operado por maior período em sob diferentes cargas nitrogenadas aplicadas, apresentou perdas de massa de 5,5%, 27,3% de CaO e 19,2% de MgO.



Como material suporte para biomassa, a aderência da biomassa no calcário dolomítico foi melhor em relação à aderência no enxofre elementar devido, provavelmente, à superfície áspera dos grânulos.

### 3.3 Produção de sulfato

A produção de  $\text{SO}_4^{2-}$  indicou o estabelecimento da desnitrificação da desnitrificação autotrófica. Assim como na eficiência de remoção de nitrogênio, as quantidades de  $\text{SO}_4^{2-}$  produzidas tenderam a aumentar à medida que a proporção de calcário dolomítico nos leitos e a alcalinidade inicial aumentaram (Figura 5a).

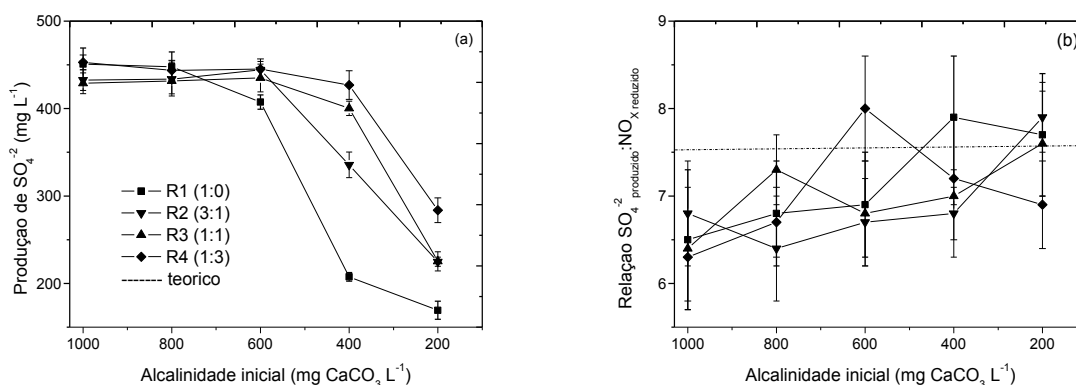


Figura 5 (a) produção de  $\text{SO}_4^{2-}$  e (b) relação  $\text{SO}_4^{2-}$  produzido: $\text{NO}_x$  reduzido para R1, R2, R3 e R4

A produção de  $\text{SO}_4^{2-}$  tendeu à estabilização (entre 407,5 e 445,1 mg  $\text{SO}_4^{2-} \text{L}^{-1}$ ) a partir da alcalinidade inicial de 600 mg  $\text{CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ , em que as eficiências de desnitrificação mantiveram-se constantes. Não houve evidência de redução de desempenho do processo devido à concentração de  $\text{SO}_4^{2-}$ . De acordo com Campos et al. (2008), tanto a inibição parcial como a total podem ser verificadas em concentrações superiores a 500 e 6400 mg  $\text{SO}_4^{2-} \text{L}^{-1}$ , respectivamente.

As relações  $\text{SO}_4^{2-}$  produzido: $\text{NO}_x$  reduzido médias variaram entre 6,3 e 8,0 mg  $\text{SO}_4^{2-}:\text{mg NO}_x$  (Figura 5b) e apresentaram tendência de redução em condições de elevação de pH evidenciando o consumo de  $\text{SO}_4^{2-}$ . Concentrações elevadas de  $\text{SO}_4^{2-}$  (SAHINKAYA, 2009) associadas a valores de pH superiores a 6,5 podem ter favorecido o estabelecimento de bactérias redutoras de sulfato (RBS), provenientes da inoculação por lodo misto, cujos resultados foram coeficientes inferiores à relação estequiométrica de 7,5 mg  $\text{SO}_4^{2-}:\text{mg N}$ .

Apesar de a fração de DQO remanescente ( $97,8 \pm 8,2 \text{ mg O}_2 \text{L}^{-1}$ ) proveniente do substrato nitrificado não ser prontamente biodegradável (remoções inferiores a 10%), as RBS podem utilizar o carbono orgânico fornecido pela respiração endógena (ZHAN; SHAN, 1999) ou decomposição da biomassa autotrófica (SAHINKAYA, 2009), para a obtenção de

sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ) como produto final. Além disso, concentrações de sulfeto de hidrogênio podem ser detectadas em situações de desproporção de enxofre em casos de depleção dos receptores de elétrons de acordo com a equação 2 (SIERRA-ALVAREZ et al., 2007). Conseqüentemente, baixas cargas nitrogenadas aplicadas podem favorecer a desproporção de enxofre (MOON et al., 2008; LUNA-VELASCO et. al., 2010; CAPUA et al., 2015) em leitos fixos constituídos de enxofre elementar.



As concentrações do sulfeto de hidrogênio dissolvido no meio foram inferiores a  $3 \text{ mg L}^{-1}$  em todas as condições testadas. No entanto, sulfeto de hidrogênio produzido no interior dos reatores poderia estar presente em diferentes formas ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$  e  $\text{S}^{2-}$ ) com predomínio de  $\text{H}_2\text{S}$  em valores de pH inferiores a 7,0. Por isso, os valores reportados podem não explicar a concentração total de sulfeto produzido.

### 3.4 Distribuição espacial

As concentrações  $\text{NO}_x$  e sulfato ao longo da altura do reator são apresentadas na Figura 6. As curvas referentes às alcalinidades iniciais de 800 e 1000  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  não foram demonstradas devido a sua similaridade quanto à condição de alcalinidade de 600  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ .

Os perfis espaciais demonstraram que as remoções de N e as produções de  $\text{SO}_4^{-2}$  foram mais evidentes nos primeiros 270 mm percorridos, nos quatro reatores, e tenderam a aumentar de acordo com as condições de alcalinidade inicial ( $600 > 400 > 200 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) (Figura 6), devido, possivelmente, à solubilidade e à disponibilidade do  $\text{NaHCO}_3$  (SUN, NEMATI, 2012).

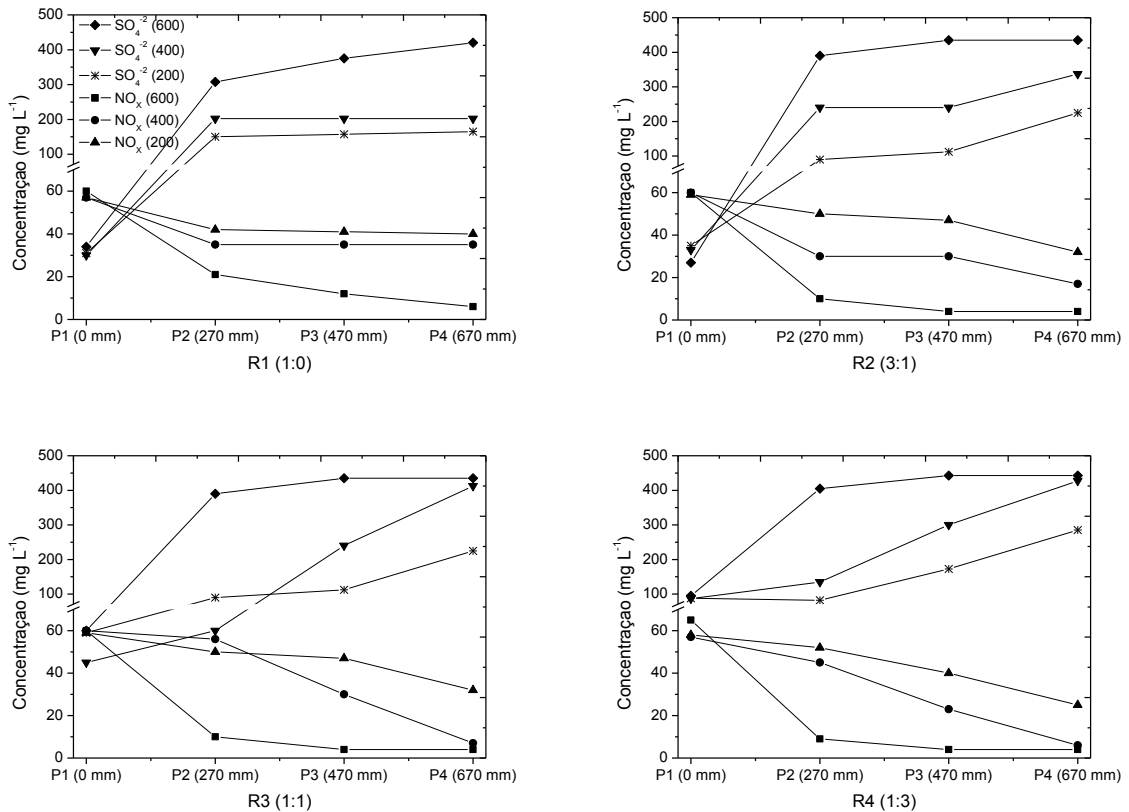


Figura 6 Perfil espacial das concentrações de  $\text{SO}_4^{2-}$  e N ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) nas condições de alcalinidade inicial de 200, 400 e 600  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  para (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4.

No R1, as concentrações tenderam a estabilizar a partir do segundo ponto de coleta (P2). Nos demais reatores, a partir desse ponto, as remoções de N e a produções de  $\text{SO}_4^{2-}$  tenderam a aumentar de acordo com a proporção de calcário dolomítico na composição dos leitos, em virtude, provavelmente, do incremento de alcalinidade. As concentrações de sulfeto de hidrogênio foram detectadas a partir do P3 (470 mm).

### 3.5 Comportamento hidrodinâmico

A realização dos ensaios hidrodinâmicos permitiu tanto o estabelecimento do padrão de escoamento como a presença de anomalias na configuração utilizada. O lento decaimento da concentração do traçador no efluente em função do tempo caracterizou o fenômeno de cauda nos quatro reatores (Figura 7) e indicou a presença de zonas mortas ou a liberação gradativa da eosina Y adsorvida pela biomassa. O pico duplo observado pode ter sido proveniente de escoamento em caminho paralelo (Figura 7c).

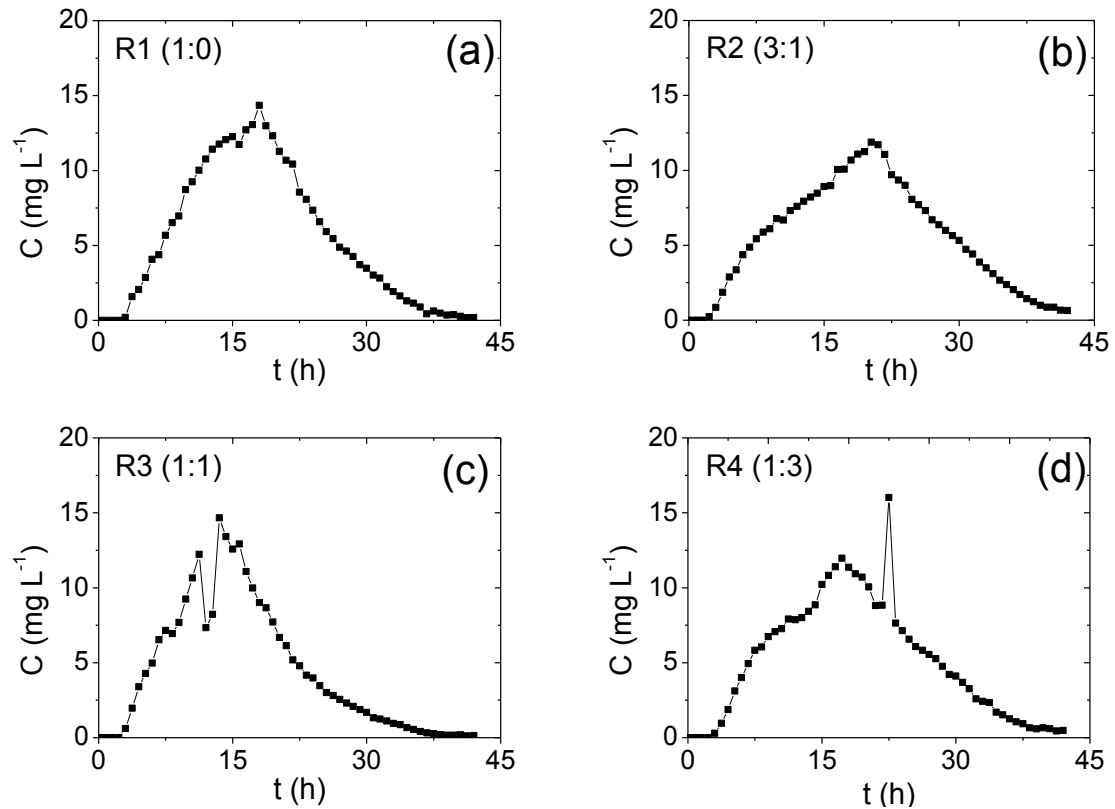


Figura 7 Curvas de variação da concentração de eosina Y nas amostras do efluente em função do tempo para (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4.

As curvas do tempo de residência (DTR) normalizadas a partir dos dados experimentais indicaram comportamento dos reatores entre tanques em série e dispersão de pequena intensidade (Figura 8). Os coeficientes de correlação obtidos para PD e N-CSTR foram de 98, 97, 95, 94% e 98, 93, 97, 94% para R1, R2, R3 e R4, respectivamente.

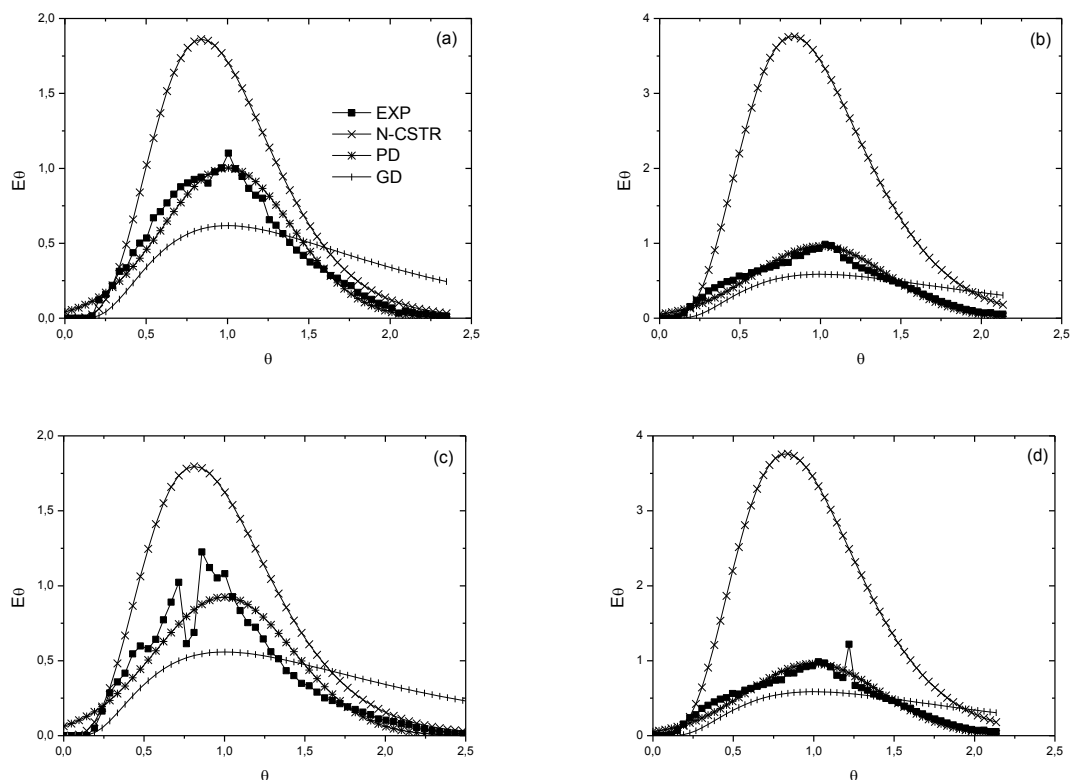


Figura 8 Curvas de DTR em função do tempo adimensional para (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4.

Valores de  $D/uL$  entre 0,071 e 0,089 foram verificados para PD (Tabela 2). Apesar de não atender às suposições para o ajuste do modelo ( $D/uL < 0,1$ ), os valores entre 0,02 e 0,2 podem ser definidos como grau de dispersão intermediário (SARATHAI; KOOTTATEP; MOREL, 2010) e a utilização dos modelos de dispersão axial geralmente se torna questionável em casos de alto desvio do fluxo pistonado ( $D/uL > 1$ ) (LEVENSPIEL, 2000). Além disso, o direcionamento a dispersão pode ser verificada nos valores de  $N$  (6 e 7), onde  $N=1$  define o comportamento do reator como mistura perfeita, e qualquer valor superior a 1 indica desvio de idealidade, com propensão ao escoamento tubular ideal quando  $N$  tender ao infinito. A partir da compilação entre esses resultados, o comportamento dos reatores foi caracterizado como tendência ao fluxo pistonado.

Tabela 2 Características hidrodinâmicas de R1, R2, R3 e R4 operados com TDH teórico de 14 horas

Reator	THD real (h)	N-CSTR (N)	PD ( $D/uL$ )	GD ( $D/uL$ )	$\beta$	$\Psi$	$\Lambda$
R1	16,7	7	0,075	0,066	1,26	1,019	0,85
R2	15,4	6	0,079	0,067	1,39	1,235	0,83
R3	15,6	6	0,089	0,072	1,11	1,153	0,84
R4	17,1	7	0,071	0,066	1,36	1,490	0,85

Legenda: PD=pequena dispersão; GD=grande dispersão;  $\beta$ =TDH real/TDH teórico;  $\lambda$ =eficiência hidráulica;  $\Psi$ =presença de curtos circuitos.

Os modelos de dispersão axial podem ser adequadamente empregados em reatores contendo recheio. No entanto, vale ressaltar que, nesse experimento, o comportamento do escoamento pode ser alterado devido à dissolução dos constituintes dos leitos em função do tempo. Perdas de massa inferiores a 2,2 e 0,8%, entre o início do experimento e a realização dos ensaios hidrodinâmicos após 150 dias de operação, foram observadas para o enxofre elementar e o calcário dolomítico, respectivamente. A recuperação de massa de eosina Y injetada variou entre 80 e 99%. Os percentuais de recuperação tenderam a aumentar em função das maiores proporções de calcário dolomítico na composição do leito e indicaram que o traçador pode ter sido adsorvido no enxofre elementar devido a sua porosidade.

Assim como o efeito de cauda, o valor do TDH real superior ao TDH teórico indicou a presença de anomalias com o atraso nas respostas do traçador de aproximadamente 19, 10, 11 e 22%, para R1, R2, R3 e R4, respectivamente. Tal fato foi, possivelmente, atribuído às zonas mortas, aos caminhos preferenciais ou à adsorção da eosina Y pela biomassa. No entanto, valores positivos de  $\beta$  (Tabela 2) indicaram a ausência de zonas estagnadas associadas a curtos circuitos (TDH real < TDH teórico) (PEÑA; MARA; AVELLA, 2006). Além disso, valores de  $\Psi$  superiores a 0,3 sugeriram a inexistência de curtos circuitos pronunciados (THACKSTON; SHIELDS; SCHROEDER, 1987, SARATHAI; KOOTTATEP; MOREL, 2010). Nesse contexto, o atraso nas respostas do traçador pode ser atribuído a caminhos preferenciais, zonas estagnadas não associadas a curtos circuitos ou à difusão do traçador em zonas estagnadas com lenta liberação.

Apesar da presença de anomalias, as eficiências hidráulicas superiores a 83%, para os quatro reatores, foram consideradas boas ( $\lambda \geq 0,75$ ) (PERSSON; SOMES; WONG, 1999) e podem ter contribuído para as elevadas taxas de desnitrificação obtidas em condições ótimas, associadas às baixas perdas de massa dos leitos.

#### **4 CONCLUSÕES**

A utilização do enxofre elementar como doador de elétrons foi considerada efetiva na desnitrificação autotrófica e resultou em elevadas eficiências de remoção de nitrogênio. Em virtude da baixa solubilidade, as quantidades de enxofre elementar na composição dos leitos favoreceram a transferência de massa no processo.

A dissolução do calcário dolomítico foi maior em condições de pH inferiores a 6. Devido a sua lenta dissolução, a utilização apenas do calcário dolomítico como fonte de alcalinidade não é suficiente para tamponar o meio e manter eficiências de desnitrificação satisfatórias.

O experimento indicou que nas proporções de enxofre elementar:calcário dolomítico de 1:0 e 3:1, pelos menos por duas vezes, a alcalinidade teórica requerida foi necessária para manter o desempenho do sistema. E nas proporções de 1:1 e 3:1, essa relação foi de 1,5.

Apesar de o processo de desnitrificação autotrófica por enxofre elementar ter se mostrado eficiente no tratamento de efluente avícola nitrificado, suas eficiências foram vinculadas à alcalinidade inicial do substrato e à dissolução do calcário dolomítico. Por isso, a aplicação do mesmo em efluentes caracterizados por baixa alcalinidade não é aconselhável.

A configuração do reator apresentou elevadas eficiências hidráulicas e não foi considerada limitante nas eficiências de desnitrificação. Porém, o desgaste dos grânulos pode alterar o padrão de escoamento, intensificar a presença de anomalias e reduzir as eficiências. Por isso, a manutenção do leito deve ser realizada para evitar comportamentos indesejáveis.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21<sup>st</sup> ed., Washington, DC: APHA, 2005.

AMIM, R. S.; SANTANA, F. B.; SCHMIDELL, W.; SOARES, H. M. Eliminação autotrófica de nitrogênio pela oxidação de tiosulfato através de uma cultura mista de microrganismos. **Revista Latinoamericana de Biotecnologia Ambiental y Algal**, v. 1, p. 31-46, 2010.

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

BATCHELOR, B.; LAWRENCE, A. W. Autotrophic denitrification using elemental sulfur. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 50, p. 1986-200, 1978.

BERISTAIN-CARDOSO R.; SIERRA-ALVAREZ, R.; ROWLETTE, P.; RAZO-FLORES, E.; GÓMEZ, J. E.; FIELD, J. A. Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 95, p.1148–1157, 2006.

- CAMPOS, J. L.; CARVALHO, S.; PORTELA, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R. Kinetics of denitrification using sulfur compounds: Effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1293-1299, 2008.
- CAPUA, F.; PAPIRIO, S.; LENS, N. L.; ESPOSITO, G. Chemolithotrophic denitrification in biofilm reactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 280, n. 15, p. 643-657, 2015
- CASTRILLÓN, L.; FERNÁNDEZ-NAVA, Y.; MARAÑÓN, E.; GARCÍA, L.; BERRUETA, J. Anoxic-aerobic treatment of the liquid fraction of cattle manure. **Waste Management**, v. 29, n. 2, p. 761-766, 2009.
- CHRISTIANSON, L.; LEPINE, C.; TSUKUDA, S.; SAITO, K.; SUMMERFELT, S. Nitrate removal effectiveness of fluidized sulfur-based autotrophic denitrification biofilters for recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 68, p.10-18, 2015.
- CLAUS, G.; KUTZNER, H. J. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 283-288, 1985.
- DARBI, A.; VIRARAGHAVAN, T. A kinetic model for autotrophic denitrification using sulfur-limestone reactor. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 38, n. 1, p. 183-192, 2003.
- GHAFAARI, S.; HASAN, M.; AROUA, M. K. Improvement of autohydrogenotrophic nitrite reduction rate through optimization of pH and bicarbonate dose in a batch experiments. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n. 3, p. 275-280, 2009.
- GUO, J.; YANG, Q.; PENG, Y.; WANG, S. Biological nitrogen removal with real-time control using step-feed SBR technology. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 1564-1569, 2007.
- HOSTEN, Ç.; GÜLSUN, M. Reactivity of limestone from different sources in Turkey. **Minerals Engineering**, v. 17, n. 1, p. 97-99, 2004.
- JAROSZYNSKI, L. W.; CICEK, N.; SPARLING, R.; OLESZKIEWICZ, J. A. Impact of free ammonia concentration on anammox rates in a moving bed biofilm reactor. **Chemosphere**, v. 88, p. 188-195, 2012.
- KIM, H. R.; LEE, I. S.; BAE, J. H. Performance of a sulfur-utilizing fluidized bed reactor for post-denitrification. **Process Biotechnology**, v. 39, p. 1591-1597, 2004.
- KIMURA, K. NAKAMURA, N. WATANABE, Y. Nitrate removal by a combination of elemental sulfur-based denitrification and membrane filtration. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1758-1766, 2002.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Kinetic model of autotrophic denitrification in sulfur packed-bed reactors. **Water Research**, v. 35, n. 8, p. 1969-1978, 2001a.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Microbial aspects of autotrophic denitrification of wastewaters. In: MATSUO, T., HANAKI, K., TAKIZAWA, S., SATOH, H. (Org). **Advances in Water and Wastewater Treatment Technology. Molecular Technology, Nutrient Removal, Sludge Reduction and Environmental Health**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001b.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. **Journal of Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 161-171, 2002.



KUMMER, A. C. B.; ANDRADE, L.; GOMES, S. D.; FAZOLO, A.; HASAN, S. D. M.; MACHADO, F. Tratamento de efluente de abatedouro de tilápia com adição de manipueira na fase anóxica. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 1, p. 150-157, 2011.

LEVENSPIEL, Octave. **Engenharia das Reações Químicas**. 3 ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda. 2000.

LIU, H.; JIANG, W.; WAN, D.; QU, J. Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, p. 23-28, 2009.

LIU, L. H.; KOENIG, A. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: batch experiments. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 8, p. 885-893, 2002.

LUNA-VELASCO, A.; SIERRA-ALVAREZ, B.; CASTRO, J. A.; FIELD, J.A. Removal of nitrate and hexavalent uranium from groundwater by sequential treatment in bioreactors packed with elemental sulfur and zero-valent iron.

MANCONI, I.; CARUCCI, I. A.; LENS, P. Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 3, p. 551-560, 2007.

METCALF, L.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4. ed. Nova York: Mcgraw-hill, 2003.

MOON, H. S.; AHN, K. H.; LEE, S.; NAM, K.; KIM, J.Y. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 499-507, 2004.

MOON, H. S.; CHANG, S. W.; NAM, K.; CHOE, J.; KIM, J. Y. Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 802-807, 2006.

MOON, H. S.; NAM, K.; KIM, J. Y. Initial alkalinity requirement and effect of alkalinity sources in sulfur-based autotrophic denitrification barrier system. **Journal of Environmental Engineering**, v. 132, p. 971-975, 2006.

MOON, H. S.; SHIN D. Y.; NAM, K.; KIM J. Y. A long-term performance test on an autotrophic denitrification column for application as a permeable reactive barrier. **Chemosphere**, v. 73, p. 723-728, 2008.

OH, S. E.; YOO, Y. B.; YOUNG, J. C.; KIM, I. S. Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions. **Journal of Biotechnology**, v.92, n. 1, p. 1-8, 2001.

OH, S. E.; KIM, K. S.; CHOI, H. C.; CHO, J.; KIM, I. S. Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying bacteria. **Water Science and Technology**, v. 12, n. 3-4, p.59-68, 2000.

PAREDES, D.; KUSCHK, P.; MBWETTE, T. S. A.; STANGE, F.; MÜLLER, R. A. KÖSER, H. New aspects of microbial nitrogen transformations in the contest of wastewater treatment – a review. **Engineering in Life Science**, v. 7, n. 1, p. 13-25, 2007.

PARK, J. Y.; YOO, Y. J. Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment which electron donor we can choose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, p. 415-429, 2009.

PEÑA, M. R.; MARA, D. D.; AVELLA, G. P. Dispersion and treatment performance analysis of an UASB reactor under different hydraulic loading rates. **Water Research**, v. 50, n. 3, p. 445-452, 2006.

PERSSON, J.; SOMES, N. L. G.; WONG, T. H. F. Hydraulics efficiency of constructed wetlands and ponds. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 291–300, 1999.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

ROCCA, C. D.; BELGIORNO, V.; MERIC, S. Heterotrophic/autotrophic denitrification (HAD) of drinking water: prospective use for permeable reactive barrier. **Desalination**, v. 210, p. 194-204, 2007.

SARATHAI, Y.; KOOTTATEP, T.; MOREL, A. Hydraulic characteristics of an anaerobic baffled reactor as onsite wastewater treatment system. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, p. 1319-1326, 2010.

SAHINKAYA, E.; DURSUN, N.; KILIC, A.; DEMIREL, S.; UYANIK, S.; CINAR, O. Simultaneous heterotrophic and sulfur-oxidizing autotrophic denitrification process for drinking water treatment: Control of sulfate production. **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6661-6667, 2011.

SAHINKAYA, E.; DURSUN, N. Sulfur-oxidizing autotrophic and mixotrophic denitrification processes for drinking water treatment: Elimination of excess sulfate production and alkalinity requirement. **Chemosphere**, v. 89, n. 2, p. 144-149, 2012.

SAHINKAYA, E.; KILIC, A.; DUYGULU, B. Pilot and full scale applications of sulfur-based autotrophic denitrification process for nitrate removal from activated sludge process effluent. **Water Research**, v. 60, n. 1, p. 210-217, 2014.

SIAGI, Z.O.; MBARAWA, M. Dissolution rate of South African calcium-based materials at constant pH. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 2-3, p. 678-682, 2009.

SIERRA-ALVAREZ, R.; BERISTAIN-CARDOSO, R.; SALAZAR, M.; GÓMEZ, J., RAZO-FLORES, E.; FIELD, J. A. Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment. **Water Research**, v. 41, p. 1253-1262, 2007.

SUN, Y.; NEMATI, M. Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitrification for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 207-216, 2012.

TANDUKAR, M.; PAVLOSTATHIS, S. G.; CERVANTES F. J. Autotrophic denitrification for the removal of nitrogen and sulfur compounds contaminants from wastewaters. In: CERVANTES, F. J. (Org). **Environmental Technologies to Treatment Nitrogen Pollution**, London: IWA Publishing, 2009.

THACKSTON, E. L.; SHIELDS Jr. F. D.; SCHROEDER, P. R. Residence time distributions of shallow basins. **Journal of Environmental Engineering**, v. 116, n. 6, p. 1319–1332, 1987.

WAN, D.; LIU, H.; QU, J.; LEI, P.; XIAO, S.; HOU, Y. Using the combined bioelectrochemical and sulfur autotrophic denitrification system for groundwater denitrification. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 142-148, 2009.

ZHANG, T.; SHAN, J. In situ septic tank effluent denitrification using a sulfur/limestone process. **Water Environmental Research**, v. 71, p. 1283-1291, 1999.

ZHOU, W.; SUN, Y.; WU, B.; ZHANG, Y.; HUANG, M.; MIYANAGA, T.; ZHANG, Z. Autotrophic denitrification for nitrate and nitrite removal using sulfur-limestone. **Journal of Environmental Science**, v. 23, n. 11, p. 1761–1769, 2011.

## ARTIGO 2: NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA DE EFLUENTE AVÍCOLA EM REATOR ANÓXICO-AERÓBIO DE LEITO FIXO DE ENXOFRE ELEMENTAR E CALCÁRIO DOLOMÍTICO

### RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi promover a desnitrificação autotrófica de efluente avícola nitrificado, em reator anóxico de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico e, posteriormente, acoplar a nitrificação a esse sistema em um reator compartimentado anóxico-aeróbio. O reator anóxico foi operado sobre concentração nitrogenada constante de  $71,1 \pm 4,2$  mg  $\text{NO}_x \text{L}^{-1}$  em TDH de 14, 10 e 6 horas. Nesse reator, as eficiências e taxas de desnitrificação obtidas foram de  $94,4 \pm 2,0$ ,  $94,9 \pm 2,3$  e  $71,1 \pm 7,8\%$  e  $0,115 \pm 0,007$ ,  $0,164 \pm 0,007$  e  $0,217 \pm 0,025$  kg  $\text{NO}_x \text{m}^3^{-1} \text{d}^{-1}$  para os TDH de 14, 10 e 6 horas, respectivamente. O decréscimo nas eficiências de desnitrificação foi atribuído à operação em condição de sobrecarga que resultou no acúmulo de nitrito de  $12,3 \pm 3,6$  mg  $\text{NO}_2^- \text{L}^{-1}$  no TDH de 6 horas. O reator anóxico-aeróbio foi operado em TDH de 16 horas e alimentado em proporções de efluentes amonificado:nitrificado de 3:1 (E1), 1:1 (E2) e 1:3 (E3). Nesse reator, as eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total foram de  $67,3 \pm 6,4$ ,  $63,4 \pm 6,7$  e  $14,2 \pm 4,4\%$  e  $64,2 \pm 6,3$ ,  $53,1 \pm 7,1$  e  $33,8 \pm 1,7\%$ , para as condições E1, E2 e E3, respectivamente. A limitação na remoção dos compostos nitrogenados foi vinculada à inibição parcial/total da nitrificação a partir do sulfeto de hidrogênio, proveniente do compartimento anóxico do reator, nas concentrações de 0,01, 0,14 e 6,4 mg  $\text{L}^{-1}$  em E1, E2 e E3, respectivamente.

**Palavras-chave:** biofilme; sulfato; nitrificação, alcalinidade, sulfeto de hidrogênio.

### 1 INTRODUÇÃO

O processo convencional de remoção biológica de nitrogênio em efluentes abrange as etapas de nitrificação autotrófica seguida de desnitrificação heterotrófica. Na nitrificação, o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) é oxidado a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e consecutivamente a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) por bactérias, principalmente, dos gêneros *Nitrossomonas* e *Nitrobacter* em ambiente aeróbio (GRADY; DAIGGER; LIM, 1999; ECKENFERDER JR, 2000; METCALF; EDDY, 2003). Nesse processo, aproximadamente 7,14 mg de alcalinidade são necessários para cada 1 mg de nitrogênio amoniacal oxidado (LI, IRVIN, 2007).

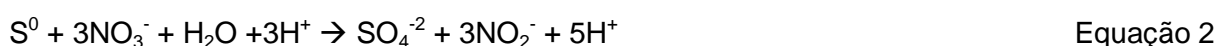
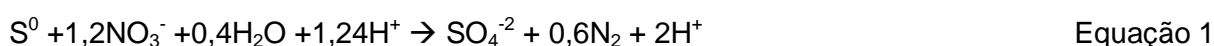
No processo de desnitrificação, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a nitrogênio molecular ( $\text{N}_2$ ) por uma gama de bactérias heterotróficas, especialmente do gênero *Pseudomonas*, em condições anóxicas (CAMPOS et al., 2002; SOUZA; ARAÚJO; COELHO, 2008). Nessa etapa, aproximadamente 50% da alcalinidade consumida no processo de nitrificação é recuperada (HOFFMANN et al., 2007). Apesar de haver recuperação de alcalinidade para a efetivação desse processo é necessária a presença de matéria orgânica como fonte doadora de elétrons (C/N=5). Como o efluente nitrificado normalmente apresenta baixas

relações C/N, torna-se necessário o fornecimento de fonte exógena de carbono. No entanto, essa fonte suplementar, tais como etanol, metanol e acetato podem encarecer o processo e inviabilizá-lo (LEE et al., 1997; CHENG; LIU, 2001; CASTRILLÓN et al., 2009).

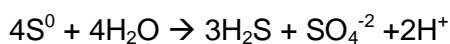
Nesse contexto, fontes doadoras de elétrons economicamente mais acessíveis, tais como compostos reduzidos de enxofre, têm sido apresentadas como alternativa para a redução de custos. Nesse processo, denominado desnitrificação autotrófica, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido na presença de compostos inorgânicos como sulfeto ( $\text{S}^{-2}$ ), enxofre elementar ( $\text{S}^0$ ) e tiosulfato ( $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$ ) em condições anóxicas, principalmente por bactérias das espécies *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans* (BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006, MANCONI; CARUCCI; LENS, 2007).

Entre os compostos citados, a utilização do enxofre elementar na composição de leito fixo de reatores contínuos tem resultado em elevadas eficiências de desnitrificação em substratos sintéticos (KOENIG; LIU, 2001; KOENIG, LIU 2002, SAHINKAYA et al. 2011; SAHINKAYA; DURSUN, 2012). Além disso, o elemento apresenta menor rigidez na dosagem de doadores de elétrons (ROCCA; BELGIORNO; MERIC, 2007).

Na desnitrificação autotrófica por oxidação do enxofre elementar via nitrato ou nitrito há produção de sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) e consumo de alcalinidade (Equações 1, 2 e 3) (NEMATI, COLINA, 2006). O consumo e a produção de alcalinidade são estimados em 4,57 g  $\text{CaCO}_3$  e 7,5 g de  $\text{SO}_4^{-2}$ , respectivamente, por grama de  $\text{NO}_3^-$  reduzido (SAHINKAYA et al., 2011; SAHINKAYA; KILIC, 2014). No intuito de disponibilizar alcalinidade e a manutenção do pH no processo, materiais calcários têm sido acrescentados aos leitos contendo enxofre elementar.



Nos reatores de leito fixo contendo enxofre elementar, comportamentos de queda de pH e produção de  $\text{SO}_4^{-2}$  podem ser potencializados e a geração de sulfeto de hidrogênio pode ser observada em casos de desproporção de enxofre. De acordo com Sierra-Alvarez et al. (2007), o efeito de desproporção do enxofre é a depleção dos receptores de elétrons (Equação 4). Por isso, a aplicação de baixas cargas nitrogenadas nesses reatores pode favorecer esse efeito (MOON et al., 2008; LUNA-VELASCO et. al., 2010; CAPUA et al., 2015).



Equação 4

Apesar da aplicação do processo de desnitrificação autotrófica em reatores de leito fixo de enxofre elementar e calcário, no tratamento de substratos sintéticos e água subterrânea contaminada com  $NO_3^-$ , ser relativamente explorada, poucos trabalhos foram reportados sobre sua utilização em efluentes nitrificados reais.

Sahinkayala, Kilic e Duygulu (2014) reportaram o tratamento de efluente doméstico nitrificado, em sistema de lodos ativados, em quatro reatores de leito fixo de enxofre elementar:calcário (1:1, 2:1 e 3:1). Os autores observaram que as eficiências tenderam a reduzir em função da diminuição das quantidades de calcário na composição dos leitos em cargas aplicadas acima de  $0,20 \text{ kg } NO_3^- \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

Além da carência de trabalhos em relação à utilização de efluentes reais, há a ausência de relatos do acoplamento da desnitrificação autotrófica à nitrificação em um único reator. Dentro desse contexto, o presente estudo apresentou como objetivos: (i) avaliar o desempenho de um reator de leito fixo de enxofre elementar:calcário dolomítico (1:3) operado em diferentes cargas nitrogenadas aplicadas na desnitrificação autotrófica de efluente nitrificado avícola e (ii) verificar a possibilidade de contemplar a nitrificação à desnitrificação autotrófica em um reator compartimentado anóxico-aeróbio.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Na etapa experimental, dois reatores de leito fixo, sob fluxo contínuo ascendente, foram operados simultaneamente: um reator anóxico (R1) operado em condições de desnitrificação autotrófica e um reator anóxico-aeróbio (R2) operado com o intuito de estabelecer os processos de nitrificação seguido de desnitrificação autotrófica por recirculação.

Os reatores foram acondicionados em câmara de controle de temperatura a  $29 \pm 1,5^\circ$ . A alimentação e a recirculação foram efetuadas por bomba peristáltica.

### 2.1 Configuração do reator anóxico

O reator anóxico (R1) foi constituído com policloreto de vinila e dimensões de 75 mm de diâmetro interno e 750 mm de comprimento. O volume útil era de 1,350 L, dividido em: 0,165 L (câmara de alimentação), 0,997 L (leito reacional) e 0,188 L (câmara de saída). Quatro pontos de amostragem foram dispostos ao longo da altura do reator: P1 (alimentação), P2 (270 mm), P3 (470 mm) e P4 (saída) (Figura 1).

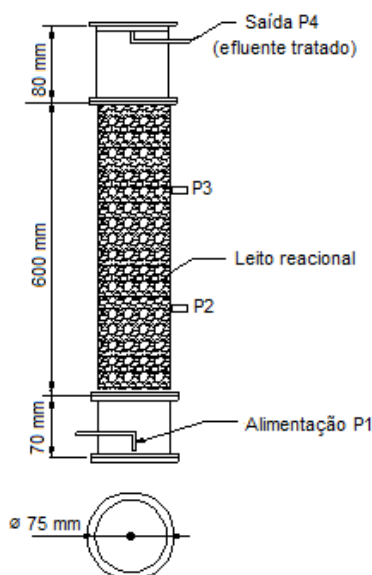


Figura 1 Desenho esquemático do R1.

Enxofre elementar (99% e  $d=2,1 \text{ g cm}^{-3}$ ) e calcário dolomítico ( $\text{CaO}=31,8\%$ ,  $\text{MgO}=22,7\%$  e  $d=1,8 \text{ g cm}^{-3}$ ) com granulometria entre 9,5 e 12,5 mm foram utilizados na composição do leito reacional na proporção, em volume, de 1:3. A porosidade do leito resultou em 49%.

O reator, inoculado com lodo enriquecido a partir de substrato nitrificado suplementado com tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (S/N 3), conforme metodologia adaptada de Moon et al. (2004) e utilizado na desnitrificação autotrófica de efluente avícola, foi aclimatado por 28 dias sob a primeira condição (C1) a ser avaliada.

### 2.1.1 Caracterização do substrato e condições operacionais

Efluente predominantemente amonificado foi coletado na saída da primeira lagoa anaeróbia do sistema de tratamento do frigorífico avícola e posteriormente nitrificado em laboratório.

O efluente amonificado apresentou a seguinte caracterização:  $\text{pH}=6,7\pm 1,1$ ;  $79,6 \pm 7,1 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ ;  $2,2 \pm 1,7 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ;  $4,5 \pm 0,3 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ;  $42,2\pm 11,7 \text{ mg SO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$ ;  $\text{DQO}=164,5 \pm 22,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  e  $326,2\pm 32,2 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ .

A nitrificação foi realizada em reator em batelada sequencial (RBS) com volume útil de 6 litros a  $28\pm 0,9 \text{ }^\circ\text{C}$  e tempo de ciclo (TC) 24 horas (inoculação com lodo aeróbio:  $2,9 \text{ g SSV L}^{-1}$ ; 20% (v/v)).

O substrato de alimentação, composto pelo efluente nitrificado, apresentou a seguinte caracterização:  $\text{pH} = 7,9\pm 0,6$ ;  $67,4 \pm 4,3 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ;  $3,7 \pm 2,2 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ;

$6,1 \pm 4,1$  mg  $\text{NH}_4^+$   $\text{L}^{-1}$ ;  $35,9 \pm 6,7$  mg  $\text{SO}_4^{2-}$   $\text{L}^{-1}$  e  $\text{DQO} = 128,0 \pm 12,5$  mg  $\text{O}_2$   $\text{L}^{-1}$ . A alcalinidade foi ajustada para 600 mg  $\text{CaCO}_3$   $\text{L}^{-1}$  com a adição de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) devido à baixa concentração apresentada após o processo de nitrificação.

O reator foi operado por período de 102 dias (desconsiderando os períodos de aclimação nas mudanças entre as condições experimentais) em três condições de TDH sob alimentação de nitrogênio constante, em termos de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ , em concentrações de  $71,1 \pm 4,2$  mg  $\text{NO}_x$   $\text{L}^{-1}$  (Tabela 1).

Tabela 1 Condições experimentais avaliadas no R1

Condições experimentais	TDH (h)	Carga nitrogenada aplicada (kg $\text{NO}_x$ $\text{m}^{-3}$ $\text{d}^{-1}$ )*
Condição I (C1)	14	0,123
Condição II (C2)	10	0,173
Condição III (C3)	6	0,288

\* $\text{NO}_x = \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ .

As variáveis-resposta utilizadas para verificar o desempenho do reator anóxico foram: eficiência de desnitrificação em termos de  $\text{NO}_x$  (%), taxa de desnitrificação (kg  $\text{NO}_x$   $\text{m}^{-3}$   $\text{d}^{-1}$ ), produção de sulfato (mg  $\text{SO}_4^{2-}$   $\text{L}^{-1}$ ) e incremento de alcalinidade (mg  $\text{CaCO}_3$   $\text{L}^{-1}$ ).

## 2.2 Configuração do reator anóxico-aeróbio

O reator anóxico-aeróbio foi constituído de acrílico com dimensões de 93 mm de diâmetro interno e 800 mm de comprimento. O volume total de 4,150 era dividido em: câmara de alimentação (0,5 L), zona anóxica (1,7 L), zona de aeração (0,450 L), zona aeróbia (0,850 L) e câmara de saída (0,650 L). O volume útil foi de 3,0 L e a porosidade do reator resultou em 73%. Quatro pontos de amostragem foram dispostos ao longo da altura do reator: P1 (alimentação), P2 (80mm - início da zona anóxica/zona de mistura da recirculação), P3 (460 mm - final da zona anóxica/início da zona aeróbia) e P4 (760 mm - saída/final da zona aeróbia) (Figura 2).



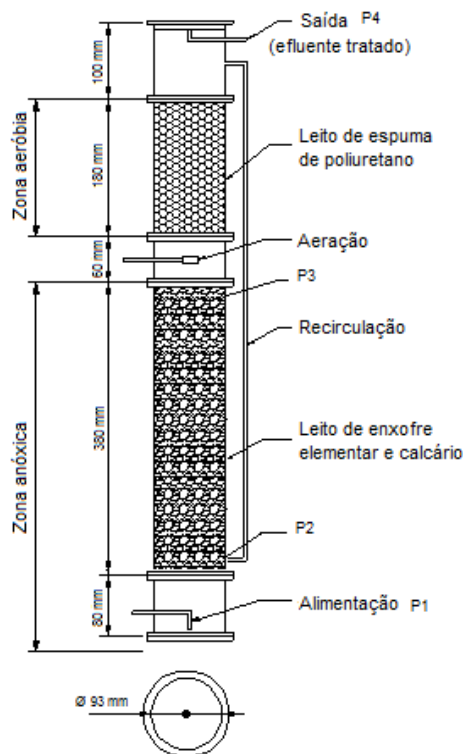


Figura 2 Desenho esquemático do R2.

O sistema de aeração foi constituído de um aerador de aquário da marca Big Air® modelo A420, acoplado a um fluxômetro marca RWR® para controle da vazão de entrada de ar injetado através de pedra porosa. A concentração de oxigênio dissolvido na zona aeróbia foi mantida em aproximadamente  $2 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

A zona aeróbia foi inoculada com lodo ( $4,0 \text{ g SSV L}^{-1}$ ) proveniente do RBS descrito no item 2.2.1. O inóculo foi imobilizado em matrizes cúbicas de espuma de poliuretano (porosidade  $\sim 95\%$  e  $d=0,023 \text{ g cm}^{-3}$ ) com 10 mm de aresta, encaixadas em cilindros de polipropileno.

O leito fixo da zona anóxica foi composto de enxofre elementar e calcário dolomítico (9,5-12,5 mm) na proporção, em volume, de 1:3. O inóculo ( $15,8 \text{ g SSV L}^{-1}$ ) foi proveniente do R1 e aclimatado por 36 dias na primeira condição (E3) a ser avaliada. E a razão de recirculação (R) da zona aeróbia para a zona anóxica foi de 1.

### 2.2.1 Caracterização do substrato e condições operacionais

O substrato de alimentação do reator anóxico-aeróbio foi composto por uma mistura de efluente avícola amonificado e nitrificado (descritos no item 2.2.1). A alcalinidade no substrato de alimentação foi ajustada para  $1000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , pela adição de  $\text{NaHCO}_3$ , para contemplar as exigências dos processos de nitrificação e desnitrificação autotrófica.

O reator foi monitorado por 89 dias (desconsiderando os períodos de aclimação nas mudanças entre as condições experimentais) em TDH de 16 horas. As condições experimentais avaliadas constituíram-se em três diferentes proporções de efluentes amonificado:nitrificado denominadas E1 (1:3), E2 (1:1) e E3 (3:1) (Tabela 2).

Tabela 2 Condições experimentais avaliadas no R2

Condições experimentais	pH	N amoniacal (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> L <sup>-1</sup> )	Nitrato+Nitrito (mg NO <sub>x</sub> L <sup>-1</sup> )	Sulfato (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> L <sup>-1</sup> )	DQO (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )
Condição I (E1)	8,0±0,4	21,5±2,3	56,8±4,0	36,6±5,6	137,2±4,3
Condição II (E2)	7,9±0,4	34,9±3,0	38,1±2,3	40,3±3,9	147,1±4,5
Condição III (E3)	7,9±7,3	53,1±3,8	25,4±3,5	42,3±3,4	155,7±7,8

A mistura dos efluentes como substrato constituiu-se em estratégias de alimentação com o intuito de evitar o efeito de desproporção de enxofre na zona anóxica devido à ausência de receptores de elétrons em meio líquido. Ao mesmo tempo, o percentual de efluente amonificado seria nitrificado na zona aeróbia e recirculado para a zona anóxica para posterior redução de nitratos e nitritos formados.

As variáveis-resposta utilizadas para verificar o desempenho do reator anóxico-aeróbio foram: eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal e total (%) e produção de sulfato (mg SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> L<sup>-1</sup>).

### 2.3 Amostragem e monitoramento analítico

Após atingir o estado de equilíbrio aparente, seis amostras foram coletadas para cada ponto de amostragem em cada condição testada. Os perfis temporais foram plotados a partir das amostras coletadas em P1 e P2, ou seja, amostras afluentes e efluentes. Os perfis espaciais, referentes à altura do reator, foram plotados a partir das amostras coletadas em P1, P2, P3 e P4.

Os parâmetros físico-químicos determinados foram pH (4500 H<sup>+</sup>), Demanda Química de Oxigênio (DQO) (5220 D), NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (4500 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> I), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> I) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (4500 C) de acordo com metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Concentrações de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) (8051) e sulfeto de hidrogênio em meio aquoso (8131) foram determinadas por kits da marca Hach, preparados de acordo com recomendações da APHA (2005). A alcalinidade total foi mensurada por metodologia proposta por Dillalo e Albertson (1961) modificada por Ripley *et al.* (1986).

A caracterização do calcário dolomítico por espectrometria de fluorescência de raios-X (FRX) em termos de CaO e MgO foi realizada no início e no final do experimento.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Desempenho do reator anóxico

##### 3.1.1 Eficiência da desnitrificação e produção de sulfato

Após atingir o estado de equilíbrio aparente, o efeito do decréscimo do TDH foi avaliado em alimentação constante de  $71,1 \pm 4,2 \text{ mg NO}_x \text{ L}^{-1}$ . As eficiências de desnitrificação foram monitoradas a partir da remoção de  $\text{NO}_x$ , porém as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  se mantiveram superiores a 90% em relação ao nitrogênio nitrificado total no substrato de alimentação.

O estabelecimento da desnitrificação autotrófica foi atribuído ao consumo de  $\text{NO}_x$  e à produção de sulfato simultânea nos três TDH avaliados (Figura 3). As eficiências de desnitrificação nas condições testadas foram de  $94,4 \pm 2,0$ ,  $94,9 \pm 2,3$  e  $71,1 \pm 7,8\%$  para os TDH de 14 (C1), 10 (C2) e 6 (C3) h, respectivamente.

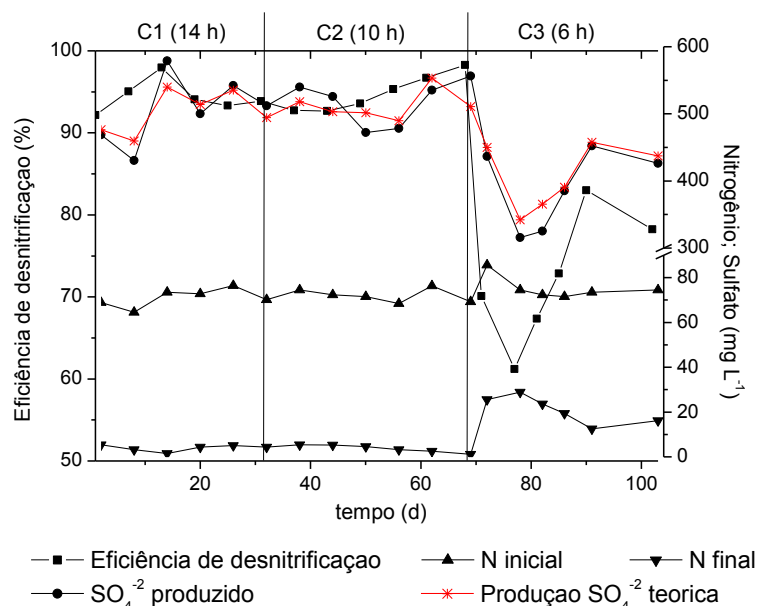


Figura 3 Eficiência de desnitrificação, concentrações de  $\text{NO}_x$  e produção de  $\text{SO}_4^{2-}$  para os TDH de 14, 10 e 6 horas.

As cargas aplicadas de  $0,123$ ,  $0,173$  e  $0,288 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  resultaram em taxas de desnitrificação de  $0,115 \pm 0,007$ ,  $0,164 \pm 0,007$  e  $0,217 \pm 0,025 \text{ kg NO}_x \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  para os TDH de 14, 10 e 6 h, respectivamente. A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que as taxas de desnitrificação aumentaram em função da redução de TDH. Isso pode ter ocorrido

devido à elevação da velocidade ascensional de 0,022 (14 h) para 0,031 (10 h) e posteriormente para 0,051 m h<sup>-1</sup> (6 h), que pode ter contribuído para a maior dissolução do enxofre elementar.

Apesar de a taxa de desnitrificação ter aumentado em função da redução do TDH de 14 para 10 horas, as eficiências de desnitrificação se mantiveram constantes entre 92,2 e 98,2%. Ao diminuir o TDH para 6 horas, a taxa de desnitrificação continuou a aumentar, no entanto, a eficiência de desnitrificação reduziu para valores entre 61,2 e 83,0%. O aumento da taxa de desnitrificação pode ter resultado no acúmulo de nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) no leito, devido à maior velocidade de formação desse gás. O acúmulo de N<sub>2</sub> e outros gases, como H<sub>2</sub>S, em torno dos grânulos de enxofre elementar pode desencadear o aumento da pressão da coluna com conseqüente oscilação da porosidade (CAPUA et al., 2015) e impedir a transferência de massa através do biofilme (FLERE, 1999; KIM; LEE; BAE, 2004; CAPUA et al. 2015).

As concentrações de nitrito no efluente foram de 5,6±1,4, 2,6±0,9 e 12,3±3,6 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> para os TDH de 14, 10 e 6 horas, respectivamente. Além da limitada transferência de massa devido ao possível acúmulo de gases, o acúmulo de nitrito no TDH de 6 horas pode ter indicado a aplicação de carga nitrogenada em excesso, cujo resultado foi a redução nas eficiências de desnitrificação. Portanto, pode-se observar que o aumento da velocidade ascensional para 0,051 m h<sup>-1</sup> (6 h) pode ter favorecido a dissolução do enxofre elementar e resultado em maiores taxas de desnitrificação. No entanto, essa dissolução não foi considerada suficiente para manter elevadas eficiências de desnitrificação na maior carga nitrogenada aplicada (0,288 kg NO<sub>x</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>).

Sierra-Alvarez et al. (2007) operaram um reator de leito fixo de enxofre elementar e calcário na proporção (m/m) de 1:1,3 no tratamento de substrato sintético. Os TDH de 30,5±3,7, 15,2±1,4 e 7,8±0,5 horas com cargas aplicadas de 0,083, 0,159 e 0,268 kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente, atingiram eficiências de desnitrificação de 100,0, 86,4 e 67,3%. Na compilação dos resultados obtidos, foi possível observar que o aumento da carga aplicada resultou em decréscimo nas eficiências de desnitrificação. Tal constatação associada ao acúmulo de nitrito de 8,5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> direcionaram os autores a concluir que, no TDH de 7,8 horas, o reator foi operado em situação de carga acima de sua capacidade.

A característica de baixa solubilidade aquosa do enxofre elementar pode limitar a transferência de massa, porém algumas pesquisas relatam que o aumento na disponibilização de áreas superficiais pode contribuir para a elevação das eficiências de desnitrificação (DARBI; VIRARAGHAVAN, 2003; CHRISTIANSON et al., 2015). Normalmente, grânulos entre 2 e 10 mm têm sido utilizados na constituição dos leitos. A granulometria de 9,5-12,5 utilizada nesse experimento não foi indicada como fator limitante nos TDH de 14 e 10 horas devido às altas eficiências de desnitrificação obtidas nessas

condições. No entanto, não se pode afirmar que a disponibilização de maiores áreas superficiais, a partir da redução da granulometria, poderiam contribuir para as eficiências de desnitrificação no TDH de 6 horas devido a outros fatores estarem envolvidos, como o acúmulo de gases.

A granulometria de 9,5-12,5 foi selecionada com o intuito de impedir a obstrução do leito. De acordo com Oh et al. (2000), o rendimento de biomassa processo de desnitrificação autotrófica é de 0,40-0,57 g SSV g  $\text{NO}_3^-$ . Ainda que a produção de biomassa na desnitrificação autotrófica seja considerada baixa em comparação a outros processos biológicos (MOON et al., 2004, 2006, 2008; SIERRA-ALVAREZ et al, 2007), o entupimento do leito e a necessidade de descarte de lodo foram reportados por Zhou et al. (2011). Nisola et al. (2011) atribuíram as menores eficiências de desnitrificação ao desprendimento de biomassa provocado pela redução do TDH de 31 para 18 horas. Porém, esse comportamento não foi associado aos resultados obtidos nessa pesquisa porque o arraste de biomassa não foi observado nas condições experimentais avaliadas.

Como citado anteriormente, produções de sulfato de  $505,5 \pm 52,5$ ,  $517,9 \pm 34,5$  e  $390,2 \pm 58,4$  mg  $\text{SO}_4^{2-}$  L<sup>-1</sup> foram reportadas como produto da desnitrificação autotrófica para os TDH de 14, 10 e 6 horas, respectivamente (Figura 3).

As relações médias de  $\text{SO}_4^{2-}$  produzido :  $\text{NO}_x$  reduzido obtidas de  $7,5 \pm 0,4$  (14 h),  $7,6 \pm 0,4$  (10 h) e  $7,2 \pm 0,4$  mg  $\text{SO}_4^{2-}$ :mg  $\text{NO}_x$  (6 h) foram diferentes do valor estequiométrico teórico, proposto por Sarinkaya, Kilic e Duygulu (2014), de 7,5 mg  $\text{SO}_4^{2-}$ :mg  $\text{NO}_3^-$ . As variações entre a relação estequiométrica teórica e as relações obtidas podem ser atribuídas, possivelmente, ao desenvolvimento de uma comunidade microbiana diversificada devido à inoculação proveniente de lodo misto. Além disso, a manutenção do pH próximo à neutralidade (discutido no item 3.1.2) pode ter favorecido o estabelecimento de diferentes grupos microbianos.

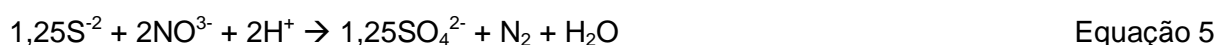
O meio anóxico associado às baixas relações DQO: $\text{SO}_4^{2-}$  e pH (6,6-8,0) podem ter favorecido o desenvolvimento de bactérias redutoras de sulfato (RBS). Dessa forma, parte do sulfato produzido na desnitrificação autotrófica pode ter sido oxidado em processo de sulfetogênese utilizando matéria orgânica como doadora de elétrons. Vale ressaltar que a DQO remanescente contida no efluente nitrificado utilizado como substrato de alimentação é caracterizada pela difícil biodegradabilidade. Isso pode ser confirmado em virtude das remoções de DQO reportadas terem sido inferiores a 22% nos três TDH avaliados. Além da sulfetogênese, parte da remoção de DQO pode ser atribuída à desnitrificação heterotrófica.

Apesar da ausência de matéria orgânica prontamente disponível no substrato de alimentação, as RBSs podem utilizar o carbono orgânico fornecido pela respiração endógena (ZHAN; SHAN, 1999) ou proveniente da decomposição da biomassa autotrófica (SAHINKAYA, 2009) como aceptores de elétrons na redução do sulfato. De acordo com

LENS et al. (1998), relações DQO:SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> inferiores a 0,67 favorecem à oxidação total do sulfato, porém, em relações de aproximadamente 1,92 podem induzir à oxidação parcial.

No entanto, independente da oxidação do sulfato ter sido parcial ou total, obtém-se o sulfeto de hidrogênio como produto final. Além disso, o efeito de desproporção do enxofre, ocasionado pela depleção de receptores de elétrons (Equação 4), pode contribuir para o aumento das concentrações de sulfeto de hidrogênio no meio (SIERRA-ALVAREZ et al., 2007). Esse efeito pode ter sido favorecido em TDH de 14 e 10 horas nas quais foram registradas remoções dos compostos nitrogenados superiores a 92,2%.

Parte do sulfeto de hidrogênio, procedente da oxidação do sulfato e do efeito de desproporção do enxofre, pode ter sido utilizada como doador de elétrons na desnitrificação autotrófica. De acordo com Reyes-Ávila, Flores-Zaro e Gómes (2004), o nitrato pode ser reduzido a partir do sulfeto de hidrogênio para a obtenção de produtos finais sulfato e N<sub>2</sub> (Equação 5). Ainda de acordo com Beristain-Cardoso et al. (2006), nesse processo, dependendo das condições fisiológicas, o sulfeto de hidrogênio pode ser parcialmente oxidado a enxofre elementar (Equação 6). Além disso, Mahmood et al. (2007) descrevem que a oxidação do sulfeto de hidrogênio pode ocorrer a partir da redução do nitrito (Equações 7 e 8.)



Dessa forma, parte do sulfato oxidado a sulfeto de hidrogênio pode ter sido oxidado novamente a sulfato. Diante disso, é possível concluir que as concentrações finais de sulfato obtidas podem ser resultantes da interação de diferentes processos que justificam seu desvio da relação estequiométrica teórica de 7,5 mg SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>:mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Em relação às concentrações de sulfeto de hidrogênio, valores inferiores a 4,5 mg L<sup>-1</sup>, em meio aquoso, foram observados no efluente nos três TDH avaliados. Vale ressaltar que o sulfeto de hidrogênio produzido no interior do reator poderia estar presente em diferentes formas (H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup> e S<sup>-2</sup>) com predomínio de H<sub>2</sub>S em valores de pH inferiores a 7,0 e HS<sup>-</sup> em valores superiores à neutralidade. Por isso, as concentrações obtidas em meio aquoso podem não explicar a concentração total de sulfeto de hidrogênio efluente.

### 3.1.2 Alcalinidade e pH

De acordo com a estequiometria teórica, 4,57 g  $\text{CaCO}_3$  (SAHINKAYA et al., 2011; SAHINKAYA; KILIC, 2014) são consumidos por grama de nitrato reduzido. Dessa forma, a alcalinidade inicial foi corrigida para 600 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  para suprir a demanda de aproximadamente 324,9 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  na remoção total dos compostos nitrogenados.

No entanto, o consumo acentuado de alcalinidade no processo de desnitrificação autotrófica via enxofre elementar resulta em quedas de pH, e conseqüentemente, pode desencadear decréscimo nas eficiências de desnitrificação. A faixa ótima de pH indicada para que a desnitrificação autotrófica seja favorecida varia entre 7 e 8, com ocorrência de produtos intermediários em valores de pH inferiores (OH et al., 2000).

Dessa forma, o calcário dolomítico foi utilizado na composição do leito do reator, com o intuito de incrementar alcalinidade no sistema e auxiliar na manutenção do pH na faixa desejada. Além disso, esse material pode disponibilizar carbono inorgânico para a síntese celular dos microrganismos autotróficos (FLERE; ZHAN, 1998). Em estudos anteriores, o emprego do calcário dolomítico em reator de leito fixo de enxofre elementar demonstrou-se favorável em manter a estabilidade do pH, porém, o incremento de alcalinidade não foi suficiente para manter em paralelo o tamponamento do meio e a alcalinidade requerida para a desnitrificação autotrófica devido a sua lenta dissolução. Dentro desse contexto, justifica-se a correção da alcalinidade inicial no início do processo.

Os valores de pH do efluente e os incrementos de alcalinidade reportados foram de  $6,9 \pm 0,3$ ,  $7,0 \pm 0,5$  e  $7,1 \pm 0,9$  e  $28,2 \pm 13,3$ ,  $24,2 \pm 12,4$  e  $18,2 \pm 13,6$  mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  para os TDH de 14, 10 e 6 horas, respectivamente (Figura 4). Como os valores de pH foram mantidos próximo da neutralidade, o acúmulo de nitrito de  $12,3 \pm 3,6$  mg  $\text{NO}_2^- \text{ L}^{-1}$  no TDH de 6 horas não foi vinculado ao pH, e sim, à elevação da carga aplicada no reator (como discutido no item 3.1.1). A manutenção do pH, decorrente da correção inicial de alcalinidade e da dissolução do calcário dolomítico, foi considerada favorável à desnitrificação autotrófica nos três TDH avaliados.

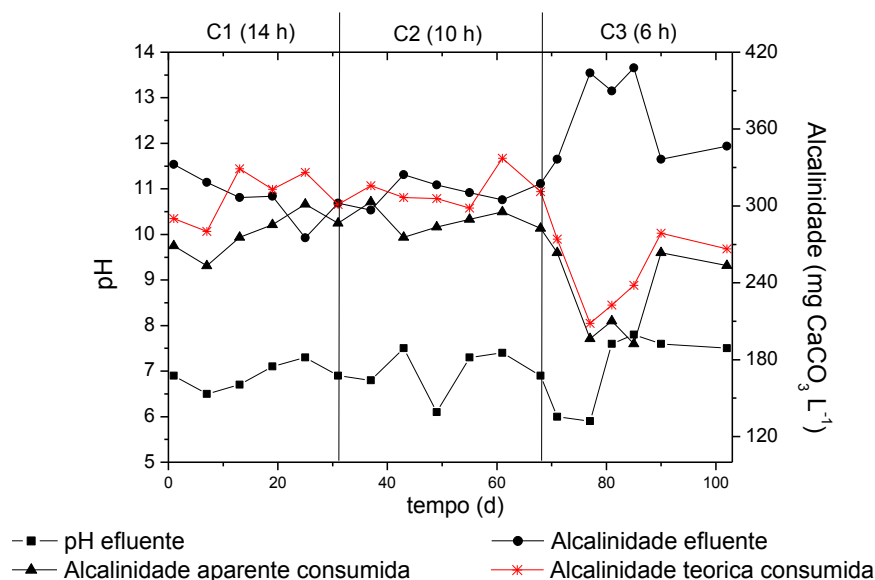


Figura 4 Perfil temporal da alcalinidade inicial e final e pH final para os TDH de 14, 10 e 6 horas.

A relação  $\text{alcalinidade}_{\text{aparente consumida}} : \text{NO}_x \text{ reduzido}$  foi de  $4,2 \pm 0,2 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg NO}_x \text{ reduzido}^{-1}$  para as três condições de TDH investigadas. O termo  $\text{alcalinidade aparente consumida}$  foi utilizado para designar a diferença entre as alcalinidades inicial e final. No entanto, essa diferença não pode ser atribuída como consumo real devido ao possível incremento de alcalinidade no sistema. As relações observadas ligeiramente inferiores à relação teórica ( $4,57 \text{ g CaCO}_3 \text{ g NO}_3^- \text{ reduzido}^{-1}$ ) podem indicar o incremento de alcalinidade proveniente, principalmente, da dissolução do calcário dolomítico. Além disso, uma pequena parcela da recuperação de alcalinidade pode ser direcionada para a oxidação do sulfeto de hidrogênio e a desnitrificação heterotrófica. Porém, é suposto que a recuperação de alcalinidade via esses processos não tenha sido relevante.

Incrementos de alcalinidade superiores aos valores observados nesse experimento foram reportados por Koenig e Liu (2002). Os autores operam reatores de leito fixo de enxofre elementar:calcário nas proporções de 1:0, 4:1, 2:1 e 1:1, alimentados com substrato sintético com aproximadamente  $62 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  em diferentes condições de alcalinidade inicial. Os incrementos de alcalinidade foram de 146,9, 153,6, 200,4, 230,5 e  $303,9 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  para as condições de alcalinidade inicial de 622, 476, 231, 168 e  $74 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . No entanto, os autores não especificaram qual tipo de calcário foi utilizado na composição dos leitos.

Vale ressaltar que a presença do magnésio na composição do calcário dolomítico tem sido reportada como redutora da capacidade de reatividade da rocha (HOSTEN; GÜLSÜN, 2004; MOON; SIAGI; MBARAWA, 2009). Além disso, a maior dissolução de



material calcário tem sido evidenciada em condições de elevação do TDH e a diminuição do pH (KOENG; LIU, 2002; LIU; KOENIG, 2002; MOON; NAM; KIM, 2006, SAHINKAYA; KILIC; DUYGULU, 2014). Portanto, a baixa dissolução do calcário dolomítico verificada no experimento pode estar vinculada à composição da rocha, aos valores de pH mantidos próximos à neutralidade e à diminuição do TDH.

### 3.1.3 Distribuição espacial

Assim como na análise temporal do reator, os perfis espaciais indicaram maiores eficiências de desnitrificação nos TDH de 14 e 10 horas. Os perfis espaciais demonstraram comportamento semelhante entre os três TDH avaliados. No entanto, os perfis dos TDH de 14 e 10 horas demonstraram maior similaridade entre si (Figura 6).

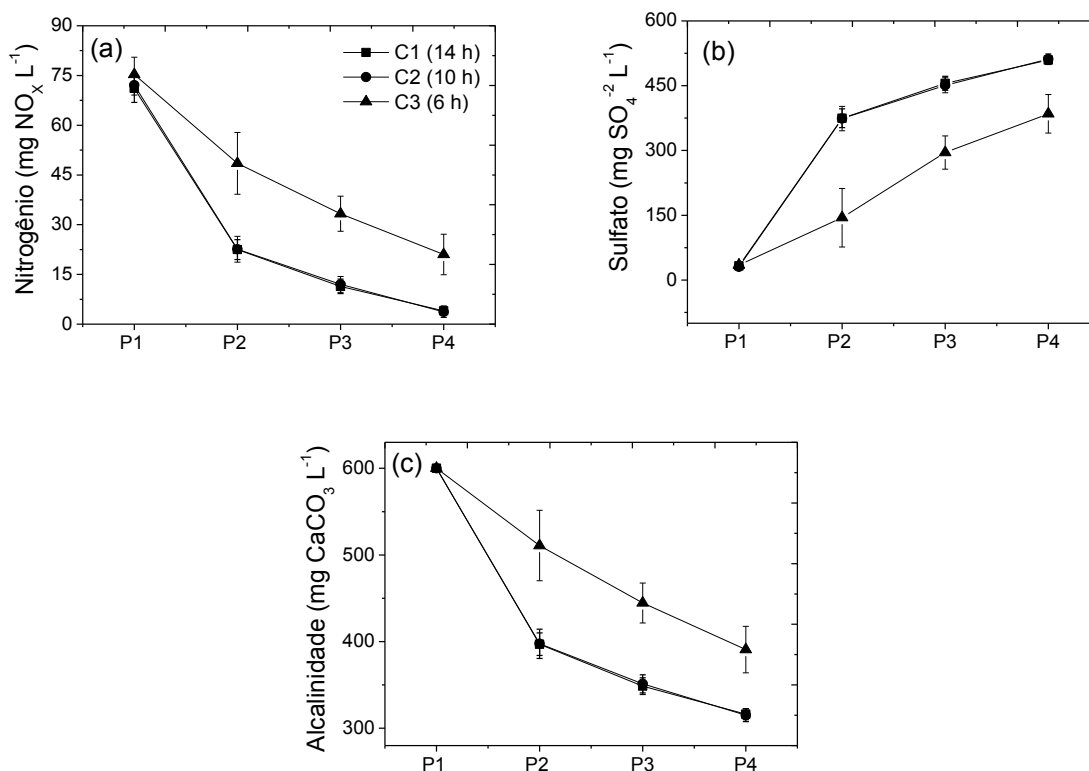


Figura 5 Perfil espacial das concentrações de (a) NO<sub>x</sub>, (b) SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e (c) alcalinidade para os TDH de 14, 10 e 6 horas.

Os decréscimos dos compostos nitrogenados e as produções de sulfato e alcalinidade foram mais evidentes nos primeiros 270 mm (P2) percorridos para os três TDH avaliados. Isso pode ser justificado devido, principalmente, à solubilidade e à disponibilidade do NaHCO<sub>3</sub> (SUN, NEMATI, 2012). A partir dessa distância, o decréscimo de alcalinidade e

a baixa dissolução do calcário dolomítico podem ter desacelerado o processo de desnitrificação.

Além dos perfis espaciais demonstrados, a partir do P2, foi possível observar recuperação e tendência à estabilidade do pH bem como às evidências de acúmulo de nitrito e detecção de sulfeto de hidrogênio.

### 3.2 Desempenho do reator anóxico-aeróbio

A configuração do reator vertical compartimentado anaeróbio-aeróbio foi utilizada no intuito de contemplar a nitrificação e a desnitrificação autotrófica em um único reator. Dessa forma, o substrato seria nitrificado no compartimento superior (zona aeróbia) e recirculado para o compartimento inferior (zona anóxica) onde seria desnitrificado. Essa configuração pode ser considerada interessante por compor um sistema de tratamento compacto.

Três estratégias de alimentação foram avaliadas com o objetivo de estabelecer os dois processos, e paralelamente, evitar o efeito de desproporção de enxofre na zona anóxica do reator. As estratégias de alimentação constituíram-se na mistura de substrato amonificado e nitrificado nas proporções de 1:3 (E1), 1:1 (E2) e 3:1 (E3).

As eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal obtidas foram de  $67,3\pm 6,4$ ,  $63,4\pm 6,7$  e  $14,2\pm 4,4\%$  para as condições E1, E2 e E3, respectivamente (Figura 6a). No perfil espacial, é possível perceber que os decréscimos nas concentrações de nitrogênio amoniacal ocorreram principalmente na zona aeróbia e foram mais expressivos nas condições E1 e E2. Essa observação foi abordada como indício do estabelecimento do processo de nitrificação. A queda nas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal, para  $14,2\pm 4,4\%$ , na condição E3 pode indicar desfavorecimento ou inibição parcial das bactérias nitrificantes. Na zona anóxica, as variações da concentração de nitrogênio amoniacal não foram consideradas relevantes.

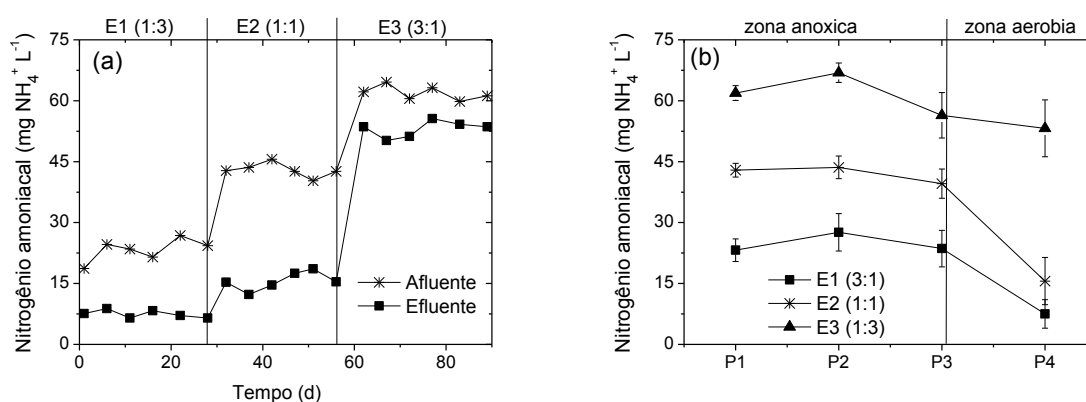


Figura 6 (a) Perfil temporal das concentrações de  $\text{NH}_4^+$  afluyente e efluente e (b) perfil espacial das concentrações de  $\text{NH}_4^+$  para as condições E1, E2 e E3.

As remoções de nitrogênio amoniacal podem ser atribuídas principalmente ao processo nitrificação, apesar de uma pequena fração poder ter sido destinada à assimilação para a manutenção do metabolismo celular. No entanto, partindo-se do pressuposto que a comunidade microbiana no reator seria predominantemente autotrófica, tanto na zona aeróbia quanto na zona anóxica, a parcela de remoção de nitrogênio amoniacal por assimilação não foi considerada expressiva. De acordo com Gray (1992), as bactérias autotróficas são consideradas hábeis em utilizar o nitrogênio em via não assimilativa, como fonte de energia. Por isso, o rendimento de biomassa é baixo, como discutido anteriormente. Batchelor e Lawrence (1978) afirmaram que, no processo de desnitrificação autotrófica, seriam necessários 8% de nitrogênio amoniacal, em relação à massa total a ser desnitrificada, para síntese celular. No entanto, Koenig e Liu (2001) sugerem que o nitrogênio amoniacal não é uma exigência metabólica das bactérias *Thiobacillus desnitificans*, principais responsáveis pela desnitrificação autotrófica.

As concentrações de  $\text{NO}_x$  e nitrato efluentes resultaram em  $20,9 \pm 2,9$ ,  $22,3 \pm 3,8$  e  $4,7 \pm 1,5$   $\text{mg NO}_x \text{ L}^{-1}$  e  $17,2 \pm 3,5$ ,  $18,7 \pm 3,2$  e  $3,2 \pm 1,8$   $\text{mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  para as condições E1, E2 e E3, respectivamente (Figura 7a). Os resultados demonstraram que não houve acúmulo de nitrito no efluente.

Além da remoção de nitrogênio amoniacal, o processo de nitrificação pode ser evidenciado pela formação de nitratos na zona aeróbia (Figura 7a). Vale ressaltar que os níveis de oxigênio dissolvido foram mantidos em aproximadamente  $2,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  no intuito de favorecer o processo de nitrificação e evitar que concentrações significativas de oxigênio fossem recirculadas com o efluente para a zona anóxica. Ademais, os poros da superfície inferior da pedra porosa, utilizada para difundir o ar na zona aeróbia, foram obstruídos com o objetivo de impedir a formação de uma região de interferência de oxigênio dissolvido entre a zona anóxica e a zona de aeração.

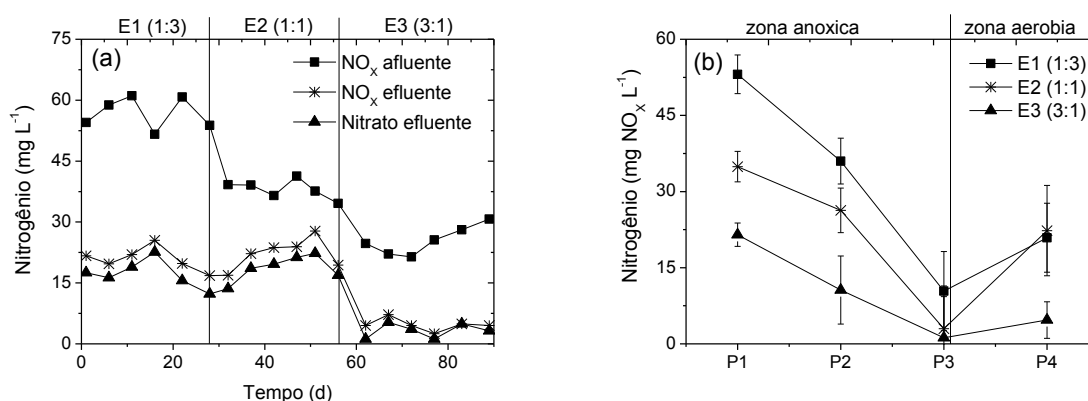


Figura 7 (a) Perfil temporal das concentrações de  $\text{NO}_x$  afluente e efluente e  $\text{NO}_3^-$  efluente e (b) perfil espacial das concentrações de  $\text{NO}_x$  para as condições E1, E2 e E3.

De acordo com Pokorna e Zabranska (2015), as bactérias *Thiobacillus desnitrificans* são capazes de oxidar compostos reduzidos de enxofre, como sulfeto de hidrogênio, tiosulfato e enxofre elementar, utilizando o nitrato/nitrito ou o oxigênio como acceptor de elétrons. Dessa forma, o controle do oxigênio dissolvido foi realizado devido à oxidação dos compostos de enxofre via oxigênio ser termodinamicamente favorecida em relação à oxidação via  $\text{NO}_x$ . Assim, seria possível evitar que o enxofre elementar utilizado na composição do leito fosse oxidado via oxigênio (Equação 9) (TANG; BASKARAN; NEMAT, 2009) e ocasionar a redução nas eficiências de desnitrificação.



O perfil espacial demonstrou o decréscimo das concentrações de  $\text{NO}_x$  na zona anóxica, sugerindo o estabelecimento do processo de desnitrificação autotrófica a partir do enxofre elementar (Figura 7b). As concentrações de  $\text{NO}_x$  mensuradas no P3 foram de  $10,4 \pm 7,8$ ,  $6,3 \pm 3,0$  e  $3,5 \pm 2,4$   $\text{mg NO}_x \text{ L}^{-1}$ , para as condições E1, E2 e E3, respectivamente. Apesar da concentração de  $\text{NO}_x$  remanescente no P3 ter apresentado o menor valor em E3, não quer dizer que essa condição tenha apresentado o melhor desempenho no processo de desnitrificação.

Nas condições E1 e E2, na zona anóxica, havia maior disponibilidade de  $\text{NO}_x$  proveniente do substrato de alimentação, com maiores proporções de efluente nitrificado, e da recirculação dos compostos nitrificados na zona aeróbia. Porém, na condição E3, a concentração de  $\text{NO}_x$  disponível foi menor, pois o substrato de alimentação é composto pela menor proporção de efluente nitrificado e o desempenho da nitrificação foi considerado baixo. Dessa forma, o desempenho da desnitrificação autotrófica foi considerado melhor nas condições E1 e E2 e a disponibilidade de  $\text{NO}_x$  pode ter sido indicada como fator limitante nesse processo.

As eficiências de remoção de nitrogênio total reportadas foram de  $64,2 \pm 6,3$ ,  $53,1 \pm 7,1$  e  $33,8 \pm 1,7\%$  para as condições E1, E2 e E3, respectivamente. As baixas eficiências de remoção de nitrogênio total poderiam estar vinculadas ao baixo desempenho no processo de nitrificação.

Os valores de pH do efluente apresentaram variação entre 6,2 e 7,2 nas três condições avaliadas (Figura 8a) e foram considerados satisfatórios para o metabolismo dos microrganismos nitrificantes e desnitrificantes. A manutenção do pH na faixa desejada pode ser atribuída à correção da alcalinidade no substrato de alimentação para  $1000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  por adição de  $\text{NaHCO}_3$ . Como nos processos de nitrificação e desnitrificação autotrófica ocorre o consumo de  $7,14 \text{ g CaCO}_3 \text{ g NO}_3^- \text{ formado}^{-1}$  e  $4,57 \text{ g CaCO}_3 \text{ g NO}_3^- \text{ reduzido}^{-1}$ , respectivamente, o consumo expressivo de alcalinidade e

decréscimo de pH eram esperados na remoção completa dos compostos nitrogenados. Dessa forma, a disponibilização de alcalinidade em excesso teve como objetivo eliminar o efeito de redução de remoção de nitrogênio total devido à insuficiência de alcalinidade no sistema. Além disso, o calcário dolomítico foi utilizado na composição do leito com o intuito de auxiliar na manutenção do pH em casos de consumo excessivo de alcalinidade.

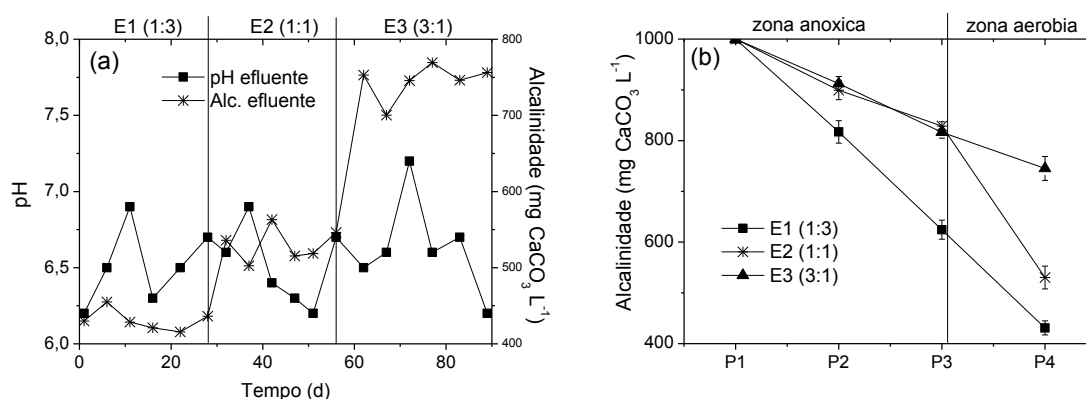


Figura 8 (a) Perfil temporal do pH e alcalinidade efluente e (b) perfil espacial de alcalinidade para as condições E1, E2 e E3.

O perfil espacial revelou o consumo de alcalinidade nas zonas anóxica e aeróbia (Figura 8b). No entanto, o consumo excessivo esperado não foi obtido devido às baixas eficiências de remoção de nitrogênio total reportadas. Dessa forma, as alcalinidades remanescentes registradas foram aproximadamente 430, 530 e 745 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> para as condições E1, E2 e E3, respectivamente.

### 3.2.1 Produção de sulfato

As concentrações de sulfato efluente obtidas foram 360,7±10,1, 287,3±8,3 e 257,2±10,8 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> para as condições E1, E2 e E3, respectivamente (Figura 9a). A elevação das concentrações de sulfato na zona anóxica, demonstrada no perfil espacial, foi utilizada como indicativo do estabelecimento da desnitrificação autotrófica (Figura 9b). Na zona anóxica, as produções de sulfato mais evidentes foram observadas nas condições E1 e E2, corroborando com os melhores desempenhos de desnitrificação verificados pelo decréscimo de NO<sub>x</sub> na Figura 7b.

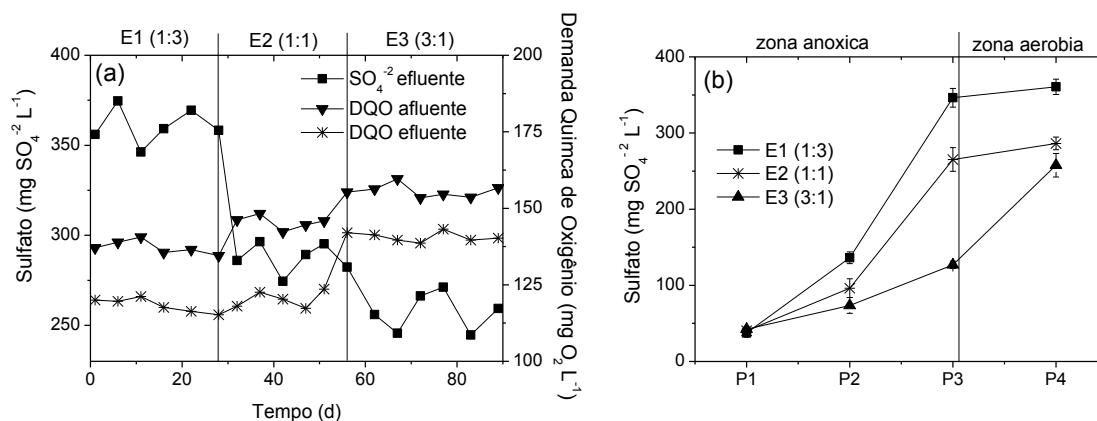
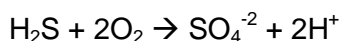


Figura 9 (a) (a) Perfil temporal das concentrações de DQO afluente e efluente e SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> efluente e (b) perfil espacial das concentrações de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> para as condições E1, E2 e E3.

Na zona aeróbia, o perfil espacial revelou que as concentrações de sulfato mantiveram-se constantes nas condições E1 e E2 e tenderam à elevação na condição E3. Esse comportamento foi inverso ao observado no perfil do nitrogênio amoniacal (Figura 6b), cujas concentrações tenderam ao decréscimo nas condições E1 e E2 e mantiveram-se praticamente constantes na condição E3. Essa constatação indicou que a maior produção de sulfato na zona aeróbia poderia estar vinculada à redução das eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e, conseqüentemente, à inibição parcial das bactérias nitrificantes.

A investigação realizada para entender o possível vínculo revelou que a baixa disponibilidade de NO<sub>x</sub>, para a desnitrificação autotrófica, pode ter acentuado o efeito de desproporção do enxofre e resultado em maiores concentrações de sulfeto de hidrogênio no meio. Inevitavelmente, o sulfeto de hidrogênio foi deslocado da zona anóxica para a aeróbia. De acordo com Sears et al. (2004), as concentrações de sulfeto de hidrogênio dissolvido total na ordem de 0,05 mg SDT L<sup>-1</sup> podem causar a inibição de bactérias responsáveis pela oxidação do nitrogênio amoniacal. Diante disso, as concentrações de sulfeto de hidrogênio dissolvido, obtidas de aproximadamente 0,01, 0,14 e 6,4 mg L<sup>-1</sup>, no P3, para as condições E1, E2 e E3, respectivamente, podem ter contribuído para as baixas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal.

Além disso, a presença de sulfeto de hidrogênio na zona aeróbia pode ter sido indicada pelas altas concentrações de sulfato geradas nesse compartimento. De acordo com Tang, Baskaran e Nemati (2009), o sulfeto de hidrogênio pode ser biologicamente oxidado na presença de oxigênio obtendo-se sulfato como produto final (Equação 10). Vale ressaltar que os valores de pH próximos à neutralidade favorecem à forma H<sub>2</sub>S do sulfeto de hidrogênio. Concentrações de sulfeto de hidrogênio dissolvido no efluente foram inferiores a 0,05 mg L<sup>-1</sup> nas três condições avaliadas.



Equação 10

Além do sulfeto de hidrogênio proveniente provavelmente da desproporção de enxofre, uma pequena parcela pode ser atribuída ao possível estabelecimento de bactérias RBS de acordo com a discussão anterior (item 3.1.1). As eficiências de remoção de DQO reportadas foram de  $13,8 \pm 0,8$ ,  $15,8 \pm 3,9$  e  $9,8 \pm 1,7\%$  para as condições E1, E2 e E3, respectivamente. As baixas eficiências de DQO podem ser atribuídas a sua difícil degradabilidade, devido ao fato de ser proveniente de efluente de tratamento anaeróbio. Os consumos de DQO podem ter ocorrido devido ao estabelecimento de processos de sulfetogênese e desnitrificação heterotrófica.

#### **4 CONCLUSÕES**

O reator anóxico de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico promoveu remoções satisfatórias de nitrogênio no efluente avícola nitrificado. Por isso, a aplicação da desnitrificação autotrófica a partir do enxofre elementar pode ser considerada tecnologia viável no tratamento de efluentes nitrificados.

A carga aplicada pode influenciar no desempenho do reator anóxico. Condições de sobrecarga propiciam o acúmulo de produtos intermediários como o nitrito. Baixas cargas aplicadas intensificam o efeito de enxofre elementar e o aparecimento de sulfeto de hidrogênio no meio.

Apesar de a desnitrificação autotrófica ter se mostrado promissora, o acoplamento dessa com a nitrificação em um reator anóxico-aeróbio de leito fixo de enxofre elementar e calcário dolomítico apresentou limitadas remoções de nitrogênio de efluente avícola.

A estratégia de alimentação foi considerada como fator importante no estabelecimento dos dois processos em um único reator. A limitação do desempenho da unidade foi atribuída à dificuldade em manter a nitrificação devido a sua inibição por produtos formados na zona anóxica. Por isso, a utilização do reator anóxico-aeróbio para a presente proposta não é aconselhável.

A coexistência de diferentes comunidades microbianas pode ser favorecida devido à interação entre os diferentes processos de remoção de nitrogênio e enxofre, tanto no reator anóxico quanto no reator anóxico-aeróbio, que podem dificultar o controle operacional.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed., Washington, DC: APHA, 2005.

BATCHELOR, B.; LAWRENCE, A. W. Autotrophic denitrification using elemental sulfur. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 50, p. 1986-200, 1978.

BERISTAIN-CARDOSO R.; SIERRA-ALVAREZ, R.; ROWLETTE, P.; RAZO-FLORES, E.; GÓMEZ, J. E.; FIELD, J. A. Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 95, p.1148–1157, 2006.

CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; SÁNCHEZ M.; MÉNDEZ R.; LEMA J. M. Nitrification in saline wastewater with high ammonia concentration in an activated sludge unit. **Water Research**, v. 36, n. 10, p. 2555-2560, 2002.

CAPUA, F.; PAPIRIO, S.; LENS, N. L.; ESPOSITO, G. Chemolithotrophic denitrification in biofilm reactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 280, n. 15, p. 643-657, 2015.

CASTRILLÓN, L.; FERNÁNDEZ-NAVA, Y.; MARAÑÓN, E.; GARCÍA, L.; BERRUETA, J. Anoxic-aerobic treatment of the liquid fraction of cattle manure. **Waste Management**, v. 29, n. 2, p. 761-766, 2009.

CHENG, J.; LIU, B. Nitrification/denitrification in intermittent aeration process for swine wastewater treatment. **Journal of Environmental Engineering**, v. 127, v. 8, p. 705-711, 2001.

CHRISTIANSON, L.; LEPINE, C.; TSUKUDA, S.; SAITO, K.; SUMMERFELT, S. Nitrate removal effectiveness of fluidized sulfur-based autotrophic denitrification biofilters for recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 68, p.10-18, 2015.

DARBI, A.; VIRARAGHAVAN, T. A kinetic model for autotrophic denitrification using sulfur-limestone reactor. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 38, n. 1, p. 183-192, 2003.

ECKENFELDER JR, W. W. **Industrial water pollution control**. 3. ed. USA: McGraw Hill, 2000.

FLERE, J. M. Nitrate removal with sulfur-limestone autotrophic denitrification process. **Journal of Environmental Engineering**, v. 125, n. 8, p. 721-729, 1999.

GRADY, C. P. L.; DAIGGER, G. T.; LIM, H. C. **Biological wastewater treatment**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1999.

GRAY, N. F. **Biology of wastewater treatment**. New York: Oxford University, 1992.

HOFFMANN, H; COSTA, T. C.; WOLFF, D. B.; PLATZER, C.; COSTA, R. H. R. The potential of denitrification for the stabilization of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 50, n. 2, p. 329-337, 2007.

HOSTEN, Ç.; GÜLSUN, M. Reactivity of limestones from different sources in Turkey. **Minerals Engineering**, v. 17, n. 1, p. 97-99, 2004.



- KIM, H. R.; LEE, I. S.; BAE, J. H. Performance of a sulfur-utilizing fluidized bed reactor for post-denitrification. **Process biotechnology**, v. 39, p. 1591-1597, 2004.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Kinetic model of autotrophic denitrification in sulfur packed-bed reactors. **Water Research**, v. 35, n. 8, p. 1969-1978, 2001.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. **Journal of Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 161-171, 2002.
- KOENIG, A.; LIU, L. H. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. **Journal of Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 161-171, 2002.
- LEE, S. I.; PARK, J. H.; KO, K. B.; KOOPMAN, B. Effect of fermented swine wastes on biological nutrient removal in sequencing batch reactors. **Environmental Science and Health**, v. 31, n.7, p.1053-1078, 1997.
- LENS, P. N. L.; VISSER, A. JASSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETINGA, G. Biotechnological treatment of sulfate rich wastewaters. **Critical Review Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 41-48, 1998.
- LIU, L. H.; KOENIG, A. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: batch experiments. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 8, p. 885-893, 2002.
- LI, B; IRVIN, S. The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification as denitrification in a sequencing batch reactor (SBR). **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, n. 3, p. 248-255, 2007.
- MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; CAI, T.; WU, D.; HU, B.; LI, J. Anoxic sulfide bio-oxidation using nitrite as electron acceptor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, v. 1-2, p. 249-256, 2007.
- MANCONI, I.; CARUCCI, I. A.; LENS, P. Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 3, p. 551-560, 2007.
- METCALF, L.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4. ed. Nova York: Mcgraw-hill, 2003.
- MOON, H. S.; AHN, K. H.; LEE, S.; NAM, K.; KIM, J. Y. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 499-507, 2004.
- MOON, H. S.; AHN, K. H.; LEE, S.; NAM, K.; KIM, J. Y. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 499-507, 2004.
- MOON, H. S.; CHANG, S. W.; NAM, K.; CHOE, J.; KIM, J. Y. Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 802-807, 2006.
- MOON, H. S.; NAM, K.; KIM, J. Y. Initial alkalinity requirement and effect of alkalinity sources in sulfur-based autotrophic denitrification barrier system. **Journal of Environmental Engineering**, v. 132, p. 971-975, 2006.

- MOON, H. S.; SHIN D. Y.; NAM, K.; KIM J. Y. A long-term performance test on an autotrophic denitrification column for application as a permeable reactive barrier. **Chemosphere**, v. 73, p. 723-728, 2008.
- MOON, H. S.; SIAGI, Z. O.; MBARAWA, M. Dissolution rate of South African calcium-based materials at constant pH. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 2-3, p. 678-682, 2009.
- NISOLA, G. M.; REDILLAS, M. C. F. R.; CHO, E.; HAN, M.; NAMJONG, Y.; CHUNG, W. J. Comparison of reactive porous media for sulfur oxidizing denitrification of high nitrate strength wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 58-59, p. 79-86, 2011.
- OH, S. E.; KIM, K. S.; CHOI, H. C.; CHO, J.; KIM, I. S. Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying bacteria. **Water Science and Technology**, v. 12, n. 3-4, p.59-68, 2000.
- POKORNA, D.; ZABRANSKA, J. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 1246-1259, 2015.
- REYES-ÁVILA, J.; FLORES-RAZO, E.; GÓMEZ, J. Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. **Water Research**, v. 38, p. 3313-3321, 2004.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.
- ROCCA, C. D.; BELGIORNO, V.; MERIC, S. Heterotrophic/autotrophic denitrification (HAD) of drinking water: prospective use for permeable reactive barrier. **Desalination**, v. 210, p. 194-204, 2007.
- SAHINKAYA, E. Microbial sulfate reduction at low (8 °C) temperature using waste sludge as a carbon and seed source. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 3, p. 245-251, 2009.
- SAHINKAYA, E.; DURSUN, N.; KILIC, A.; DEMIREL, S.; UYANIK, S.; CINAR, O. Simultaneous heterotrophic and sulfur-oxidizing autotrophic denitrification process for drinking water treatment: Control of sulfate production. **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6661-6667, 2011.
- SAHINKAYA, E.; DURSUN, N. Sulfur-oxidizing autotrophic and mixotrophic denitrification processes for drinking water treatment: Elimination of excess sulfate production and alkalinity requirement. **Chemosphere**, v. 89, n. 2, p. 144-149, 2012.
- SAHINKAYA, E.; KILIC, A.; DUYGULU, B. Pilot and full scale applications of sulfur-based autotrophic denitrification process for nitrate removal from activated sludge process effluent. **Water Research**, v. 60, n. 1, p. 210-217, 2014.
- SAHINKAYA E.; KILIC A. Heterotrophic and elemental-sulfur-based autotrophic denitrification processes for simultaneous nitrate and Cr(VI) reduction. **Water Research**, v. 50, n.1, p. 278-286, 2014.
- SEARS, K.; ALEMAN, J. E.; BARNARD, J. L.; OLESZKIEWICZ, J. A. Impacts of reduced sulfur components on active and resting ammonia oxidizers. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 369-378, 20064.

SIERRA-ALVAREZ, R. ;BERISTAIN-CARDOSO, R.; SALAZAR, M.; GÓMÉZ, J., RAZO-FLORES, E.; FIELD, J. A. Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment. **Water Research**, v. 41, p. 1253-1262, 2007.

SOUZA, S. M.; ARAÚJO, O. Q. F.; COELHO, M. A. Z. Model-based optimization of a sequencing batch reactor for biological nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 8, p. 3213-3223, 2008.

SUN, Y.; NEMATİ, M. Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitrification for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 207-216, 2012.

TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATİ, M. Bacteria of the sulfur cycle: an overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, p. 73-94, 2009.

ZHANG, T.; SHAN, J. In situ septic tank effluent denitrification using a sulfur/limestone process. **Water Environmental Research**, v. 71, p. 1283-1291, 1999.

ZHOU, W.; SUN, Y.; WU, B.; ZHANG, Y.; HUANG, M.; MIYANAGA, T.; ZHANG, Z. Autotrophic denitrification for nitrate and nitrite removal using sulfur-limestone. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 11, p. 1761–1769, 2011.