

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

**ACLIMATAÇÃO DE BIOMASSA ANAMMOX® EM REATOR MABR VISANDO À
REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES**

TATIANE MARTINS DE ASSIS

CASCAVEL – PARANÁ – BRASIL

2021

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

TATIANE MARTINS DE ASSIS

**ACLIMATAÇÃO DE BIOMASSA ANAMMOX® EM REATOR MABR VISANDO À
REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Damasceno Gomes
Co-orientadores: Prof. Dr. Dagoberto Yukio Okada
Prof. Dr. Nicolas Roche

CASCAVEL – Paraná – Brasil

2021

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

Martins de Assis, Tatiane
ACLIMATAÇÃO DE BIOMASSA ANAMMOX® EM REATOR MABR VISANDO À
REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES /
Tatiane Martins de Assis; orientadora Simone Damasceno
Gomes; coorientador Dagoberto Yukio Okada. -- Cascavel,
2021.
105 p.

Tese (Doutorado Campus de Cascavel) -- Universidade
Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e
Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola,
2021.

1. Desamonificação. 2. Biofilme microbiano. 3. controle de
oxigênio. 4. água residuária de abatedouros. I. Damasceno
Gomes, Simone , orient. II. Yukio Okada, Dagoberto ,
coorient. III. Título.

TATIANE MARTINS DE ASSIS

ACLIMATAÇÃO DE BIOMASSA ANAMMOX EM REATOR MABR VISANDO À REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES

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



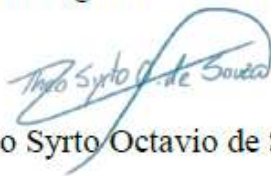
Orientador(a) - Simone Damasceno Gomes

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



Marina Celant de Prá

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)



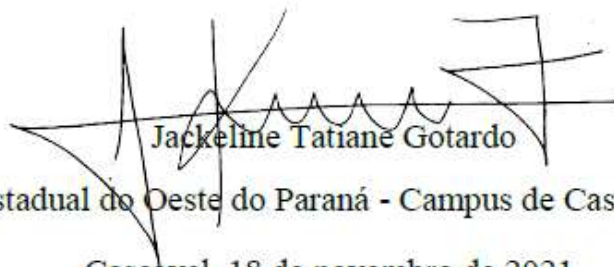
Theo Syrto Octavio de Souza

Universidade de São Paulo (USP)



Airton Kunz

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



Jackeline Tatiane Gotardo

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

Cascavel, 18 de novembro de 2021.

BIOGRAFIA

Nasceu em 20 de novembro de 1984, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso. Em 2010, tornou-se Engenheira Agrícola pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Em 2011, tornou-se Engenheira de Segurança do Trabalho pela Faculdade Assis Gurgacz. Em julho de 2013, concluiu o Mestrado em Engenharia Agrícola, na área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE.

Em fevereiro de 2018, ingressou no Doutorado em Engenharia Agrícola pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, na linha de pesquisa Saneamento Ambiental, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Simone Damasceno Gomes.

“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.”

Galileu Galilei

*Às mulheres fortes da minha família, em
agradecimento ao incentivo e inspiração, ao longo de toda a minha vida,
Fátima Villas Boas (mãe), Sílvia de Assis Villas Boas (avó materna)
e Aparecida Villas Boas (tia).*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, primeiramente, a Deus, pelo dom da vida, força e perseverança!

Quero agradecer à minha família, pelo apoio. Em especial, à minha mãe, Fátima Villas Boas; à minha tia, Aparecida Villas Boas; à minha avó, Silvia de Assis Villas Boas (mesmo que ela não se dê conta de que concluí meu doutorado, basta-me saber que ela sempre me acolheu quando eu precisei e isso é suficiente para todos os agradecimentos do mundo!); à minha prima, Sonia Mara Castilho Halabura e à Daiane Vanessa Souza (a quem considero minha irmã-melhor amiga). O apoio de vocês foi muito importante durante a execução do meu doutorado; muito obrigada de todo o meu coração!

Agradeço à Professora Simone Damasceno Gomes, pela amizade e orientação ao longo do doutorado e durante toda a minha jornada acadêmica. Profe, você será minha eterna orientadora, te admiro muito! Do mesmo modo, agradeço aos Professores Coorientadores, Dagoberto Yukio Okada e Nicolas Roche, pelos conselhos e contribuições científicas.

Faço um agradecimento especial às minhas amigas e colegas de laboratório, Aruani L.S. Tomoto, Ana Paula Trevisan Lied, Thays Araujo, Luana Marcante e Diane Maschio, pelo apoio e parceria de laboratório, bem como por todos os outros momentos em que dividimos desabafos, angústias e risadas. Quero agradecer à Bel (Rosebel Trindade Cunha Prates), por cada palavra de carinho que ouvi de você; construí contigo uma amizade muito bonita, Bel, obrigada!

Agradeço, também, de forma especial, aos Pais da Aruani, Maria e Paulo Tomoto, pelas vezes em que me receberam com tanto carinho em sua casa, em Guarulhos-SP.

Estendo meus agradecimentos aos demais colegas de doutorado e aos Professores da Pós-graduação, que contribuíram muito para a minha formação.

Agradeço, de forma muito especial, aos alunos de iniciação científica, que me acompanharam; em primeiro lugar (meu primeiro pupilo), Luiz Felipe Gomes Ferreira e a Julia Elizabeth Martins (que chegou um pouco depois, mas teve igual importância na rotina intensa de trabalhos do meu doutorado). Vocês tinham o papel de aprender comigo, mas foram fundamentais na execução desta tese; obrigada pela ajuda, bom humor e dedicação!

Aos funcionários da Unioeste, também deixo meus agradecimentos, em especial, ao Edison da Cunha, por compartilhar seu conhecimento comigo; ao Euro Kava, por todo suporte no laboratório de reatores; à Tatiana Borges, pelo apoio

administrativo junto à coordenação da pós-graduação; e ao Valdomiro (Segurança da Unioeste), pelo cuidado que teve comigo enquanto eu trabalhei sozinha no Bloco H, durante a pandemia.

Quero destacar alguns nomes da Família Unioeste que, ao longo da minha vida, foram muito especiais: Jantira, Neusa, Edineia e Rosângela (as lindas da biblio), Rejane, Marta, Edite e Sandra Koerich (funcionárias e amigas). Vocês apoiaram e apoiam a mim e à minha mãe; compartilharam conosco felicidades e dificuldades. Pela amizade de vocês, sou muito grata!

No meu período de estudos na França, passei por desafios pessoais muito grandes e algumas pessoas foram muito importantes. Eu gostaria, aqui, de registrar meus agradecimentos: à Prof. Giana Gotze (Professora de Francês e amiga querida), à Mayra, Marília e Yeasul, amigas que eu fiz na França e que estiveram comigo nos dias mais difíceis que passei por lá.

Quero deixar registrados meus agradecimentos a essa instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, que, mais do que uma Universidade, foi minha casa, durante a minha graduação, mestrado e doutorado. Tenho orgulho da minha história dentro dessa Universidade e sou muito grata por isso.

Foi pelas portas da Unioeste que pude ser recebida na França, na Escola de Doutorado em Ciências Ambientais da Aix Marseille Université - AMU (Ed.251) e no CEREGE – Centro Europeu de Pesquisas em Educação, Meio Ambiente e Geociências, aos quais também deixo meus agradecimentos.

Por fim, agradeço aos órgãos de fomento à pesquisa: Capes e Campus France/Paris, pelas bolsas de estudo concedidas durante o meu doutorado.

“A gratidão é um sentimento de amor que eleva o espírito e nos une a Deus” (Zibia Gasparetto). É assim que me sinto ao concluir meu doutorado: grata, leve e cheia de esperanças, confiante no futuro melhor que está por vir! Obrigada a todos!

ACLIMATAÇÃO DE BIOMASSA ANAMMOX[®] EM REATOR MABR VISANDO À REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES

RESUMO

Assis, Tatiane Martins de. **Aclimação de biomassa Anammox[®] em reator MABR visando à remoção de nitrogênio de efluente de abatedouro de aves**. Orientadora: Simone Damasceno Gomes; Coorientadores: Dagoberto Yukio Okada e Nicolas Roche. 2021. 108f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – Paraná, 2021.

As pesquisas em processos avançados de remoção de Nitrogênio, como a via da desamonificação, são especialmente interessantes em regiões de alta densidade de abatedouros que geram grande volume de efluentes concentrados em nitrogênio. Existem lacunas investigativas relacionadas às fontes de biomassa e reatores robustos que possam promover um rápido *start-up* desse processo. A presente pesquisa objetivou enriquecer biomassa Anammox[®] em reatores de biofilme aerado por membrana (MABR), que realizaram o processo de desamonificação (nitritação parcial/atividade Anammox em um único reator), alimentados em batelada sequencial (MABR-BS) e em fluxo contínuo. O reator MABR é um reator que conta com membrana interna de silicone microporosa, em que a saída de ar de membrana foi afogada em uma coluna de água para aumentar a pressão no ar, liberando oxigênio no interior do reator e na parte externa membrana se desenvolve o biofilme. A metodologia foi dividida em 3 etapas: i) Enriquecimento da biomassa em reatores MABR em batelada sequencial; ii) Com base no melhor resultado da etapa anterior, a mesma fonte de lodo foi utilizada para inocular um reator MABR de fluxo contínuo; iii) A biomassa enriquecida nas etapas (i) e (ii) foi utilizada na inoculação do mesmo reator MABR de fluxo contínuo usado na etapa anterior, que passou a ser alimentado com efluente de abate de aves. Na etapa (i) foram utilizadas três fontes de lodo: 1) Reator UASB que trata esgoto doméstico; 2) ETE-lixiviado de aterro sanitário; e 3) ETE-efluentes de abate suíno. Foram estudadas 3 cargas volumétricas de nitrogênio (CVN), sendo elas: 0,005; 0,0083 e 0,025 Kg_N.m⁻³.d⁻¹, em condições controladas de temperatura e agitação em 32°C e 30 rpm. Na etapa (ii) o MABR com alimentação contínua foi testado com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 5, 3 e 1 dia (CVN: 0,02, 0,01 e 0,1 Kg_N.m⁻³.d⁻¹) alimentado com efluente sintético. O reator tinha recirculação na razão 1:1, sendo mantidos em temperatura controlada em 32°C, e pH entre 7,5 a 8,5. Na etapa (iii) um MABR foi alimentado com efluente coletado na saída da lagoa anaeróbia de um abatedouro localizado na região Oeste do Paraná, sendo testados os TDH de 24, 16 e 12 h. Na primeira etapa, todos os reatores estabeleceram à atividade Anammox[®], sendo essa atividade notada a partir de 20 dias de operação. O melhor desempenho de remoção de N, foi do reator inoculado com lodo anaeróbio de ETE-esgoto doméstico. Esse mesmo lodo foi usado na inoculação do reator da etapa (ii), onde a atividade Anammox[®] foi inicialmente constatada, porém por conta de um choque de alcalinidade no meio, o reator perdeu estabilidade, necessitando passar por re-inoculação. Na etapa (iii) o reator em 8 dias atingiu a adaptação ao efluente, com TDH de 24h, com 91% de eficiência média na remoção de N, demandando apenas a correção da alcalinidade. Os objetivos da pesquisa foram atingidos, todos os reatores desenvolveram bactérias Anammox[®] (*Candidatus Anamoxiglobulus Propionicus*), sendo o destaque o reator R1 UASB.An.

Palavras-chave: Desamonificação. Biofilme microbiano. Controle de oxigênio. Água residuária de abatedouros.

ACCLIMATION OF ANAMMOX[®] BIOMASS IN MABR REACTOR AIMING TO REMOVE NITROGEN FROM POULTRY SLAUGHTER WASTEWATER

ABSTRACT

Assis, Tatiane Martins de. **Acclimation of Anammox[®] biomass in MABR reactor aiming to remove nitrogen from poultry slaughter wastewater**. Advisor: Simone Damasceno Gomes; Co-Advisors: Dagoberto Yukio Okada e Nicolas Roche. 2021. 108f. Thesis (PhD Programme in Agricultural Engineering) – Western Paraná State University, Cascavel – Paraná, 2021.

Research into advanced nitrogen removal processes, such as the deammonification pathway, is particularly interesting in regions with high slaughterhouse density that generates a large volume of nitrogen-concentrated effluents. There are investigative gaps related to biomass sources and robust reactors that can promote a rapid start-up of this process. The present research aimed to enrich Anammox[®] biomass in membrane-aerated biofilm reactors (MABR), which carried out the deammonification process (partial nitrification/Anammox activity in a single reactor), fed in sequencing batch (MABR-BS) and continuous flow. The MABR is a reactor with an internal microporous silicone membrane, where air circulates inside and the end of membrane stayed emerged in a water column, under over pressure that makes the air get out to membrane microporous, and the biofilm is developed outside. The methodology was divided into three steps: i) Biomass enrichment in sequential batch MABR reactors; ii) With the best result from the previous step, the same sludge source was used to inoculate a continuous flow MABR reactor; iii) The biomass enriched in stages 1 and 2 was used in the inoculation of the same reactor as in stage ii, which is then fed with effluent from poultry slaughter. In step (i), three sources of sludge were used: 1) UASB reactor, which treats domestic sewage; 2) ETE-landfill leachate; and 3) ETE-slaughter effluents. Three nitrogen loading rates (NLR) were studied, namely: 0.005; 0.0083 and 0.025 KgN.m⁻³.d⁻¹, under controlled conditions of temperature and agitation at 32°C and 30 rpm. In step (ii), the MABR with continuous feed was tested with hydraulic detention time (TDH) of 5, 3, and 1 day (NLR: 0.02, 0.01, and 0.1 KgN.m⁻³.d⁻¹) fed with synthetic effluent. The reactor was recirculated in a 1:1 ratio, kept at a controlled temperature of 32°C, and pH between 7.5 and 8.5. In step (iii), an MABR was fed with effluent collected at the exit of the stabilization anaerobic pond of a slaughterhouse located in the western region of Paraná, and the TDH of 24, 16, and 12 h were tested. In the first stage, all reactors reached Anammox[®] activity, noticed after 20 days of operation; the best N removal performance was in the reactor inoculated with anaerobic sludge from ETE-domestic sewage. This same sludge was used in step (ii), in which the Anammox[®] activity was initially verified, but due to the alkalinity shock in the medium, the reactor lost stability, and re-inoculation was necessary. In step (iii), the reactor adapted to the wastewater within eight days, with a TDH of 24 hours, with 91% of average efficiency in N removal, requiring only alkalinity correction. The research objectives were achieved; all reactors developed Anammox[®] bacteria (*Candidatus Anamoxiglobulus Propionicus*), and the R1 UASB reactor was a highlight in this process.

Keywords: Deammonification, Microbial Biofilm, Oxygen Control, Slaughterhouse Wastewater.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. Hipóteses e Objetivos	21
2.1 Hipótese e Objetivo Geral	21
2.1.1 Sub-hipóteses e Objetivos Específicos	21
Fluxograma da Tese	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1. Remoção biológica de Nitrogênio em Meio Aquoso	24
3.2 Nitrificação e Desnitrificação	26
3.3 Processo de desamonificação e seus desafios	29
3.4 Fatores de importância no processo de Desamonificação	30
3.4.1 Temperatura	30
3.4.2 Oxigênio Dissolvido.....	31
3.4.3 Compostos orgânicos	32
3.4.4 pH e Alcalinidade	33
3.4.5 Toxicidade do Nitrito aos microrganismos Anammox®	34
3.5 Reator de Desamonificação com Biofilme Aerado por Membrana (MABR)	34
3.6 A problemática ambiental associada aos Efluentes de abate avícola.....	38
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ARTIGO 1: REATORES DE BIOFILME AERADO POR MEMBRANA OPERADO EM BATELADA SEQUENCIAL (MABR-BS) PARA ENRIQUECIMENTO DE MICRORGANISMOS ANAMMOX® A PARTIR DE AERÓBIOS E ANAERÓBIOS ..	49
Resumo	49
1 Introdução.....	49
2. Material e Métodos.....	52
2.1 Configuração dos reatores	52
2.2 Fontes de inóculo.....	53
2.3 Alimentação sintética	54
2.4 Procedimento operacional.....	54
2.5 Métodos analíticos físico-químicos.....	55
2.6 Avaliação temporal do consumo de oxigênio dissolvido	56
2.7 Biologia molecular.....	56
2.8 Teste de comparação estatística entre os reatores	57
3 Resultados e Discussão.....	57
3.1 Partida dos reatores e análise do comportamento-temporal	57

3.2. Avaliação temporal do consumo de oxigênio dissolvido no biofilme aerada por membrana de silicone	67
3.3 Avaliação microbiológica.....	70
3.4 Comparação final entre os reatores	74
4 Conclusões	75
5 Referências Bibliográficas.....	76
ARTIGO 2: DESAMONIFICAÇÃO DE EFLUENTE SINTÉTICO E EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES EM REATOR CONTÍNUO MABR.....	81
Resumo	81
1 Introdução.....	81
2 Material e Métodos	84
2.1 Aparato experimental.....	84
2.2 Condução do experimento	86
2.2.1.2 Inoculação do Reator MABR de Fluxo Contínuo	87
2.2.1.3 Alimentação do reator	87
2.2.1.4 Estratégias usadas na recuperação do reator frente aos momentos de inibição das bactérias Anammox®	87
2.3 Análises físico-químicas.....	89
2.4 Cálculo da Eficiência de Remoção de Nitrogênio.....	89
3 Resultados e Discussão.....	90
3.1 Resultados da Etapa 1: Enriquecimento de bactérias Anammox®.....	90
4 Conclusões	103
5 Referências Bibliográficas.....	106
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
6 PERSPECTIVAS PARA FUTURAS PESQUISAS.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Comparativo histórico na evolução do mercado de produção e abate de aves de 1999 a 2020.	38
Tabela 2 Condições ideais para ANAMMOX® em comparação com efluente de abate avícola.....	40
ARTIGO 1: REATORES DE BIOFILME AERADO POR MEMBRANA EM BATELADA SEQUENCIAL (MABR-BS) PARA ENRIQUECIMENTO DE MICRORGANISMOS ANAMMOX® A PARTIR DE LODOS DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO CONVENCIONAIS EM REATORES	49
Tabela 1. Detalhamento das condições de micro-aeração de acordo com o TC e CVN testadas no experimento.	55
Tabela 2 Parâmetros avaliados na caracterização do lodo e na atividade ANAMMOX® durante o experimento.	55
Tabela 3 Caracterização físico-química dos lodos coletados nas três estações de tratamento de efluentes, Reator UASB que trata esgoto sanitário municipal, Lagoas de Estabilização que tratam lixiviado de aterro sanitário e Lagoas de Estabilização que tratam água residuária de abate suíno.	57
Tabela 4 Tabela-resumo com os percentuais de remoção de nitrogênio, incremento médio de nitrito e nitrato no descarte de efluente dos reatores, alcalinidade consumida/nitrogênio amoniacal removido e concentração final de carbono orgânico em cada carga volumétrica de nitrogênio estudada.....	62
Tabela 5. Tabela resumo do comportamento dos 6 reatores estudados em cada carga volumétrica de nitrogênio aplicada em relação ao pH, alcalinidade parcial, alcalinidade total e carbono orgânico total.....	64
Tabela 6 Tabela das condições iniciais e finais de pH e valor de sólidos suspensos voláteis do ensaio de respirometria realizado ao final das 3 condições de CVN aplicadas aos reatores.	67
Tabela 7 Comparação estatística entre os reatores quanto à remoção global de nitrogênio.	74
ARTIGO 2: ENRIQUECIMENTO DE BIOMASSA E RECUPERAÇÃO DE ATIVIDADE ANAMMOX® EM REATOR CONTÍNUO MABR.....	81
Tabela 1 Detalhamento das condições experimentais de acordo com o TDH, CVN e aeração intermitente.....	86
Tabela 2 Estratégias de recuperação do reator ANAMMOX® MABR contínuo de acordo com o estágio temporal de operação.....	87
Tabela 3 Caracterização do lodo utilizado na inoculação do reator MABR de fluxo contínuo para enriquecimento Anammox®.....	90
Tabela 4 Valores médios que representam o comportamento do reator com relação aos parâmetros Consumo de Alcalinidade / Consumo de Nitrogênio Amoniacal, pH e presença de carbono orgânico nas três cargas aplicadas no reator.	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado do ciclo do nitrogênio em ecossistemas aquáticos.. 26		
Figura 2 Via metabólica da oxidação anaeróbia da amônia.	30	
Figura 3 Representação esquemática do processo de transferência de massa de ar ocorrido no sistema MABR. Adaptado de (ETA-INC, 2021).....	37	
Figura 4 (A) Densidade Georreferenciada dos Abatedouros Avícolas no Estado do Paraná segundo o SINDIAVIAPAR (2017); (B) Descrição Georreferenciada das bacias hidrográficas do Paraná segundo IAT-PR (2021).....	40	
ARTIGO 1: REATORES DE BIOFILME AERADO POR MEMBRANA EM BATELADA SEQUENCIAL (MABR-BS) PARA ENRIQUECIMENTO DE MICRORGANISMOS ANAMMOX® A PARTIR DE LODOS DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO CONVENCIONAIS EM REATORES		49
Figura 1 Detalhamento do aparato experimental MABR em Batelada Sequencial. ..	52	
Figura 2 Comportamento Temporal dos Reatores em função da Carga Volumétrica de Nitrogênio (CVN) aplicada, para os TDH de 5, 3 e 1 dia, respectivamente.....	59	
Figura 3. Comportamento Temporal dos reatores com relação aos coeficientes estequiométricos de maior importância para atividade Anammox® (moles de nitrato e nitrogênio gasoso gerados e moles de oxigênio consumido por mol de nitrogênio amoniaco transformado) em comparação com os coeficientes teóricos.	66	
Figura 4 Comportamento de consumo de oxigênio dissolvido e saturação de oxigênio no meio líquido dos reatores.	68	
Figura 5 Abundância relativa das bactérias encontradas nos reatores anaeróbios por sequenciamento em plataforma MiSeq, usando primer universal (341R-806F).....	71	
Figura 6 Gráfico box-plot com os dados gerais de remoção de N (%) dos seis reatores estudados.	75	
ARTIGO 2: ENRIQUECIMENTO DE BIOMASSA E RECUPERAÇÃO DE ATIVIDADE ANAMMOX® EM REATOR CONTÍNUO MABR		81
Figura 1 Esquema representativo do sistema que compõe o aparato experimento MABR Anammox® de fluxo contínuo.	85	
Figura 2 Esquema representativo de um sistema de biofilme aerado por membrana (MABR) com adaptação para reatores Anammox®.....	86	
Figura 3 Comportamento temporal do reator MABR contínuo em relação às formas nitrogenadas $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$ e remoção Total de N, bem como os eventos E1: Reator alimentado em batelada, E2: Choque de pH básico (pH=11) e E3: Re- inoculação com biomassa Anammox® de outro reator.....	91	
Figura 4 Comportamento temporal do reator MABR contínuo em relação as formas nitrogenadas $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$ e remoção de Total de N, após o evento E3: Re-inoculação com biomassa Anammox®.....	94	
Figura 5. Estágios visuais da biomassa enriquecida no reator MABR contínuo. (a) biomassa coletada no descarte de lodo de um reator UASB-ETE Urbana, usado na inoculação do reator. (b) sinais de enriquecimento Anammox®, com mudança de coloração da biomassa após 60 dias de operação. (c) aspecto da biomassa após o		

choque em pH alcalino. (d) biomassa retirada do fundo do reator no dia da re- inoculação (E3).....	96
---	----

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal

AHL's – Acil-Homoserina Lactonas

ANAMMOX[®] – Anaerobic Ammonium Oxidation

AP – Alcalinidade Parcial

AT – Alcalinidade Total

BOA – Bactérias Oxidadoras de Amônia

BON – Bactérias Oxidadoras de Nitrito

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada/Esalq - USP

COT – Carbono Orgânico Total

CVN – Carga Volumétrica de Nitrogênio

DNRA - Redução dissimilatória de nitrato em amônio;

ETE – Estação de Tratamento de Efluentes

ERN – Eficiência de Remoção de Nitrogênio

FBN – Fixação biológica de nitrogênio

LA – Lodo Anaeróbio

LM – Lodo Misto

MABR – Membrane Aerated Biofilm Reactor

N/D – Nitrificação/Desnitrificação

NOD – Nitrogênio orgânico dissolvido

NOP – Nitrogênio orgânico particulado

NP/A – Nitritação Parcial/ANAMMOX[®]

QS – *Quorum Sensing*

TDH – Tempo de Detenção Hidráulica

1. INTRODUÇÃO

A tecnologia Anammox[®], do inglês *Anaerobic Ammonium Oxidation/Oxidação Anaeróbia do Ion Amônio*, trata-se da utilização de uma via simplificada na remoção biológica de nitrogênio.

Usando a rota metabólica Anammox[®], os substratos amônio e nitrito são diretamente transformados em N₂, por bactérias autotróficas do filo dos *Planctomycetos*, em ambiente anóxico/anaeróbio, gerando uma pequena quantidade de nitrato residual (STROUS *et al.*, 1998). Essa via vem ganhando destaque no cenário nacional e internacional, devido a suas vantagens expressivas quando comparadas às vias convencionais.

Os sistemas convencionais de remoção de nitrogênio, em sua maioria, como os sistemas de lodos ativados, entre outros, removem o nitrogênio por meio dos processos de amonificação, nitrificação completa autotrófica aeróbia e desnitrificação completa heterotrófica anóxica. A desnitrificação pela via heterotrófica usa fontes de carbono orgânico, como doadores de elétrons, demandando, em casos de insuficiência do efluente a ser tratado, fontes externas de carbono.

Esses sistemas geralmente ocupam grandes espaços físicos e o desprendimento de gases efetiva-se ao ar livre. São, portanto, grandes geradores de poluentes atmosféricos. Os gases mais comuns liberados em Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) são: dióxido de carbono, metano, óxido nitroso, gás sulfídrico, entre outros gases de efeito estufa. As ETE convencionais geram, ainda, um volume excessivo de lodo que acaba se tornando outro passivo ambiental.

As bactérias do filo dos *Planctomycetos*, quando cultivadas em reatores de fase única, são dependentes do processo de nitrificação parcial. Esse processo gera NO₂⁻ como substrato complementar ao nitrogênio amoniacal. O efluente, portanto, fica na relação estequiométrica molar (NH₄⁺:NO₂⁻), necessária para a remoção final de nitrogênio na forma gasosa.

Weißbach *et al.* (2017), em publicação junto à *Royal Society of Chemical/Sociedade Real de Química*, sugere a padronização internacional das nomenclaturas utilizadas para a Remoção Biológica de Nitrogênio (RBN). Os autores enfatizam que, quando a RBN ocorre em ambiente anóxico, com base no processo registrado e patenteado como Anammox[®], ou seja, as moléculas de nitrito e nitrogênio amoniacal são transformadas de forma simultânea e direta em nitrogênio gasoso, deve-se utilizar o termo Desamonificação.

O termo Anammox[®], por sua vez, foi registrado em 1995, por Mulder e colaboradores. O processo fez referência a um reator de enriquecimento de bactérias do filo dos *Planctomicetos*, que era alimentado com efluente sintético, já parcialmente nitrificado. Isso implica dizer que as bactérias, assim denominadas como de atividade Anammox[®], não enfrentavam um ambiente com presença de oxigênio necessário à nitrificação parcial, sendo essa a diferença fundamental entre os processos Anammox[®] e a desamonificação.

A via da desamonificação apresenta como vantagens centrais sistemas mais compactos, redução na geração de lodo, menor emissão de gases de efeito estufa, podendo a redução na geração de óxido nitroso chegar a 83% e redução expressiva na necessidade de aeradores, a qual representa uma diminuição no consumo de energia em até 28% (MORALES *et al.*, 2015; SANCHEZ, 2016; STROUS *et al.*, 1998).

Embora já seja relatada, na literatura, uma quantidade considerável de reatores tanto de desamonificação quanto de atividade Anammox[®] em escala plena, são localizados principalmente na Europa e Ásia (ZHANG *et al.*, 2017). As pesquisas no Brasil ainda são escassas e conseguir biomassa robusta para inocular reatores de maiores escalas é um desafio grande dessa área de pesquisa. Diante disso, investigar o processo de enriquecimento de biomassa Anammox[®] faz parte do escopo desta tese.

São relatadas, na literatura, diversas fontes naturais de bactérias Anammox[®], entre as quais estão as plantas de tratamento de resíduos domésticos, agroindustriais ou da produção animal (KUNZ *et al.*, 2008; TANG, *et al.*, 2011; AUGUSTO *et al.*, 2018; SALEEM *et al.*, 2018; GUPTA *et al.*, 2019).

Ainda hoje, a *start-up* de reatores Anammox[®] segue sendo um processo desafiador, pois se trata de bactérias de replicação lenta (11 a 2,6 dias). Apresentam fragilidades diante de vários fatores, como pH extremos, ácidos e básicos, baixas temperaturas (inferiores a 15°C), presença de oxigênio dissolvido, intoxicação por nitrito e afinidade ao substrato amônia (ZANG *et al.*, 2017, ZHU *et al.*, 2008).

Diante das fragilidades citadas, diversos autores relatam longos períodos de partida de reatores de desamonificação ou de atividade Anammox[®]. Tang *et al.* (2011) relatam 214 dias; Gupta *et al.* (2019) 119 dias; Casagrande *et al.* (2011) 110 e 170 dias, para os dois reatores do estudo.

Reatores de desamonificação (fase única) acumulam duas funções, as quais são promover a nitrificação parcial, realizada por bactérias oxidadoras de amônia (BOA), gerando nitrito. Promover a remoção final do amônio e nitrito a N₂ pela via Anammox[®].

O método de fornecimento de oxigênio tem um papel chave no controle da dupla função dos reatores de fase única. Ele é responsável pela simbiose entre microrganismos aeróbios (formadores de nitrito) e Anammox[®], que são anaeróbios,

porém, possuem tolerância a baixas concentrações de OD ($\sim 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$) (STROUS *et al.*, 1998).

Os reatores do modelo MABR (biofilme aerado por membrana) têm demonstrado bons resultados nessa simbiose (BOA/Anammox®). Esses sistemas usam a tecnologia de membranas microporosas, em materiais, como o silicone, que atua como meio de transporte e dispersão do OD. Desse modo, é disperso nos reatores apenas OD suficiente para a nitrificação parcial (BUNSE *et al.*, 2020).

A membrana de silicone, usada nos reatores MABR, por sua baixa porosidade, possibilita que a concentração de OD seja próxima de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Essa característica permite que as bactérias nitrificantes, presentes no lodo, formem um biofilme aderido à membrana, em que geralmente ocorre a nitrificação parcial (AUGUSTO *et al.*, 2018).

A região Oeste do Paraná consiste em um polo agroindustrial de criação e abate de aves. Por sua vez, o efluente de abate avícola, sendo concentrado em nitrogênio, é considerado preocupante para a região, pois a alta densidade de abatedouros, em uma mesma bacia, pode acabar comprometendo a sua capacidade de suporte. Por essa razão, o efluente de abatedouro avícola faz parte do escopo desta tese, que também busca trazer uma vantagem ambiental significativa para a região Oeste do Paraná.

Diante do apresentado, este estudo tem o objetivo central de promover a desamonificação, dividindo o experimento em três fases: i) investigar a existência de microrganismos Anammox® em três ETEs da região Oeste do Paraná (ETE - Esgoto Doméstico, ETE Lixiviado de Aterro Sanitário e ETE - Efluente de Abate Suíno, coletado em unidades aeróbias e/ou parcialmente aeróbia (escuma sobrenadante de reator anaeróbio) e unidades anaeróbias); ii) enriquecer a biomassa coletada, em reatores MABR, em batelada sequencial (volume útil dos reatores de 500mL) e o melhor resultado de enriquecimento ser aplicado em um MABR operado em fluxo contínuo (com volume útil de 2,0L); e iii) avaliar o comportamento do reator MABR de desamonificação em fluxo contínuo ao ser alimentado com efluente de abate de aves, coletado na saída da lagoa anaeróbia de uma ETE industrial de um abatedouro avícola da região Oeste do Paraná.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 Hipótese e Objetivo Geral

A hipótese geral da pesquisa admite que todos os locais de onde foram coletadas as amostras de lodo, para inoculação dos reatores, possuem microrganismos Anammox[®] e admite que as configurações dos reatores MABR em batelada sequencial e fluxo contínuo são capazes de promover o enriquecimento de microrganismos do filo dos *Planctomicetos* e a desamonificação.

Nesse âmbito, o objetivo geral foi promover o enriquecimento de biomassa Anammox[®], a remoção de nitrogênio de efluente sintético e efluente de abatedouro e frigorífico de aves, utilizando reatores MABR com aeração intermitente, em batelada sequencial e em fluxo contínuo por meio da desamonificação.

2.1.1 Sub-hipóteses e Objetivos Específicos

Sub-hipótese 1: Essa sub-hipótese admite que são fontes de bactérias Anammox[®] os lodos anaeróbios e aeróbios e/ou espuma de reator, no caso da estação de tratamento de esgoto (Cascavel-PR), e lodo anaeróbio e aeróbio do sistema de tratamento de lixo do aterro sanitário (Cascavel-PR) e do sistema de tratamento de efluentes de uma agroindústria abatedora de suínos (Medianeira-PR).

Essa sub-hipótese se aplicou aos objetivos específicos 1 e 2.

1. Enriquecer a biomassa Anammox[®] a partir de lodos anaeróbios e mistos (anaeróbio/aeróbio e/ou espuma), nos reatores MABR, em batelada sequencial, com aeração intermitente (fase I);

2. Enriquecer a biomassa Anammox[®], em reator MABR de fluxo contínuo, com aeração intermitente e recirculação da fase líquida, inoculado com o lodo que obtiver maior velocidade de partida na fase I (fase II);

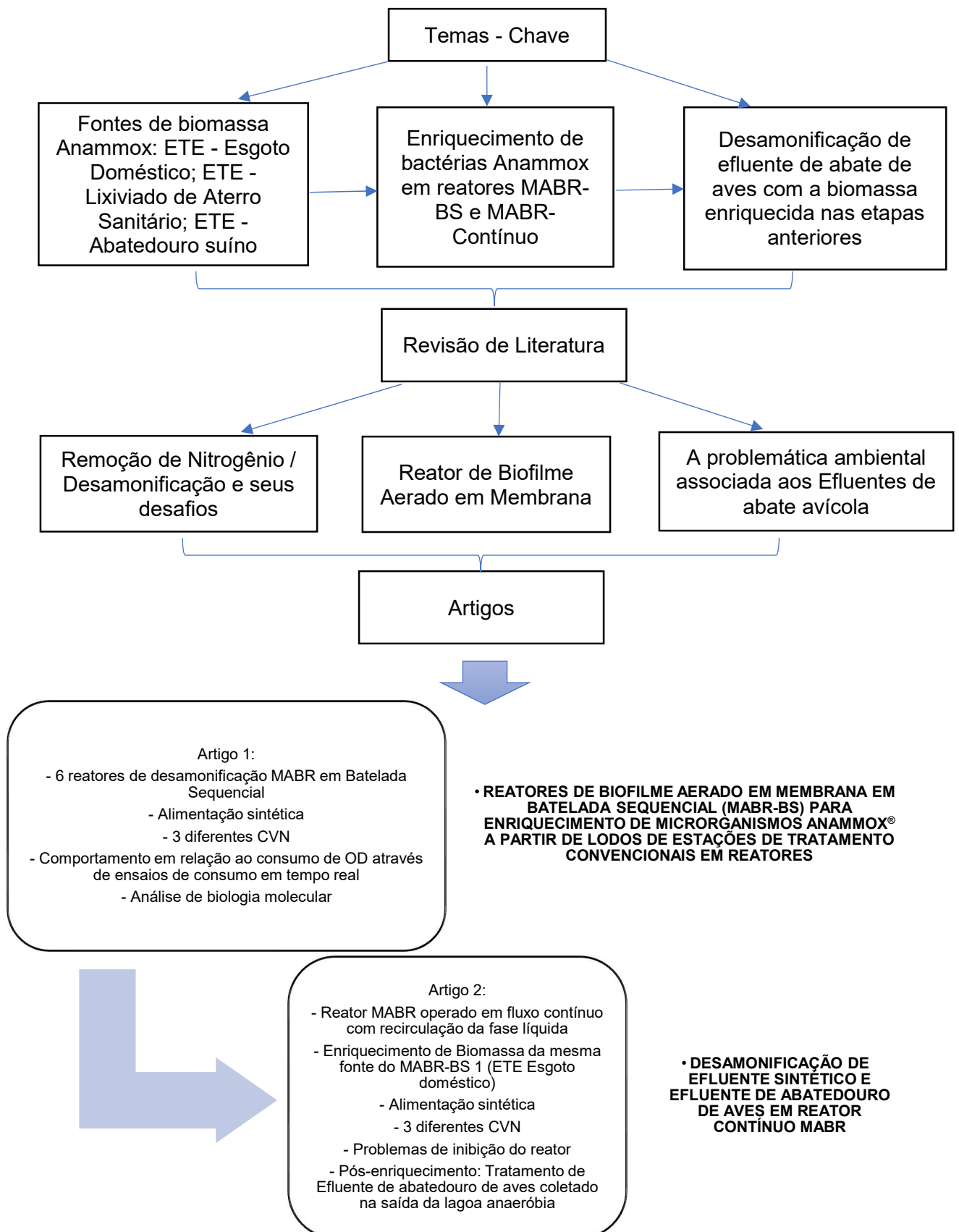
Sub-hipótese 2: Os modelos de reator MABR contínuo e batelada sequencial são capazes de manter a estabilidade no processo de desamonificação, mesmo com variações de carga e da composição do afluente.

Essa sub-hipótese se aplicou aos objetivos específicos 3 e 4.

3. Avaliar o efeito do aumento da carga de nitrogênio na eficiência da desamonificação em todos os reatores;

4. Avaliar o desempenho do reator MABR, em fluxo contínuo, quando alimentado com efluente de abatedouro e frigorífico de aves (fase III);

Fluxograma da Tese



3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Remoção biológica de Nitrogênio em Meio Aquoso

O nitrogênio (N) é um nutriente essencial requerido por todos os organismos vivos. Está presente em todas as moléculas de proteínas, ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares tanto animais quanto vegetais (FARIA, 2017).

Por essa abundância de N em todas os processos de decomposição e consequente aporte de nitrogênio nos efluentes, o processo de remoção de N é um passo importante na preservação ambiental. A remoção de N, em meio aquoso, é fundamental para evitar passivos ambientais, como eutrofização de corpos hídricos e doenças associadas à ingestão de água contaminada por esse composto (GOMES *et al.*, 2000).

Na Figura 1, apresenta-se o processo de degradação de moléculas de matéria orgânica complexa e transformações biológicas moleculares do nitrogênio. É possível observar os processos oxidativos necessários para o nitrogênio orgânico chegar à formação amônio (MADIGAN *et al.*, 2010).

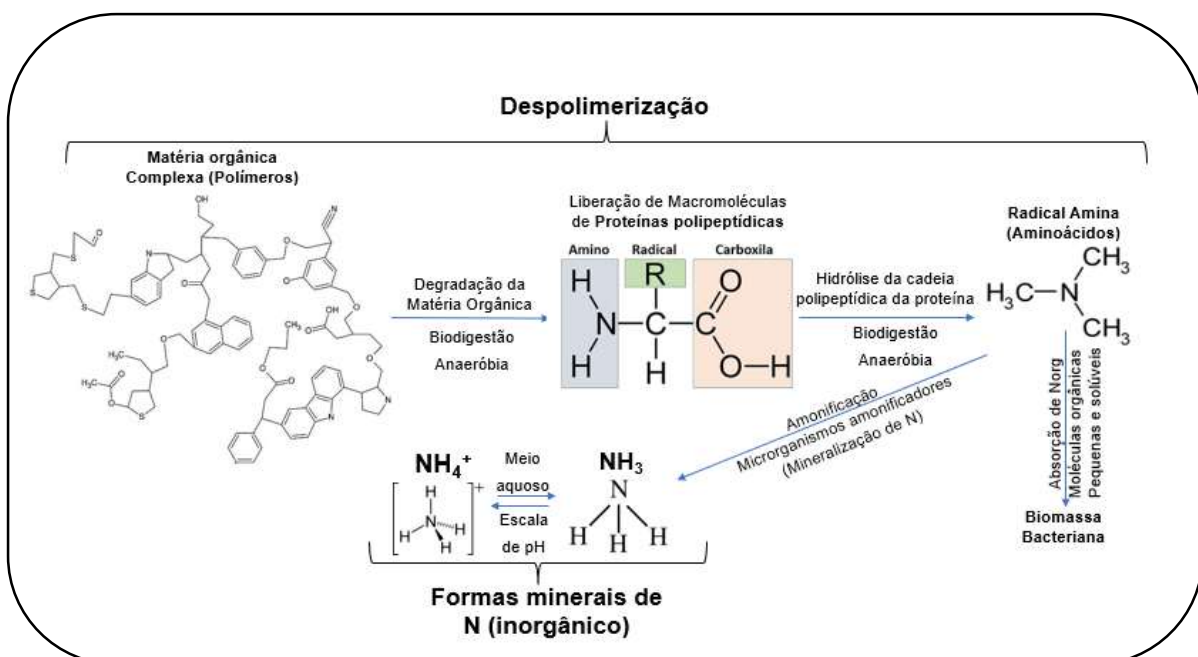


Figura 1. Fluxograma construído baseado em processos bioquímicos descritos em Faria (2017) e Madigan *et al.*, (2010). Degradação da matéria orgânica até a liberação do íon amônio em meio aquoso.

Faria (2017) comenta que os processos complexos de hidrólise da matéria orgânica até a amonificação completa são realizados por diversos microrganismos,

como fungos, bactérias, arqueias, entre outros. A amonificação pode ser representada pela estequiometria da Equação 1.

Reação de amonificação



Uma vez o nitrogênio amonificado em meio líquido, dois processos podem ocorrer. Na forma amônia (NH_3), o nitrogênio pode ser perdido para o ambiente por volatilização (*stripping* de amônia) e, na forma de íon amônio (NH_4^+), o nitrogênio torna-se substrato para a sua remoção biológica (FARIA, 2017).

A remoção biológica do íon amônio pode acontecer por meio de diversas vias, sendo as mais importantes (MULDER *et al.*, 1995; METCALF&EDDY, 2003; WEIßBACH *et al.*, 2017):

- Nitrificação autotrófica aeróbia, seguida de desnitrificação heterotrófica anóxica (Nitrificação-Desnitrificação completa);
- Desamonificação, que é baseada nos processos simultâneos de nitrificação parcial quimiotrófica em ambiente aeróbio, realizada por bactérias oxidadoras de amônia (BOA). As BOAs têm como função fornecer nitrito como substrato adicional para processo de remoção de NH_4^+ , realizado por bactérias quimiolitotróficas anóxicas do filo dos *Planctomicetos*, em que o nitrito é o acceptor final de elétrons; e
- A via Anammox[®], em que é fornecido, em ambiente anóxico, substrato balanceado na relação amônio: nitrito de 1:1,32 (relação molar); a remoção final das duas formas nitrogenadas efetiva-se por meio de bactérias quimiolitotróficas do filo dos *Planctomicetos*, sendo, como anteriormente comentado, o nitrito o acceptor final de elétrons.

O ciclo do nitrogênio (amonificado) em meio aquoso, é apresentado na Figura 2 (Banu *et al.*, 2021). Nela, são especificados os processos de fixação do nitrogênio (transferência da forma gasosa N_2 , para formas assimiláveis), nitrificação e desnitrificação, bem como o processo de Desamonificação/Anammox[®].

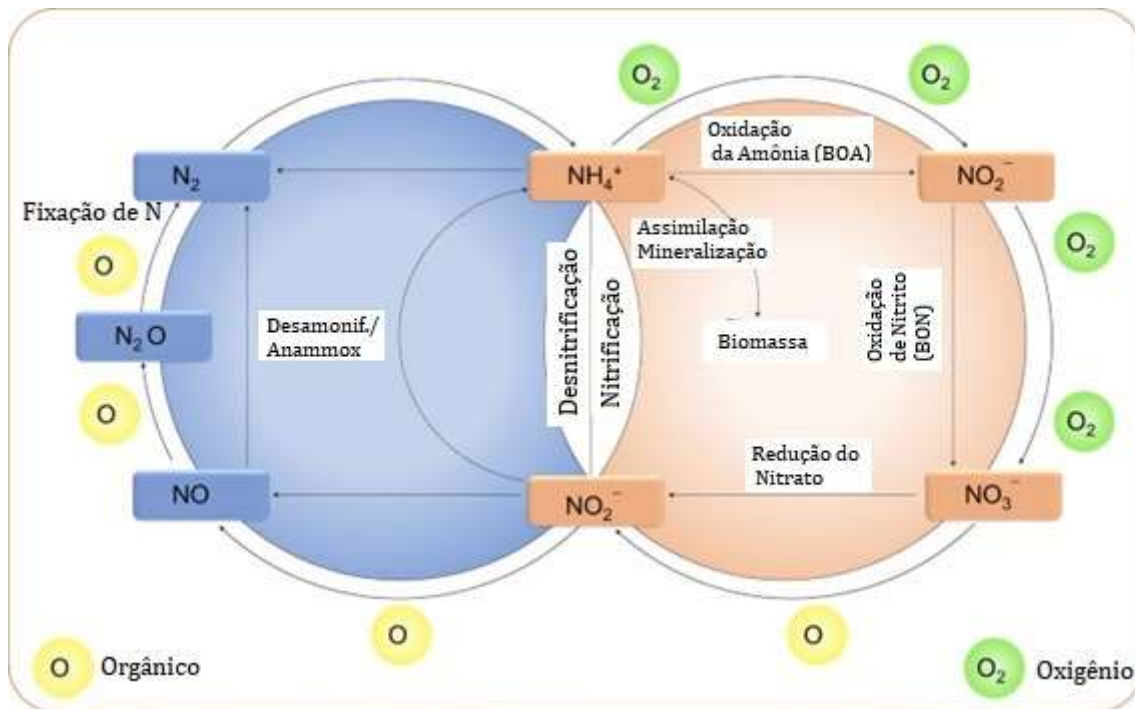


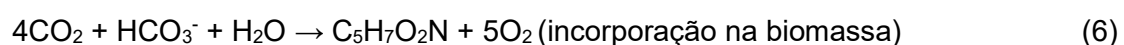
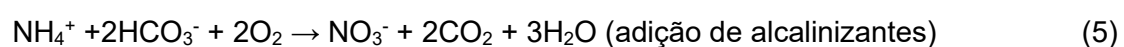
Figura 2. Ciclo do nitrogênio em ecossistemas aquáticos, com a integração dos processos Nitrificação/Desnitrificação/Desamonificação-Anammox®, adaptado de Banu *et al.* (2021).
 Legenda: Desamonif. = Desamonificação; BOA = Bactérias Oxidadoras de Amônia; BON = Bactérias Oxidadoras de Nitrito.

3.2 Nitrificação e Desnitrificação

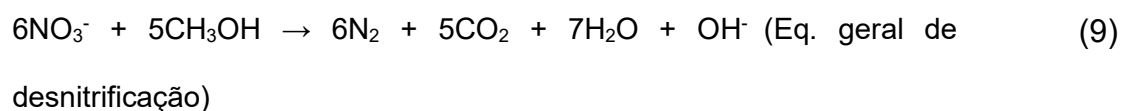
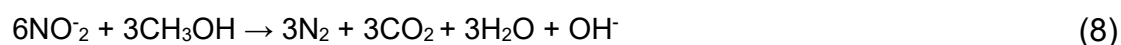
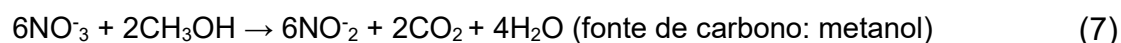
O processo biológico de remoção de nitrogênio via nitrificação e desnitrificação é amplamente utilizado pelas vantagens de uma boa qualidade do efluente com relativa facilidade de execução. Esse processo, no entanto, apresenta altos custos operacionais, necessitando de uma alta disponibilidade de espaço físico para sua implantação (SÁNCHEZ, 2016).

As equações estequiométricas do processo convencional de remoção de nitrogênio são apresentadas a seguir:

Reações de nitrificação:



Reações de Desnitrificação



Sobre o processo de nitrificação, cabe destacar que se trata de um processo aeróbio autotrófico, em que o aceptor final de elétrons é o oxigênio. A nitrificação compreende a nitrificação realizada por BOA (conversão de amônia em nitrito) e a nitratação realizada por BON (conversão de nitrito a nitrato).

Do ponto de vista econômico, o processo de nitrificação, conforme equações de 2 a 6, apresenta uma demanda energética alta para as plantas de tratamento. Metcalf & Eddy (2003) comentam que são necessários 4,57mg de oxigênio para oxidar a amônia a nitrato, sendo 3,43 mg de O₂ para oxidar 1mg de NH₄⁺ para nitrito e 1,14 mg de O₂ para oxidar 1 mg de NO₂⁻.

Um levantamento de custos, realizado por Simon-Varhelyi *et al.* (2020), apresenta dados de que, atualmente, em sistemas tradicionais de lodos ativados, são gastos 0,6 kWh.m⁻³ de água residuária tratada.

O estudo de Simon-Varhelyi *et al.* (2020) demonstra que, em uma estação de tratamento convencional, que tenha como dados de entrada 35.23 g_{N_{TK}}.m⁻³, exemplo que utiliza dados do tratamento de efluentes domésticos da cidade de Pequim, China, é necessária uma taxa de ar de 383,325 m³.d⁻¹. Em moeda europeia, a referida taxa de ar representa, segundo os autores, valores entre 1,85 a 3,64 €.Kg⁻¹ de N removido.

Ao considerar os custos energéticos no Estado do Paraná, que, para agroindústrias, apresentam valor médio de 0,54336 R\$.kWh⁻¹ (COPEL, 2021), baseia-se na hipótese de remover a mesma quantidade de Nitrogênio diária, abordada por Simon-Varhelyi *et al.* (2020), visto que apresentaria o custo de 11,48 R\$.m⁻³ de água residuária tratada, ou 4,11 R\$.kg⁻¹ de N removido.

O processo de desnitrificação é um processo heterotrófico que demanda carbono orgânico como fonte energética, conforme equações de 7 a 9 (BURGHATE & INGOLE, 2014).

Fontes externas de carbono, para uso em escala industrial, representam um custo expressivo. Muitas indústrias necessitam fazer aquisição de produto comercial para suprir a demanda de carbono orgânico. Outra opção são indústrias com resíduos concentrados em nitrogênio, a fim de que atuem em parcerias com outras que geram

efluentes ricos em matéria orgânica, unindo seus resíduos para a codigestão (MEES *et al.*, 2012; DALLAGO *et al.*, 2013). Mesmo desse modo, existem custos associados ao transporte e tubulações para unir os resíduos.

A equação 7 ilustra uma das reações de desnitrificação, usando metanol como fonte externa de carbono orgânico. Pode-se, ainda, citar como possíveis fontes de carbono orgânico: a água residuária da produção de fécula de mandioca, a vinhaça produzida no processamento de cana-de-açúcar, o etanol, glicose, acetato, aspartato ou ácido fórmico, bem como diferentes resíduos industriais, soro de leite, resíduo de destilaria, resíduos de sulfitos, entre outros (BURGHATE & INGOLE, 2014).

Ainda em abordagem econômica, existem altos custos energéticos associados aos sistemas de tratamento do lodo, gerados em sistemas de Nitrificação/Desnitrificação completa. O consumo de energia para remoção dessa matéria orgânica (biomassa) é cerca de 60 a 80% do consumo total de energia de uma ETE urbana (SIEGRIST *et al.*, 2008; ZESSNER *et al.*, 2010).

Vazques-Padín *et al.* (2014) exemplificam que são gerados por quilograma de N removido 2,11kg de sólidos suspensos voláteis, em sistemas convencionais de nitrificação e desnitrificação, que demandam processos de secagem do lodo ou transporte para tratamentos em destinos específicos.

Uma problemática que também justifica estudos em métodos avançados de remoção de nitrogênio é a liberação de óxido nitroso, molécula que tem um efeito 298 vezes maior em potencial para aquecimento global do que uma molécula de dióxido de carbono. O óxido nitroso é facilmente volatilizado para o ar ambiente, quando a remoção de nitrogênio, em efluentes, ocorre em lagoas a céu aberto ou mesmo sistemas de lodos ativados. As formas nitrogenadas compreendidas na desnitrificação heterotrófica seguem a sequência: $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. (VAN DIJK *et al.*, 2021; METCALF & EDDY, 2003).

Song *et al.* (2014) comentam que existe apenas uma via biológica para a conversão de N_2O em gás nitrogênio (N_2) que é com base em microrganismos desnitrificantes heterotróficos, os quais produzem a enzima N_2O redutase (NOS) codificada pelo gene *nosZ*. Quando essa via não consegue ser utilizada, existe a liberação dessa molécula para a atmosfera. Os autores ainda destacam que 26% dos gases liberados em estações de tratamento de efluentes são da molécula N_2O .

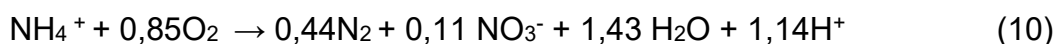
Nesse sentido, Van Dijk *et al.* (2021) discutem outras configurações de reatores e processos de tratamentos de águas residuárias concentradas em nitrogênio, mostrando que existe uma ampla gama de fatores que influenciam a emissão desse gás. Justifica-se, portanto, a importância de explorar tecnologias que contribuam com a redução dessa emissão atmosférica.

Entre as novas tecnologias, destaca-se o processo de Remoção de Nitrogênio via Nitritação Parcial e atividade bacteriana Anammox[®], ocorrendo, de forma concomitante e com alta eficiência, processo denominado desamonificação.

3.3 Processo de desamonificação e seus desafios

A oxidação anaeróbia do íon amônio é um processo realizado por bactérias da ordem dos *Planctomycetos*, que apresentam tempo estimado de duplicação, já reportado em 11; 6,3; 4,1; 3,9 e 2,1 dias (ZHANG *et al.*, 2017; STROUS *et al.*, 1998). Quando se compara a outros microrganismos pertencentes ao ciclo do nitrogênio, são caracterizados por uma taxa de crescimento lenta (STROUS *et al.*, 1999; MULDER *et al.*, 1995).

Na Equação 10, é demonstrada a estequiometria geral da desamonificação.



Implícita na desamonificação, está a conversão parcial do nitrogênio amoniacal em nitrito por meio de atividade aeróbia. Manter a sinergia entre a atividade de BOAs e bactérias Anammox[®], ocorrendo de forma simultânea a atividade dos dois grupos de bactérias, é o desafio desses reatores.

A sinergia, comentada anteriormente, visa impedir as competições por substrato entre: i) BOA e bactérias Anammox[®] pelo substrato amônio; ii) BOA e BON competindo por seu substrato aeróbio (oxigênio dissolvido); e iii) Bactérias Anammox[®] competindo com BON e com os microrganismos heterotróficos desnitrificantes por nitrito (SUN *et al.*, 2019).

A desamonificação implica, portanto, manipular as condições dos reatores para favorecer o consórcio microbiano desejado (BOA/Bactéria desamonificante).

A produção do substrato nitrito foi apresentada na Equação 2. O consumo de ambos os substratos, nitrogênio amoniacal e nitrito, por bactérias pertencentes ao filo dos *planctomycetos*, ocorrem em uma estrutura celular chamada de *Anammoxossomo*. Ele se trata de um compartimento intracitoplasmático delimitado por uma única membrana lipídica, na qual amônio e nitrito são diretamente oxidados a gás nitrogênio sob condições anóxicas/anaeróbias (Figura 3).

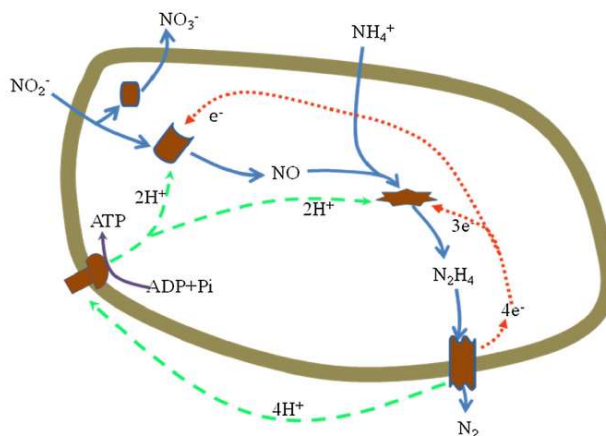


Figura 3 Via metabólica da oxidação anaeróbica da amônia.
Fonte: WANG *et al.* (2016).

A primeira etapa da reação no interior do anamoxossomo é a redução de nitrito a óxido nítrico por nitrito oxirredutase. O íon amônio e óxido nítrico são, então, combinados para formar hidrazina pela hidrazina sintase. Esse intermediário único de hidrazina é, nesse caso, oxidado (desidrogenado) pela enzima chave hidrazina oxidorredutase para gás dinitrogênio (MADIGAN *et al.*, 2010).

3.4 Fatores de importância no processo de Desamonificação

3.4.1 Temperatura

A temperatura pode influenciar a remoção de nitrogênio e a estrutura da comunidade Anammox[®] (LI *et al.*, 2018). Ao analisar a influência da temperatura em um reator em batelada sequencial com baixa carga de nitrogênio, Li *et al.* (2018a) encontraram eficiências de remoção de nitrogênio superiores a 95% em condições de temperatura superiores a 26°C. A redução da temperatura pode alterar a estrutura da comunidade microbiana no lodo flocular. O estudo demonstrou que, com a redução da temperatura, o grupo de bactérias Anammox[®] dominante mudou de *C. Brocadia* para *C. Kueningenia*.

Li *et al.* (2018a) afirmam ainda que outra bactéria nitrificante *Nitrospira sp.* aumentou sua abundância em cerca de 74,3%, após a diminuição da temperatura de 33 ± 1°C para 15°C, em 50 dias. Da mesma forma, o estudo demonstrou ainda que, com o retorno da temperatura para valores superiores a 30°C, a abundância de *C. Brocadia* foi recuperada, enquanto a abundância de *Nitrospira sp.* permaneceu estável durante todo o período experimental.

O estudo conduzido por Lauren *et al.* (2016) teve como foco principal analisar o comportamento do processo de desamonificação durante uma queda súbita (de 17 para

11°C) e prolongada da temperatura (26 dias). Além disso, foi analisada a capacidade de recuperação dos microrganismos, depois de aumentar a temperatura para 15°C. O experimento foi conduzido em batelada sequencial, alimentado com efluente de estação de tratamento de esgoto doméstico.

Ainda sobre o estudo de Laureni *et al.* (2016), foram notadas atividades de consórcio entre Anammox[®] e organismos heterotróficos, porém, a desamonificação manteve-se como o principal processo na remoção de nitrogênio. A desnitrificação heterotrófica desempenhou apenas um papel menor. A operação prolongada a 15°C resultou em atividades máximas mais baixas, mas estáveis. A supressão quase completa da atividade de bactérias Anammox[®] foi observada apenas quando a temperatura foi reduzida para 11°C.

3.4.2 Oxigênio Dissolvido

Schereen *et al.* (2011) comentam que o processo de desamonificação acontece em condições anóxicas, portanto, baixas concentrações de oxigênio no meio já podem interferir na eficiência do processo ou inibi-lo por completo. Como anaeróbias obrigatórias, as bactérias Anammox[®] podem ser inibidas pelo oxigênio dissolvido, porém, o processo é reversível em níveis baixos (0,25 mg.L⁻¹, aproximadamente 2% de saturação de oxigênio).

Egli *et al.* (2001) estudaram a sensibilidade das bactérias Anammox[®] ao oxigênio, testando a adição de diferentes quantidades de oxigênio (0,25; 0,5; 1 e 18% de saturação de oxigênio) ao espaço livre anóxico, nas unidades de enriquecimento de bactérias Anammox[®]. Em 16h de processo, o oxigênio havia desaparecido, nas unidades operacionais com as concentrações mais baixas (0,25, 0,5 e 1%), provavelmente devido aos microrganismos aeróbios remanescentes.

A atividade Anammox[®], no experimento de Egli *et al.* (2001), começou subsequentemente ao desaparecimento do oxigênio. Na concentração inicial de oxigênio, a 18% de saturação, por 64 horas, a atividade não foi restaurada, indicando total supressão de atividade. Ao observar os resultados desse estudo, pode-se concluir que a aeração intermitente se apresenta como uma saída viável à desamonificação.

A estratégia de aeração intermitente foi a chave para o início da sinergia BOA/Bactérias Anammox[®] do processo de desamonificação, conduzido por Miao *et al.* (2016). Os autores comentam que, para a supressão da atividade das BON, a aeração intermitente foi considerada uma estratégia eficaz. Isso porque, durante a transição do ambiente de anóxico para aeróbio, esse grupo de bactérias apresentou dificuldade de recuperar a atividade por um determinado período curto.

Yan *et al.* (2019) realizaram nano-testes (em placas de petri) expondo a biomassa Anammox[®] a diferentes concentrações de OD, que foi mantido em 0,2 mg.L⁻¹ para testes de nível baixo de O₂ e 2,0 mg.L⁻¹ para o teste de nível alto. Para testar a reversibilidade da inibição das bactérias, N₂, Ferro zero valente (Fe⁰), Fe II e Fe III foram aplicados, nas amostras, após a exposição ao OD. O N₂ foi usado para expulsar o OD do meio e o Fe⁰, Fe II e Fe III para consumir rapidamente o OD residual, permitindo a recuperação da atividade.

Como resultados, Yan *et al.* (2019) comentam que, quando a exposição ao OD foi de 0,2 mg L⁻¹, a atividade Anammox[®] foi inibida para 76 ± 5,4% do controle (p<0,05). Quando exposto a 2,0 mg.L⁻¹ OD, a atividade Anammox[®] diminuiu para 8,0 ± 3,0% do controle (p <0,05). Os autores concluíram que o Fe⁰ foi mais efetivo na recuperação da atividade Anammox[®] quando houve a exposição ao maior valor de OD, no entanto, alertam que a recuperação foi de 63 ± 8,2%, o que continua demonstrando a importância do não fornecimento de OD a níveis tóxicos.

Laureni *et al.* (2016) conduziram reatores de desamonificação, operados em batelada e com tempo de ciclo de 4 e 6 horas, sob condições microaeróbias, 0,17 ± 0,04 mg.L⁻¹ com vazão de ar de 200 mL.min⁻¹. A concentração de OD do estudo foi suficiente para inativar as BON pelos 390 dias do experimento.

Augusto *et al.* (2018), utilizando um reator MABR alimentado com efluente sintético, conseguiram estabilizar a desamonificação por um período aproximado de 130 dias, com a concentração média de OD de 0,42 ± 0,09 mg.L⁻¹. Quando a concentração de OD foi aumentada para 0,53 ± 0,33 mg.L⁻¹, o reator manteve a atividade, porém, com claros danos à estabilidade do processo.

3.4.3 Compostos orgânicos

Vários estudos têm demonstrado que as substâncias orgânicas, como acetato, metanol e substâncias húmicas, nas águas residuais, podem impactar ou até inibir as bactérias Anammox[®] (ZHANG *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2019; JENNI *et al.*, 2014).

Sun *et al.* (2019) compararam as atividades das bactérias Anammox[®], BOA e BON, em dois reatores NP/A de uma fase, sendo que, em um deles, foram adicionados 100 mg.L⁻¹ de matéria orgânica, expressa em DQO. A adição de matéria orgânica (MO) reduziu a atividade dos três grupos de bactérias, quando comparado ao reator sem MO. Os autores ressaltam que os compostos orgânicos promoveram o crescimento de microrganismos heterotróficos, que competem por OD e N-NO₂⁻ com BOA e Anammox[®], respectivamente. Nesse experimento, foi analisada a densidade de biomassa nos biofilmes dos reatores, correspondendo a 15,7 e 25,5 mg.cm⁻³ para os reatores sem e

com adição de MO, respectivamente, comprovando, assim, o favorecimento dos microrganismos heterotróficos.

Uma fonte de carbono endógena dos reatores pode ser o decaimento da biomassa (morte bacteriana). Wisniewski *et al.* (2017) acompanharam o coeficiente de decaimento das bactérias Anammox[®], que foi de 0,02 d⁻¹ (resultados obtidos por simulação), o que confirmou que a matéria orgânica do decaimento da biomassa foi utilizada pelos microrganismos desnitrificantes heterotróficos para sobreviverem no sistema. Os autores identificaram que 5% do SSV correspondiam à biomassa heterotrófica desnitrificante.

Para reatores de desamonificação, Jenni *et al.* (2014) recomendam relações C/N com valor máximo de 1,4 gDQO·gN⁻¹, desde que seja mantido um TDH suficientemente alto; no caso do estudo, 18h. No referido experimento, foram testados TDH menores e a desamonificação foi suprimida por microrganismos desnitrificantes, sob condições de concentração de matéria orgânica elevada. Por outro lado, a adição de compostos orgânicos, como acetato de sódio, promoveu maior produção de proteínas extracelulares, que facilitou ainda mais o biofilme Anammox[®] e a formação de grânulos.

3.4.4 pH e Alcalinidade

As faixas de pH fortemente ácido ou fortemente básico podem causar inibição completa do processo de desamonificação por promover hidrólise da membrana celular e cessar processos metabólicos vitais para as bactérias do filo dos *Planctomicetos* (SHEREEN *et al.*, 2011).

A disponibilidade ou inibição pelo substrato também é influenciada pelo pH. A percentagem de amônia presente no efluente é significativamente influenciada pelo pH, em razão do deslocamento do equilíbrio químico entre a forma amoniacal e amônia livre (METCALFY & EDDY, 2003).

Diversos trabalhos afirmam que a atividade de bactérias Anammox[®] é observada para uma gama mais ampla de pH, 6,5 a 9,3 (EGLI *et al.*, 2001; TANG *et al.*, 2010; JIN *et al.*, 2012). Tomaszewski *et al.* (2017) pesquisaram as taxas de crescimento de bactérias Anammox[®] usando como variável o pH e acompanhando a formação de amônia livre no reator. As maiores taxas de crescimento foram encontradas com pH entre 7,0 e 7,5; valores de pH inferiores a 6,0 inibiram o crescimento das bactérias. A faixa de pH de 8,0 a 9,0 promoveu decréscimo na taxa de crescimento.

Com relação à alcalinidade, Schereen *et al.* (2011) comentam que esse íon bicarbonato de sódio faz parte da estequiometria da reação bacteriana Anammox[®] e precisa estar presente no meio reacional para que o processo ocorra. A alcalinidade

exerce papel importante de tampão do meio, suavizando mudanças de pH no decorrer da reação, além de evitar que intermediários tóxicos ao processo se formem, inibindo a atividade dos microrganismos Anammox[®].

Os estudos de desamonificação apontam diferentes valores de alcalinidade eficazes no processo. As adições de NaHCO₃, 1,6 g.L⁻¹ (SUN *et al.*, 2019) e 2,0 g.L⁻¹ (AUGUSTO *et al.*, 2018; SALEEM *et al.*, 2018; VAN DE GRAAF *et al.*, 1997) foram utilizadas sem nenhum comprometimento do processo nos reatores estudados.

3.4.5 Toxicidade do Nitrito aos microrganismos Anammox[®]

O nitrito é um dos substratos das bactérias Anammox[®], no entanto, devido à sua biotoxicidade, a concentração de nitrito acima de um certo limiar terá efeitos supressores nos microrganismos Anammox[®]. Segundo Jin *et al.* (2012), os limiares de inibição do nitrito são inferiores aos limiares de inibição do amônio, ou seja, o filo dos *Planctomicetos* é mais vulnerável à inibição do nitrito do que à inibição do íon amônio.

Saleem *et al.* (2018) apresentaram a estratégia de enriquecimento de biomassa Anammox[®]; assim, houve o ajuste dos valores de NH₄⁺ e NO₂⁻ no efluente sintético (50 mg.L⁻¹ foi a concentração inicial do estudo) e o aumento gradual da carga afluente de nitrogênio, sendo mantida a razão molar NO₂/NH₄⁺ para um valor menor do que 1,0. No referido estudo, a concentração de NO₂⁻ no afluente foi aumentada sempre que a concentração no efluente era reduzida para um valor compreendido na faixa de 5 a 10 mg L⁻¹ no efluente final. Essa técnica foi efetiva no controle da toxicidade por nitrito.

Dentro do contexto da toxicidade do nitrito aos microrganismos Anammox[®], a ocorrência da desamonificação apresenta-se como uma boa alternativa, tendo em vista que, à medida que o substrato (nitrito) é formado, ele é oxidado juntamente com o íon amônio a gás nitrogênio, evitando, dessa forma, o acúmulo de nitrito nos reatores.

3.5 Reator de Desamonificação com Biofilme Aerado por Membrana (MABR)

No que se refere ao controle de ambiente anóxico para bactérias Anammox[®] e aeróbio para bactérias formadoras de nitrito, os reatores de biofilme aerado por membrana têm apresentado bons resultados. Assim, contribuem para uma rápida *start-up* da desamonificação nos reatores (GONG *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2016; AUGUSTO *et al.*, 2018).

Os sistemas de membrana podem oferecer um método eficiente e de baixo custo para a transferência de gás-líquido em reatores, já que os aeradores convencionais podem, por vezes, saturar de oxigênio no meio líquido, sendo um aporte em excesso,

que não será utilizado pela microbiota, o que resulta no aumento energético e de custos para a aeração (CAMILOTTI *et al.*, 2016).

A ideia da membrana como difusor de oxigênio baseia-se na capacidade da membrana, por sua porosidade, de permitir a passagem de O₂ sem bolhas, sem tensão superficial, com a fase de oxigênio no lado interno da membrana e as águas residuais no lado externo; assim, fornece uma área superficial alta para a transferência do oxigênio, ao mesmo tempo em que ocupa um volume de reator relativamente pequeno. No processo MABR, a fixação bacteriana à superfície da membrana resulta na formação de um biofilme. O oxigênio passando através da parede da membrana é utilizado pelas bactérias do biofilme para oxidar os poluentes (BRINDLE *et al.*, 1998). A Figura 4 ilustra reatores que usam a membrana de silicone para dispersão de OD.



(A) Membrana do Sistema MABR usada por Camilotti (2015) para produção biológica de enxofre elementar.

(B) Membrana tubular de fibra-carbono poroso, utilizado em reator MABR de Desamonificação por Gong *et al.* (2007).

Figura 4 Membranas microporosas usadas em Reatores MABR com finalidades (A) Acúmulo biológico de enxofre elementar; (B) Remoção biológica de nitrogênio via desamonificação.

As membranas aeradas podem ser dispostas no interior dos reatores de diversas formas, destacando-se, entre elas, as formas tubulares e helicoidais. Camilotti *et al.* (2016) relataram baixos valores de transferência de massa para sistemas com membranas tubulares de silicone com 2,5 mm de espessura de parede, com média do coeficiente de transferência de massa (K_LA) de 0,15 h⁻¹ para membrana tubular submersa em meio líquido.

A Massa de Oxigênio em Fluxo (J) pela membrana pode ser calculada de acordo com a equação 12 (CAMILOTTI *et al.*, 2016).

$$J = R \cdot ((P/H) - C_L) \quad (12)$$

Em que:

J = massa de oxigênio em fluxo (kg.m⁻².h⁻¹);

R = coeficiente de transferência de massa global ($m.h^{-1}$);

P = pressão parcial de oxigênio no ar (mbar);

H = Constante da lei de Henry ($H_{O_2} = 2,58 \text{ N.m.kg}^{-1}$ Para 20°C);

C_L = concentração de oxigênio no meio líquido (kg.m^{-3}).

Com os valores de J e C^* (concentração de saturação do líquido com o gás, mg.L^{-1}), pode-se calcular o valor de K_LA (Coeficiente de transferência de massa de oxigênio(d^{-1})), por meio da equação 13 e 14.

$$P_G = H.C^* \quad (13)$$

$$J = K_LA (C^* - C_L) \quad (14)$$

O sistema de dispersão de oxigênio com base na microporosidade da membrana favorece a formação de um biofilme nitrificante sobre a membrana (lado externo), mantendo o restante do ambiente do reator anóxico para bactérias Anammox[®]. Esse mecanismo foi usado satisfatoriamente por Gong *et al.* (2007), que utilizaram membranas dispostas de forma tubular dentro do reator (tubos de carbono microporoso); o reator estudado considerou inóculo desamonificante e atingiu eficiência superior a 80%.

Li *et al.* (2016) utilizaram membranas de silicone com disposição helicoidal e inóculo proveniente de outro reator de desamonificação e atingiram, a partir do 12º dia de operação do reator, remoção de nitrogênio na referida via. O reator operado por Li *et al.* (2016) manteve por 360 dias atividade regular com eficiência de remoção de Nitrogênio acima de 81%.

As membranas aeradas helicoidais em reatores para tratamento de águas residuárias aumentam a capacidade de transferência de massa devido a fenômeno "Dean vortices", que consiste em, quando o fluido estiver se movendo ao longo de um tubo reto que, após algum ponto, ficar curvado, as forças centrípetas na dobra farão com que as partículas do fluido alterem sua direção principal de movimento, aumentando a pressão no interior do tubo. Portanto, a disposição helicoidal pode ser utilizada para o aumento da eficiência de transferência de gases (GABELMAN e HWANG, 1999, KAUFHOLD *et al.*, 2012).

No que se refere à partida de reatores, os reatores MABR podem favorecer o crescimento das bactérias oxidadoras de amônia e de bactérias Anammox[®] por meio das estratégias de controle de oxigênio projetadas para reprimir a atividade de bactérias oxidantes de nitrito, incluindo a taxa da carga superficial de oxigênio na membrana regulada em função da carga de nitrogênio (GILMORE *et al.*, 2013; LACKNER *et al.*, 2008; PELLICER-NACHER *et al.*, 2010).

O reator MABR, operado por Augusto *et al.*, (2018), é o primeiro desse modelo relatado na literatura que promoveu a *start-up* de um reator de desamonificação a partir de lodo proveniente de uma estação de tratamento de esgoto doméstico.

Augusto *et al.* (2018) descrevem o reator contínuo MABR, feito de acrílico com diâmetro interno de 9,5 cm, altura de 50 cm de altura total, volume total de 3,2 L, e 2,7 L de volume útil, em que a difusão do ar foi realizada com base em tubo de silicone disposto em formato helicoidal, com 6,3 m de comprimento, 10 mm de diâmetro externo, diâmetro interno de 5 mm e espessura da parede de 2,5 mm. Uma extremidade da membrana de silicone foi conectada a um compressor de ar e a outra foi imersa em uma coluna de água, resultando em uma pressão interna, que variou de 70 a 130 mbar.

A principal vantagem do reator MABR, conduzido por Augusto *et al.* (2018), foi o rápido tempo de partida do reator (21 dias), seguido da estabilização da remoção de Nitrogênio pela via da desamonificação, durante 130 dias, em que a eficiência de remoção de N mínima foi de 84%. Foi observado desequilíbrio parcial do reator por acúmulo de nitrito, quando houve mudança da condição experimental devido ao aumento da carga de Nitrogênio e aumento do OD, porém, a atividade do reator não foi interrompida durante todo o experimento, que durou 216 dias. Os princípios de transferência de massa utilizados, nesse reator, embasaram a confecção dos reatores do presente estudo.

Na Figura 5, é apresentada uma representação do fenômeno de transferência de massa de ar para o biofilme microbiano aerado, sustentado na parede externa da membrana.

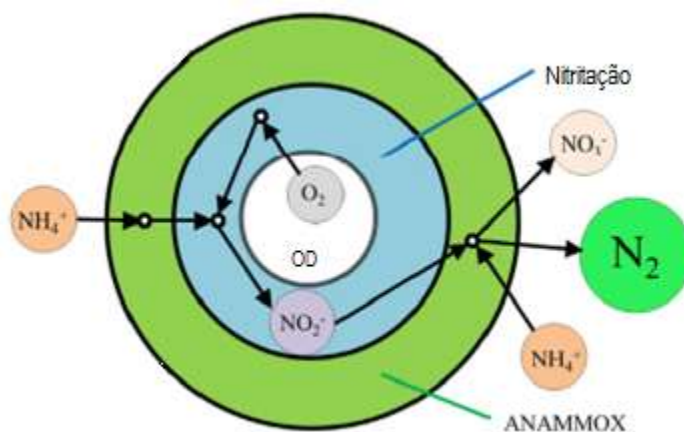


Figura 5 Esquema do Biofilme no interior do Reator MABR.
Adaptado de Augusto *et al.*, (2018)

3.6 A problemática ambiental associada aos Efluentes de abate avícola

O Brasil é um dos maiores produtores de Carne do mundo e, no mercado avícola, encontra-se, nas previsões de fechamento do ano de 2021, como terceiro maior produtor mundial, com projeções que devem alcançar 14.120 milhões de toneladas de carne de frango produzidas, segundo a Embrapa (2021). O estado do Paraná ocupou, em 2021, a posição de maior estado produtor de frango do país.

Porém, ao analisar esse mercado tão importante, que ajuda a compor a produção de alimentos à base de proteína animal no mundo, é preciso pensar em sustentabilidade ambiental, associada a essa produção. A AOVIAPAR (2021) tem, em seu acervo, compilado dados da produção avícola no Brasil e no Paraná, das últimas 3 décadas até a atualidade; assim, as principais diferenças evolutivas desse mercado são apresentadas na Tabela 1. Dados mais completos datam a partir de 1999; por essa razão, a comparação da Tabela 1 inicia-se nesse ano de referência.

Tabela 1 Comparativo histórico na evolução do mercado de produção e abate de aves de 1999 a 2020.

Variável	Ano 1999	Ano 2020	Aumento (%)
Produção brasileira de carne de Frango (ton.ano ⁻¹)	3.146.155.121	5.515.988.435	42,96
Produção Paranaense de Carne de Frango (ton.ano ⁻¹)	575.567.149	1.959.018.060	70,62
Nº de abatedouros de grande porte associados do Paraná	31	47	34,04
Nº de incubatórios associados do Paraná	29	35	17,14

Fonte: AOVIAPAR, 2021.

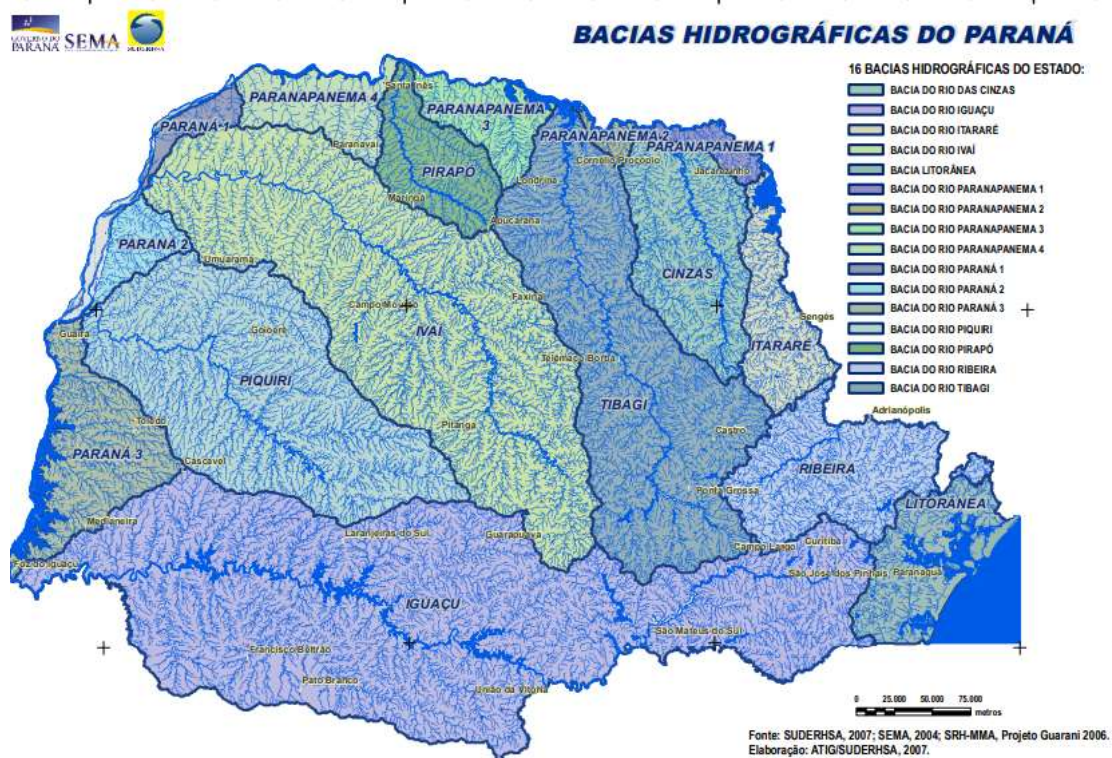
Observando os dados da Tabela 1, nota-se a expansão da avicultura em todo o Brasil; a única retração do mercado avícola brasileiro, destacada pela AOVIAPAR (2021), foi em 2018, com redução de -1,67% em relação ao ano anterior. O crescimento produtivo do Estado do Paraná aumentou em 70,62%, nos últimos 20 anos, sendo o recorde, em termos de abate, alcançado em 2019, com 1,87 bilhões de aves abatidas, em que o consumo de água permitido pelo MAPA (2010) é de 30L/carcaça, perfazendo, em 2019, um gasto hídrico de ~56,1 bilhões de litros de água.

Com esses dados, surgem questionamentos sobre a capacidade suporte das bacias hidrográficas onde os polos produtivos de carnes estão inseridos. Os mapas, apresentados na Figura 6, evidenciam o contraste entre o número de abatedouros de

grande porte do Estado do Paraná com a localização das bacias hidrográficas do Estado.



(A)



(B)

Figura 6 (A) Densidade Georreferenciada dos Abatedouros Avícolas no Estado do Paraná segundo o SINDIAVIAPAR (2017); (B) Descrição Georreferenciada das bacias hidrográficas do Paraná segundo IAT-PR (2021).

O caso particular da bacia do Paraná III, que conta com pelo menos 8 abatedouros de grande porte, onde está inserida a Universidade Estadual do Oeste do Paraná/UNIOESTE, a Usina Hidrelétrica de Itaipu e o Parque Nacional do Iguaçu, vem justificando, ao longo dos anos, as investigações do grupo de Pesquisa em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Pós-graduação em Engenharia Agrícola/UNIOESTE.

As pesquisas do grupo já se pautaram em otimizar sistemas convencionais de remoção de nitrogênio testando diferentes tipos de reatores, meio suporte bacteriano, métodos de alimentação, codigestão no fornecimento de carbono orgânico, doadores endógenos de carbono orgânico na desnitrificação heterotrófica e nitrificação parcial no sentido de preparar o efluente de abate de aves para reatores Anammox[®] em processo de 2 fases (ZENATTI *et al.*, 2009; ANDRADE *et al.*, 2010; KUMMER *et al.*, 2011; DALLAGO *et al.*, 2012, LOPES *et al.*, 2015, LOPES *et al.*, 2016; ASSIS *et al.*, 2017).

Nesse momento, o grupo intensifica a pesquisa em remoção de nitrogênio, buscando fontes locais de biomassa Anammox[®], e estuda um reator robusto que atue satisfatoriamente no enriquecimento dessas bactérias e que atenda à necessidade de otimizar o tratamento dos efluentes de abatedouros de aves da Região Oeste do Paraná.

Na Tabela 2, são apresentados resultados de trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental que demonstram uma vantagem importante em se usar a via da desamonificação para remoção de nitrogênio em efluentes de abate avícola, pois se trata de um efluente com características possivelmente não inibitórias para microrganismos Anammox[®].

Tabela 2 Condições ideais para bactérias Anammox[®] em comparação com efluente de abate avícola

Fator	Preferência Anammox [®]	Efluente avícola (saída da lagoa anaeróbia)*
Ph	pH, 6,5 a 9,3	6,88 a 7,21 ASSIS <i>et al.</i> (2017);
DQO/TOC	Índices baixos preferencialmente <100mg.L ⁻¹	~75,092 mg.L ⁻¹ , ASSIS <i>et al.</i> (2017); 207,75 mg.L ⁻¹ , DALLAGO <i>et al.</i> (2012)

N-NH₄⁺	Melhor comportamento com altas concentrações, superiores a 50mg.L ⁻¹	158,36 mg.L ⁻¹ DALLAGO <i>et al.</i> (2012); 81,9 mg.L ⁻¹ (LOPES <i>et al.</i> , 2011),
Nitrito	Índices baixos, inferiores a concentração de N-amoniacal	Não detectado (DALLAGO <i>et al.</i> , 2012, ASSIS <i>et al.</i> , 2017); 3,0 ±1,5 mg.L ⁻¹ (LOPES <i>et al.</i> , 2011)
Nitrato	Ausência de nitrato	Não detectado (DALLAGO <i>et al.</i> , 2012, ASSIS <i>et al.</i> , 2017) 3,0 ±0,43 mg.L ⁻¹ (LOPES <i>et al.</i> , 2011)
Alcalinidade	Alguns autores (ZHANG <i>et al.</i> , 2019), reportaram valores mínimos de alcalinidade em 420 mg.L ⁻¹ , na forma de bicarbonato, como sendo concentração suficiente	340,9 mg.L ⁻¹ (LOPES <i>et al.</i> , 2011); 406,87 (ASSIS <i>et al.</i> , 2017);

*Pesquisas realizadas pelo grupo de Pesquisa em Saneamento Ambiental do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola/Unioeste/Cascavel-PR da caracterização do efluente de abate de aves dos abatedouros da região Oeste do Paraná.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOVIAPAR. **Paraná é o maior produtor de carne de frango do país**. Disponível em: www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/parana-e-o-maior-produtor-de-carne-de-frango-do-pais/20210713-084824-y613. Acesso em: 09 set. 2021.
- ALI, M.; OKABE, S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. **Chemosphere**, [s.l.], v. 141, [s.n.], p. 144-153, [s.m.], 2015.
- ALVES, C. F.; BORTOLUCI, C. B. C.; OLIVEIRA, E. P.; PIZZO, M. M.; & RODRIGUES, R. P. Remoção biológica de nitrogênio em águas residuárias: uma revisão dos processos convencionais aos processos modernos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 174-187, 2018.
- ANDRADE, L., KUMMER, A. C. B., FAZOLO, A., GOMES, S.D., HASAN, S. D. M.. Influência de nitrogênio amoniacal e vazão de ar no processo de nitrificação, etapa de tratamento de efluente de abatedouro de peixe. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal-SP, v. 30, n.1, p. 160-167, 2010.
- ASSIS, T. M.; SCHILICHTING, M.V.; LOPES, L.C.; KUNZ, A.; GOMES, S.D. Stability of partial nitritation of poultry slaughterhouse wastewater in a sequential batch reactor. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal-SP, v. 37, n.2, p-323-332, 2017.
- AUGUSTO, M.R., CAMILOTI, P.R., SOUZA, T.S.O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using Anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, [s.l.], v.266, [s.n.], p.151-157, 2018.
- BANU, R.J., MERRYLIN, J., KAVITHA, S., SELVAKUMAR, P., GOPIKUMARM S., SIVASHANMUGAM, P., KHAC-UAN, D., GOPALAKRISHNAN, K.. Trends in Biological Nutrient Removal for the Treatment of Low Strength Organic Wastewaters. **Curr Pollution Rep** 7, v.30, n.27, p. 1-30, 2021.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 357**, de 13 de maio de 2005.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 430**, de 16 de maio de 2011.
- BRINDLE, K.; STEPHENSON, T.; SEMMENS, M. J. Nitrification and oxygen utilization in a membrane aeration bioreactor. **Journal of Membrane Science**, [s.l.], v. 144, n. 1-2, p. 197-209, 1998.
- BUNSE, P.; ORSCHLER, L.; AGRAWAL, S.; & LACKNER, S.. Membrane aerated biofilm reactors for mainstream partial nitritation/Anammox: Experiences using real municipal wastewater. **Water Research X**, [s.l.], v.9, n.100066, p.1-14, 2020.
- BURGHATE, S. P., INGOLE, N. W. Biological Denitrification – A Review. **Journal of Environmental Science, Computer Science and Engineering & Technology**, [s.l.], v.3, n.1, p. 009-028, 2014.

CAMILOTI, P.R.; OLIVEIRA, G.H.D.; ZAIAT, M. Sulfur recovery from wastewater using a micro-aerobic external silicone membrane reactor (ESMR). **Water. Air. Soil Pollut.**, v. 227, n. 31, p.1-10, 2016.

CASAGRANDE, C.; KUNZ, A.; SOARES, H.M.; PRÁ, MC.; NETO, G.F.S. Establishment Of Anammox Process In Sludge Samples Collected From Swine Wastewater Treatment System. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v.31, n.6, p.1170-1178, 2011.

CHINI, A., BOLSAN, A.C., HOLLAS, C. E., ANTES, F.G., FONGARO, G., TREICHEL, H., KUNZ, K.. Evaluation of deammonification reactor performance and microorganisms community during treatment of digestate from swine sludge CSTR biodigester. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 246, n.0301-4797, p.19-26, set., 2019.

COPEL – **Companhia Paranaense de Energia Elétrica. Taxas e Tarifas.** Disponível em: <https://www.copel.com/hpcweb/copel-distribuicao/taxas-tarifas/>. Acesso em: 01 out. 2021.

DALLAGO, R.C.; GOMES, S.D.; MEES, J.B.R.; ASSIS, T.M.; HASAN, S.D.M.; KUNZ, A. Nitrification and denitrification of a poultry slaughterhouse wastewater according to cycle time and ammoniacal nitrogen concentration using surface response Methodology. **Journal of Food, Agriculture & Environment.**, v. 10, n. 2, p. 856-860, 2012.

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

EGLI, K.; FANGER, U.; ALVAREZ, P.; SIEGRIST, H.; VAN DER MEER, J.; ZEHNDER, A. Enrichment and characterization of an Anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. **Arch. Microbiol.**, [s.l.], v. 175, n.45, p.198-207, 2001.

EMBRAPA SUÍNOS E AVES - **Estatísticas.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>. Acesso em: 29 set. 2021.

ETA-INC – **Tecnologias Inteligentes.** Tecnologia MABR. Disponível em: <https://eta-inc.ca/es/tecnologia-mabr/>. Acesso em: 01 out. 2021.

FARIA, V.R. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas.** Brasília: Embrapa, 2017.

GABELMAN, A.; HWANG, S.-T. Hollow fiber membrane contactors. **Journal of Membrane Science**, [s.l.], v. 159, n. 1-2, p. 61-106, 1999.

GILMORE K.R.; TERADA A.; SMETS B.F.; LOVE N.G.; GARLAND J.L. Autotrophic nitrogen removal in a membrane-aerated biofilm reactor under continuous aeration: a demonstration. **Environ Eng Sci.**, [s.l.], v. 30, n.1, p. 38-45, 2013.

GOMES, M. A. F.; SOUZA, M. D. de; BOEIRA, R. C.; TOLEDO, L. G. de. **Nutrientes vegetais no meio ambiente:** ciclos biogeoquímicos, fertilizantes e corretivos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

GONG, Z.; YANG, F.; LIU, S.; BAO, H.; HU, S.; & FURUKAWA, K. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox. **Chemosphere**, [s.l.], v. 69, n. 5, p. 776-784, 2007.

GUPTA, H.; RASAD, P. *et al.* Evaluation of corncob as a bio-carrier for the enrichment of Anammox bacteria using activated sludge as seed. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 19, n.160, p.101140-101144, mai., 2019.

INSTITUTO DA TERRA E ÁGUA. **Bacias hidrográficas do Paraná - projeto Guarani 2006/SUDERHSA**, 2007. Disponível em:
http://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivosrestritos/files/imagem/2020-07/bacias_hidrograficas_a4.jpg. Acesso em: 09 set. 2021.

JANG J D; BARFORD J P; LINDAWATI; RENNEBERG R. Application of biochemical oxygen demand (BOD) biosensor for optimization of biological carbon and nitrogen removal from synthetic wastewater in a sequencing batch reactor system. **Biosensors and Bioelectronics**, EUA, v. 19, n.5, p. 805-812, 2004.

JENNI, S.; VLAEMINCK, S.E.; MORGENROTH, E.; UDERT, K.M. Successful application of nitrification/Anammox to wastewater with elevated organic carbon to ammonia ratios. **Water Res**, v. 49, n.1, p. 316-326, 2014.

JIN, R.C.; YANG, G.F.; MA, C.; YU, J.J.; ZHANG, Q.Q.; XING, B.S. Influence of effluent recirculation on the performance of Anammox process. **Chem. Eng.**, v. 197, n.1, p.67-79, mês, 2012.

KAUFHOLD, D.; KOPF, F.; WOLFF, C.; BEUTEL, S.; HILTERHAUS, L.; HOFFMANN, M.; SCHEPER, T.; SCHLÜTER, M.; LIESE, A. Generation of Dean vortices and enhancement of oxygen transfer rates in membrane contactors for different hollow fiber geometries. **J. Membr. Sci.**, v.423, n.0, p.342-347, 2012.

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

KUNZ, A.; VANOTTI, M.; SZOGI, A.; GONZALEZ, M.C.G.; SCHIERHOLT NETO, G.F.; SOARES, H.M. Development of Anammox process for animal treatment: experiences in Brazil. *In: KUNZ, AIRTON. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AIR QUALITY AND WASTE MANAGEMENT*. Bromsfield. St. Joseph: ASABE, 2007. p.1-4.

LACKNER, S.; GILBERT, E. M.; VLAEMINCK, S. E.; JOSS, A.; HORN, H.; & VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full-scale partial nitrification/Anammox experiences - An application survey. **Water Research**, v. 55, n. 0, p. 292-303, 2014.

LAURENI, M.; FALÁS, P.; ROBIN, O.; WICK, A.; WEISSBRODT, D.G.; NIELSEN, J.L.; TERNES, T.A.; MORGENROTH, E.; JOSS, A. Mainstream partial nitrification and Anammox: Long-term process stability and effluent quality at low temperatures. **Water Res.**, v. 101, n.1, p. 628-639, set-2016.

LI, J.; LI, J.; GAO, R.; WANG, M.; YANG, L.; WANG, X.; ZHANG, L.; PENG, Y; LI, J. A critical review of one-stage Anammox processes for treating industrial wastewater: Optimization strategies based on key functional microorganisms. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 265, n.94, p.498-505, out., 2018.

LIMBERGER, C.; MEES, J. B. R.; SENE, L.; CARVALHO, K. Q.; CHRIST, D.; GOMES, S. D. Effect of cycle time and airflow in biological nitrogen removal from poultry slaughterhouse wastewater using sequencing batch reactor. **Eng. Agri.-Jaboticabal**, [s.l.], v. 35, n.1, p. 567-577, 2015.

LOCHMATTER, S.; MAILLARD, J.; & HOLLIGER, C. Nitrogen removal over nitrite by aeration control in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 7, p. 6955-6978, 2014.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice Hall, 2010.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Aves. Brasília, DF. 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>. Acesso em: 05 de set. 2021.

MEES, J.B.R.; GOMES, S.D.; BOAS, M.A.V.; GOMES, B.M.; PASSIG, F.H. Kinetic behavior of nitrification in the post-treatment of poultry wastewater in a sequential batch reactor. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n.5, p. 955-965, 2011.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. New York: Mc Graw Hill, 2003.

MIAO, L.; WANG, S.; CAO, T.; PENG, Y.; ZHANG, M.; LIU, Z. Advanced nitrogen removal from landfill leachate via Anammox system based on sequencing biofilm batch reactor (SBBR): effective protection of biofilm. **Bioresour. Technol.**, v.231, n.236, p. 36-44, 2016.

MORALES, N.; VAL DEL RÍO, Á.; VÁZQUEZ-PADÍN, J.R.; MÉNDEZ, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L. Integration of the Anammox process to the rejection water and main stream lines of WWTPs. **Chemosphere**, v. 140, [s.n.], p. 99-105, 2015.

MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A. A.; ROBERSON, L. A.; KUENEM, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized reactor. **FEMS Microbiol. Ecol.**, v. 16, n.10, p. 177-184, 1995.

PELLICER-NÀCHER, C.; SUN, S.P.; LACKNER S.; TERADA, A.; SCHREIBER, F.; ZHOU, Q. *et al.* Sequential aeration of membrane-aerated biofilm reactors for high-rate autotrophic nitrogen removal: experimental demonstration. **Environ Sci Technol**, v. 44, n.45, p. 7628-7634, 2010.

SALEEM, M.; LAVAGNOLO, M.C.; CONCHERI, G.; STEVANATO, P.; SQUARTINI, A.; SPAGNI, A. Application of anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for the successful enrichment of Anammox bacteria using mixed anaerobic and aerobic seed sludge. **Bioresource Technology**, v. 266, n.1, p. 532-540, 2018.

SANCHEZ, C.R. **Autotrophic Biological Nitrogen Removal In A Two-Stage System At Mainstream Conditions**. Orientador: Julián Carrera Muyo. 2016. P. 218. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Doctoral Programme in Environmental Science and Technology, Universitat Autònoma De Barcelona, Bellaterra, 2016.

SANTORO, A. L.; & ENRICH-PRAST, A. Regulação microbiológica da disponibilidade de nitrogênio em ecossistemas aquáticos continentais. **Oecol. Aust.**, v. 15, n. 2, p. 213-235, 2011.

SCHEEREN, M. B.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DRESSLER, V. L. O processo Anammox como alternativa para tratamento de águas residuárias, contendo alta concentração de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n.1, p. 1289-1297, 2011.

SIEGRIST, H.; SALZGEBER, D.; EUGSTER, J.; JOSS, A. Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N removal. **Water Sci. Technol.**, v. 57, n.2, p. 383-388, 2008.

SIMON-VÁRHELYI, M.; CRISTEA, V. M.; LUCA, A. V. Reducing energy costs of the wastewater treatment plant by improved scheduling of the periodic influent load. **Journal of Environmental Management.**, v.262, n.110294, p.36-44, 2020.

SINDIVIAPAR. **Paraná, líder em produção e exportação avícola**. Disponível em: https://sindiavipar.com.br/wp-content/uploads/2019/03/Mapa_Sindiavipar_2018_interno.pdf. Acesso em: 09 set. 2021.

SONG, K.; SUENAGA, T.; HAMAMOTO, A.; SATOU, K.; RIYA, S.; HOSOMI, M.; TERADA, A. Abundance, transcription levels and phylogeny of bacteria capable of nitrous oxide reduction in a municipal wastewater treatment plant. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 3, p. 289-297, 2014.

STROUS, M.; HEIJNEN, J.J.; KUENEN, G.J.; JETTEN, M.M.S. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 50, [s.n], p. 589-596, 1998.

STROUS, M.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 65, n.50, p. 0-3, 1999.

STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge. **Appl. Environ. Microb.**, v. 63, [s.n], p. 2446-2448, 1997.

SUN, Y.; GUAN, Y.; WANG, H.; WU, G. Autotrophic nitrogen removal in combined nitrification and Anammox systems through intermittent aeration and possible microbial interactions by quorum sensing analysis. **Bioresource Technology**, v. 272, [s.n], p.146-155, 2019.

TANG, C.-J.; ZHENG, P.; WANG, C.-H.; MAHMOOD, Q.; ZHANG, J.-Q.; CHEN, X.-G.; ZHANG, L.; CHEN, J.-W. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. **Water Res.**, v. 45, [s.n], p. 135-44, 2010.

TOMASZEWSKI, M.; CEMA, G.; ZIEMBIŃSKA-BUCZYŃSKA, A. Influence of temperature and pH on the Anammox process: A review and meta-analysis. **Chemosphere**, v.182, [s.n], p. 203-214, 2017.

VAN DE GRAAF, A. A; BRUIJJIJ, P.; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G. Metabolic Pathway of Anaerobic Ammonium Oxidation on the Basis

of 15N Studies in a Fluidized Bed Reactor. **Microbiology**, v.143, n.1, p. 2415-2421, 1997.

VAN DER STAR, W.R.L.; ABMA, W.R.; BLOMMERS, D.; MULDER, J.-W.; TOKUTOMI, T.; STROUS, M.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale Anammox reactor in Rotterdam. **Water Res.**, v. 41, [s.n], p. 4149-63, 2007.

VAN DIJK, E.J.H.; VAN LOOSDRECHT, M. C.M.; PRONK, M. Nitrous oxide emission from full-scale municipal aerobic granular sludge. **Water Research.**, v. 198, n.1, p. 117159, 2020.

VÁZQUEZ-PADÍN, J.R.; MORALES, N.; GUTIÉRREZ, R.; FERNÁNDEZ, R.; ROGALLA, F.; BARRIO, J. P.; CAMPOS, J. L; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R. Implications of full-scale implementation of an Anammox-based process as post-treatment of a municipal anaerobic sludge digester operated with co-digestion. **Water Sci Technol**, v. 69, n, 6, p. 1151-1158, 2014.

WANG, Z.; NI, S.; ZHANG, J.; ZHU, J.; MA, Y.; LIU, X.; KONG, Q.; MIAO, M. Gene expression and biomarker discovery of Anammox bacteria in different reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 115, [s.n], p. 108-114, 2016.

WISNIEWSKI, K.; DI BIASE, A.; OLESZKIEWICZ, J.A.; MAKINIA, J. **Start-up of the Anammox Process with Low Concentrations of Suspended Biomass In A Membrane Bioreactor: Experimental and Modelling Results.** Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/318018150>. Acesso em: 20 set. 2021.

YAN, Y.; WANG, Y.; WANG, W.; ZHOU, Z.; WANG, J.; GUO, J. Comparison of short-term dosing ferrous ion and nanoscale zero-valent iron for rapid recovery of Anammox activity from dissolved oxygen inhibition. **Water Research**, [s.l.], v. 153, n.50, p. 284-294, abr., 2019.

ZENATTI, D.C.; GOMES, S.D.; FAZOLO, A.; COSTANZI, R. N.; HASAN, S. D. M.; GENTELINI, A. L. Nitrificação de efluente de abatedouro de tilápia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n., p. 750-754, 2009.

ZESSNER, M.; LAMPERT, C.; KROISS, H.; LINDTNER, S. Cost comparison of wastewater in Danubian countries. **Water Sci. Technol.**, v. 62, [s.n], p. 223-230, 2010.

ZHANG, F. Z. *et al.* A novel simultaneous partial nitrification Anammox and denitrification (SNAD) with intermittent aeration for cost-effective nitrogen removal from mature landfill leachate. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, [s.n], p. 619-628, 2017a.

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

ZHANG, M.; WANG, S.; JI, B.; LIU, Y. Towards mainstream deammonification of municipal wastewater: Partial nitrification-Anammox versus partial denitrification-Anammox. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 692, n.1, p.393-401, nov., 2019.

ZHU, G. *et al.* Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 192, [s.n], p. 159-195, 2008.

ZHU, G.; WANG, S.; MA, B.; WANG, X.; ZHOU, J.; ZHAO, S.; & LIU, R. Anammox granular sludge in low-ammonium sewage treatment: Not bigger size driving better performance. **Water Research**, v. 142, [s.n], p. 147-158, 2018.

ARTIGO 1: REATORES DE BIOFILME AERADO POR MEMBRANA OPERADO EM BATELADA SEQUENCIAL (MABR-BS) PARA ENRIQUECIMENTO DE MICRORGANISMOS ANAMMOX® A PARTIR DE AERÓBIOS E ANAERÓBIOS

Resumo

O presente trabalho objetivou promover, em reatores de biofilme aerado por membrana, operados em batelada sequencial, o enriquecimento de biomassa Anammox®, a partir de 3 fontes de lodo, coletadas em 1 ponto anaeróbio e outro aeróbio, de estações de tratamento de efluentes, bem como visa estudar o comportamento dos reatores ao passar por 3 diferentes cargas de N. Os reatores receberam as seguintes nomenclaturas de acordo com os locais de coleta do lodo bruto: R1 UASB.An - reator inoculado com lodo anaeróbio de reator UASB; R2 UASB.Mx - reator inoculado com lodo misto do reator UASB, entre descarte de lodo e espuma sobrenadante; R3 Lixiviado.An - reator inoculado com lodo anaeróbio de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; R4 Lixiviado.Mx - reator inoculado com lodo misto entre as lagoas aeróbia e anaeróbia da estação de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; R5 Ab.suíno.An - reator inoculado com lodo anaeróbio da estação de tratamento de efluente de abate suíno e R6 Ab.suíno.Mx - reator inoculado com lodo aeróbio e anaeróbio da estação de tratamento de efluente de abate suíno. Foram conduzidos 6 MABRs (*Membrane Aerated Biofilm Reactors*/Reatores de Biofilme Aerado por membrana) em batelada sequencial. Os reatores contaram com membrana interna de silicone, em que, no interior, circulava corrente de ar e pela microporosidade da membrana, de maneira que o oxigênio era liberado no biofilme microbiano nitrificante aderido à membrana. O biofilme cumpre a missão de reter o oxigênio, liberando nitrito como substrato Anammox®, além de permitir a condição anaeróbia ou anóxica exigida pelas bactérias Anammox® no liquor do reator. Nos reatores anaeróbios, a proporção foi de 2:3 (v:v) entre inóculo anaeróbio e efluente sintético e, para os reatores mistos, a proporção foi de 1:1:3 (v:v), entre o inóculo aeróbio, inóculo anaeróbio e efluente sintético. Os reatores foram testados com 3 diferentes cargas volumétricas de nitrogênio em $\text{Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (0,005 / 65 dias; 0,0083 / 101 dias e 0,025 / 95 dias). Todos os reatores, com 20 dias de operação, já demonstraram estequiometria compatível com remoção de N pela via desamonificante. O reator com maior eficiência foi o R1 UASB.An, com 96% de remoção de N, na CVN, $0,005 \text{ Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Os reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An foram estatisticamente iguais com o melhor de desempenho de remoção final de N com 5% de significância pelo teste estatístico Kruskal-Wallis. Como os lodos anaeróbios estavam presentes em todos os reatores, nos lodos enriquecidos R1 UASB.An, R3 Lixiviado.An e R5 Ab.suíno.An, foi realizada análise de sequenciamento genético que acusou a presença da bactéria Anammox® *Candidatus Anammoxiglobus propionicus*, com destaque para o reator R1 UASB.An, em que 18% da amostra foram de microrganismos Anammox®.

Palavras-chave: Biofilme nitrificante, Reatores MABR-BS, Desamonificação.

1 Introdução

A remoção biológica de nitrogênio por meio de microrganismos Anammox® apresenta muitas vantagens em relação aos métodos tradicionais. Entre as vantagens, destaca-se a economia de energia, redução expressiva de espaço físico quando

comparados com lagoas anaeróbias e aeradas ou mesmo sistema de lodos ativados, redução na quantidade de lodo gerado.

Outra possibilidade vantajosa, que vem sendo explorada, é a ideia de separação de processos, digestão anaeróbia em processo primário e remoção de nitrogênio via Anammox[®] em processo secundário, possibilitando que o carbono orgânico, que seria usado na remoção heterotrófica de nitrogênio, potencialize a produção de biogás/energia (LUI *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2020; MORALES *et al.*, 2015; KARTAL *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2008).

O desafio, no entanto, para aplicar essa tecnologia, está em obter biomassa robusta para inoculação de reatores em larga escala, motivando, portanto, pesquisas em enriquecimento de biomassa Anammox[®].

Os microrganismos Anammox[®] fazem a remoção de nitrogênio usando nitrito como aceptor final de elétrons, em uma relação 1:1,32 (NH₄⁺:NO₂⁻), demandando, portanto, a nitrificação parcial. Esse processo fornece o nitrito como substrato para a biomassa Anammox[®]. Quando a nitrificação parcial e a remoção final de N ocorrem em um reator único, a estequiometria dos processos é descrita pela equação 1 (MIAO *et al.*, 2017).



Para que os reatores de Nitrificação parcial/Anammox[®] (NP/A) em fase única sejam viáveis, o processo passa pelo ponto crucial de controle do oxigênio dissolvido no interior do reator, para promover uma relação de sinergia e atividade balanceada entre microrganismos formadores de nitrito e microrganismos Anammox[®] (CHEN *et al.*, 2020).

A tecnologia, que emprega o uso de membranas permeáveis em reatores biológicos de fase única NP/A, vem sendo explorada atualmente, apresentando uma importante vantagem no controle das condições anóxicas exigidas nesses reatores. Como consequência, atua colaborando com a redução expressiva no tempo de *start-up*; a literatura tem indicado, para essa tecnologia, tempos de *start-up* entre 16 e 77 dias (WANG *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2019, SALEEM *et al.*, 2018, AUGUSTO *et al.*, 2018).

Os reatores confeccionados no modelo MABR possibilitam a separação física entre massa de ar e biomassa Nitritante/Anammox[®], em que um lado da membrana é insuflado com corrente de ar e, no outro lado, forma-se um biofilme microbiano que recebe uma dose ínfima de oxigênio, dissipada pela microporosidade da membrana. O biofilme, aderido nas membranas do reator MABR, é responsável pelo processo de nitrificação parcial, e o processo Anammox[®] efetiva-se no meio líquido (*bulk-liquid*) (AUGUSTO *et al.*, 2018).

Outra importante vantagem dos reatores de desamonificação (fase única), em comparação com os reatores Anammox[®], que são alimentados com efluente na relação 1:1,32 amônio:nitrito, é referente à biotoxicidade do nitrito aos microrganismos Anammox[®]. Diversos autores relatam a necessidade de um controle na liberação de nitrito, visando manter uma baixa concentração desse substrato nos reatores, para viabilizar a sua ampliação de escala (JIANG *et al.*, 2021; LU *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2020).

Pensando na problemática do nitrito em reatores Anammox[®] e considerando que o oxigênio é o aceptor final de elétrons na estequiometria da nitrificação parcial, a dosagem controlada do oxigênio, feita por meio de membranas e fornecimento de oxigênio, em regime intermitente, auxiliam para uma melhor regulação do nitrito contribuindo para eficiência do processo NP/A (BUNSE *et al.*, 2020).

Os reatores em batelada sequencial são amplamente conhecidos pela fácil operação e baixo custo e vêm sendo estudados nos processos de remoção de nitrogênio via Anammox[®] em um ou dois estágios (WANG *et al.*, 2021; VERMA *et al.*, 2020; ASSIS *et al.*, 2017, CAO *et al.*, 2017). No entanto, ainda não foi reportado, na literatura, o uso de reatores em batelada com sistemas de dispersão de oxigênio e formação de biofilme nitritante aerado em membrana (MABR), para remoção de nitrogênio pela via metabólica Anammox[®]. O uso de um reator MABR com membrana interna de silicone, para dispersão de OD, é relatado por Augusto *et al.*, (2018), porém, com alimentação contínua.

Os microrganismos Anammox[®] já foram identificados nas mais diferentes fontes de lodo, dentre as quais, pode-se destacar as estações de tratamentos de esgoto sanitário, lixiviado de aterro sanitário, abatedouros de animais, esterqueiras, entre outros. (Kunz *et al.*, 2007; Menegon *et al.*, 2017; Reginatto *et al.*, 2005; Saleem *et al.*, 2018; Gupta *et al.*, 2019). Porém, a lenta taxa de duplicação, que resulta em lento *start-up* dos reatores, também desafia a ampliação de escala de sistemas Anammox[®].

Nesse sentido, o modelo MABR, com seus bons resultados em termos de velocidade *start-up*, associado à simplicidade da alimentação em batelada sequencial, permite ampliar os testes com diferentes fontes de biomassa, possibilitando analisar não somente a velocidade de enriquecimento de microrganismos Anammox[®], mas também testar as fontes de biomassa local. Isso traz para a realidade agroindustrial da Região Oeste do Paraná/Brasil a possibilidade de obter, de forma simplificada, fontes de inóculo Anammox[®].

Portanto, o objetivo deste trabalho foi promover o enriquecimento de biomassa Anammox[®] a partir de biomassa inicial, oriunda de 3 estações de tratamento de efluentes da região do Oeste do Paraná, as quais são: estação de tratamento de esgoto

doméstico, estação de tratamento de lixiviado de aterro sanitário, estação de tratamento de efluentes de abatedouro suíno, com amostras de lodo aeróbio e anaeróbio. O enriquecimento foi feito em reatores de biofilme nitritante, aerado em membrana tubular de silicone, testando três cargas volumétricas de nitrogênio ($0,005$; $0,0083$ e $0,025 \text{ Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$).

2. Material e Métodos

2.1 Configuração dos reatores

Na Figura 1, é apresentado o aparato experimental utilizado na condução do trabalho, em que os reatores MABR em batelada sequencial foram utilizados no enriquecimento de biomassa Anammox[®] a partir de diferentes fontes de inóculo.

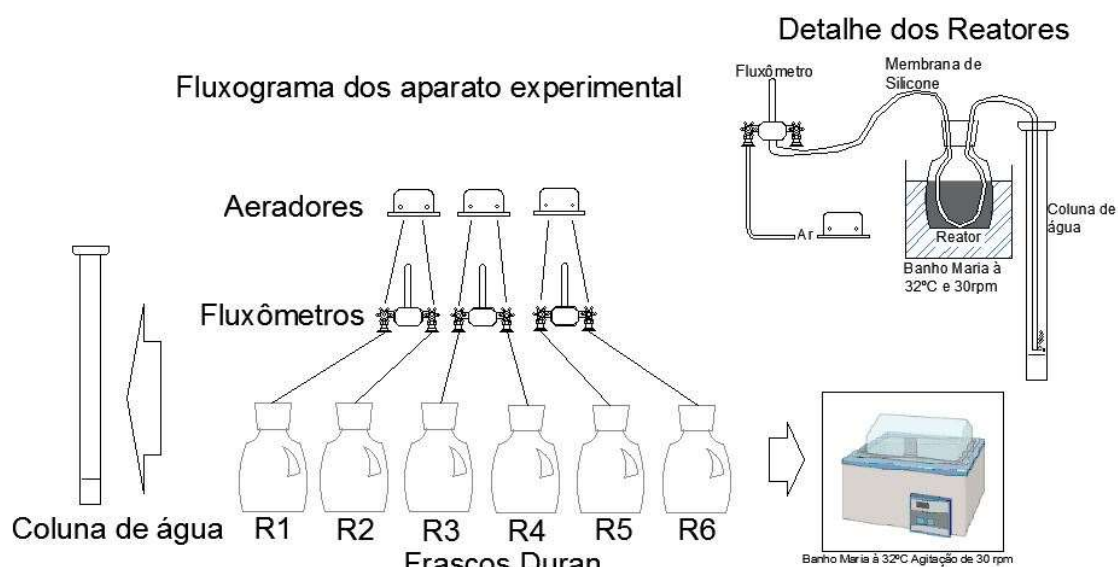


Figura 1 Detalhamento do aparato experimental MABR em Batelada Sequencial.

O aparato experimental dos reatores foi composto de: seis frascos de vidro Duran com volume de 1L, com 500 mL de volume útil e 500mL de volume equivalente ao *head-space*; 3 aeradores acoplados a 3 fluxômetros para controle da vazão de ar; 30 cm de membrana de silicone em formato curvilíneo com uma das entradas conectadas ao aerador e fluxômetro, com vazão de ar regulada em $1,0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; a outra saída foi imersa em coluna de água de 75 cm, com a função de exercer pressão sobre o ar insuflado dentro da membrana tubular de silicone, o que obrigada o ar a sair pela porosidade da membrana. A aeração foi intermitente, contando com um temporizador.

A Figura 2 apresenta o aparato experimental utilizado em laboratório (A); há o detalhe (B) do frasco Duran em vidro com o volume útil ocupado pela mistura de lodo e efluente sintético.



(A)



(B)

Figura 2 Aparato experimental usado em laboratório. (A) Equipamento banho maria com as 6 unidades reações. (B) Frasco Duran no momento da inoculação com o volume útil preenchido com a mistura lodo e efluente sintético.

A membrana de silicone utilizada teve espessura de parede de 2mm e diâmetro externo de 8mm; a área de contato disponível para o crescimento microbiano e formação de biofilme aderido na membrana foi de 15,07cm².

As seis unidades reacionais foram mantidas em um equipamento banho maria com temperatura controlada em 32°C ± 2°C e agitação de 30 rpm.

Os seis reatores foram revestidos externamente com papel alumínio para proteção contra a luz, a fim de evitar o crescimento de organismos fototróficos e a possível produção de oxigênio relacionada a eles, conforme recomendado por Tang *et al.* (2011).

2.2 Fontes de inóculo

Para o enriquecimento de biomassa Anammox[®], foram realizadas coletas de inóculo em 3 estações de tratamento de efluentes: i) reator UASB que trata esgoto sanitário - foram coletadas amostras no descarte de lodo e na espuma sobrenadante do reator; ii) lagoas anaeróbia e aeróbia que tratam lixiviado de aterro sanitário - foram coletadas amostras de lodo em ambas as lagoas; e iii) lagoas anaeróbia e aeróbia que tratam efluente de abate suíno - foram coletadas amostras de lodo em ambas as lagoas.

Com as amostras de inóculo obtidas, foram montadas 6 unidades reacionais, 3 com lodo anaeróbio das 3 estações de tratamento de efluentes, na proporção 2:3 (v:v),

entre inóculo anaeróbio e efluente sintético, e 3 unidades com lodo das 3 estações de tratamento de efluentes, na proporção 1:1:3 (v:v) entre o inóculo aeróbio e/ou a espuma de sobrenadante, no caso da ETE – Esgoto Doméstico, inóculo anaeróbio e efluente sintético.

As seis unidades reacionais receberam as nomenclaturas: R1 UASB.An - reator inoculado com lodo anaeróbio de reator UASB; R2 UASB.Mx - reator inoculado com lodo misto do reator UASB, entre descarte de lodo e espuma sobrenadante do reator UASB; R3 Lixiviado.An - reator inoculado com lodo anaeróbio de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; R4 Lixiviado.Mx - reator inoculado com lodo misto entre as lagoas aeróbia e anaeróbia da estação de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; R5 Ab.suíno.An - reator inoculado com lodo anaeróbio da estação de tratamento de efluente de abate suíno e R6 Ab.suíno.Mx - reator inoculado com lodo aeróbio e anaeróbio da estação de tratamento de efluente de abate suíno.

Todos os lodos foram diluídos no próprio efluente do local de coleta para atingir a concentração de sólidos voláteis de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$, baseado no processo de inoculação utilizado por Augusto *et al.*, (2018).

2.3 Alimentação sintética

A alimentação sintética foi adaptada de Van de Graaf *et al.* (1996), seguindo a formulação: NH_4Cl (100 mg.L^{-1}); NaHCO_3 ($1,5 \text{ g.L}^{-1}$); KH_2PO_4 ($0,0272 \text{ g.L}^{-1}$); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,3 \text{ g.L}^{-1}$); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,18 \text{ g.L}^{-1}$); solução de elemento traço I (para 1L de água ultrapura: EDTA, 5g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 9,15g) 1 mL da solução por litro de efluente sintético; Solução de elemento traço II (para 1L de água ultrapura: EDTA, 15g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,43g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,24 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,99 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,25 g; $\text{Na-MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,22 g; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,19g; Na_2SeO_3 (anidro), 0,10 g; H_3BO_4 , 0,014g) 1 mL da solução por litro de efluente sintético.

2.4 Procedimento operacional

Antes da partida dos reatores, os lodos, em suas respectivas misturas, permaneceram em contato com os 30 cm da membrana tubular de silicone por um período de 20 dias, em que os aeradores permaneceram ininterruptamente ligados para que ocorresse uma formação inicial de biofilme nitritante aderido à membrana.

A operação dos reatores em batelada ocorreu com tempos de ciclo (TC) de 5, 3 e 1 dia, com duração de 65 dias em condição com TC de 5 dias, 101 dias com TC de 3 dias e 95 com TC de 1 dia, correspondendo às cargas volumétricas de nitrogênio (CVN)

de 0,005; 0,0083 e 0,025 $\text{Kg}_N.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, respectivamente. Isso totaliza um tempo de operação de 261 dias.

A aeração foi intermitente, sendo fornecido 1 minuto de aeração de acordo com os intervalos de fornecimento de ar da Tabela 1.

Tabela 1. Detalhamento das condições de micro-aeração de acordo com o TC e CVN testadas no experimento.

TC (Dias)	CVN ($\text{Kg}_N.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$)	Tempo total de aeração durante cada tempo de reação (horas)	Intervalo de aeração (horas)
5	0,005	0,5	4
3	0,0083	0,83	1,44
1	0,025	2,5	0,16

A alimentação dos reatores MABR em batelada sequencial seguiu as etapas: 1) desligar a agitação; 2) deixar os reatores em repouso por 1 h para a decantação dos sólidos; 3) remover 300mL do sobrenadante com auxílio de seringa de 50mL, deixando, no frasco, 200 mL de volume residual; e 4) substituir o volume do sobrenadante retirado, com substrato sintético.

Ao final de cada batelada, os 300 mL de sobrenadante removidos eram reservados para realização das análises físico-químicas.

2.5 Métodos analíticos físico-químicos

Os parâmetros de monitoramento dos reatores e de caracterização do lodo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 Parâmetros avaliados na caracterização do lodo e na atividade ANAMMOX[®] durante o experimento.

Parâmetro	Unidade de medida	Método Analítico*
Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK)	mg L^{-1}	Titulométrico
Nitrogênio Amoniacal (N-NH_4^+)	mg L^{-1}	4500- NH_3 F – Colorimétrico
Nitrato(N-NO_3^-)	mg L^{-1}	Análise por Injeção em Fluxo (FIA)
Nitrito(N-NO_2^-)	mg L^{-1}	Análise por Injeção em Fluxo (FIA)
pH	–	Potenciométrico
Alcalinidade total (AT)	$\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$	2320 B – Titulométrico

Sólidos Totais (ST)	mg L ⁻¹	2540B – Gravimétrico
Sólidos Voláteis (SV)	mg L ⁻¹	2540B – Gravimétrico
Sólidos Fixos (SF)	mg L ⁻¹	2540B – Gravimétrico
Oxigênio Dissolvido (OD)	Mg.L ⁻¹	Potenciométrico
Carbono Orgânico Total (COT)	Mg.L ⁻¹	NPOC

Fonte: *AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA (2005);

O COT foi determinado usando um analisador de TOC (TOC-LCPH/CPN, Shimadzu, Kyoto, Japão), seguindo as recomendações do fabricante, com o método NPOC.

2.6 Avaliação temporal do consumo de oxigênio dissolvido

Ao final da condução das 3 CVN estudadas, foi realizado, em todos os reatores, o teste de consumo de oxigênio dissolvido. Foi instalada uma sonda Hach® HQ430D programada para realizar a leitura de oxigênio dissolvido a cada 15 minutos, durante um período de 24 horas. Adotou-se realizar o ensaio com duração de 24h, pois esse foi o último tempo de ciclo testado no experimento.

Os resultados são expressos em gráficos temporais (consumo de OD no tempo); o tempo de consumo de OD, apresentado nos gráficos temporais, é equivalente até o momento em que os reatores entraram definitivamente em anaerobiose.

2.7 Biologia molecular

Para verificação da existência de microrganismos Anammox®, os lodos das unidades reacionais anaeróbias, sendo elas R1 UASB.An, R3 Lixiviado.An e R5 Ab.suíno.An (lodo presente em todos os reatores), passaram, ao final do experimento, por sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo próprio do laboratório Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil. Foi realizada a amplificação com primers para região V3-V4 do gene rRNA 16S, 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG, WANG & QIAN, 2009) e 806R (GGACTACHV GGGTWTCTAAT, CAPORASO *et al.*, 2010).

As bibliotecas foram sequenciadas, utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o kit V2, com 300 ciclos e sequenciamento *single-end*. As sequências foram analisadas por meio do *pipeline* Sentinel, filtrando a qualidade das sequências, usando o FastQC v.0.11.8 (ANDREWS, 2010), com remoção das quimeras (SMYTH *et al.*, 2010). A classificação taxonômica foi realizada com blastn v.2.6.0+ (ALTSCHUL *et al.*, 1990), avaliando se um dos quesitos seriam atendidos: 1)

maior bit-score; 2) menor e-value; e 3) taxonomias com maior representação. Nessa classificação taxonômica, foi utilizado o banco de dados da Neoprosecta Microbiome Technologies.

2.8 Teste de comparação estatística entre os reatores

Para comparar as igualdades e diferenças estatísticas entre os reatores, os dados de remoção global de nitrogênio foram submetidos a dois testes de normalidade (Shapiro-Willks e Levene), a 5% de significância; uma vez comprovada a não normalidade dos dados, foi realizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis com 5% de significância.

A variável resposta utilizada no teste Kruskal-Wallis, para comparação entre os 6 reatores, foi a eficiência global de remoção de N, durante os 261 dias de experimento.

3 Resultados e Discussão

3.1 Partida dos reatores e análise do comportamento-temporal

A Tabela 3 apresenta a caracterização dos lodos usados no estudo.

Tabela 3 Caracterização físico-química dos lodos coletados nas três estações de tratamento de efluentes, Reator UASB que trata esgoto sanitário municipal, Lagoas de Estabilização que tratam lixiviado de aterro sanitário e Lagoas de Estabilização que tratam água residuária de abate suíno.

Parâmetro*	L1	L2	L1	L2	L1	L2
	ETE	ETE	Lixiviado	Lixiviado	Abate	Abate
NTK (g.L ⁻¹)	2,50	8,84	1,55	4,78	7,12	2,44
N-NH ₄ ⁺ (g.L ⁻¹)	0,30	0,04	0,18	0,02	0,17	0,18
pH	7,84	8,5	8,84	8,8	7,91	8,11
AT (g.L ⁻¹)	0,26	0,51	0,39	0,66	0,48	0,32
ST (g.L ⁻¹)	61,64	12,82	71,90	83,78	126,88	126,88
SF (g.L ⁻¹)	46,78	5,18	65,68	66,04	118,00	212,84
SV (g.L ⁻¹)	43,48	7,64	66,22	17,74	8,87	14,20
DQO (g.L ⁻¹)	0,94	0,83	0,57	0,27	0,08	0,18
Relação DQO/NTK	3,10	18,93	3,186	10,69	0,50	1,10

Legenda: L1-ETE = amostra coletada no descarte de lodo do reator UASB da estação de tratamento de esgoto municipal; L2-ETE = amostra coletada na espuma do reator UASB da estação de tratamento de esgoto sanitário municipal; L1-Lixiviado = amostra coletada na lagoa anaeróbia do sistema de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; L2-Lixiviado = amostra coletada na lagoa aeróbia do sistema de tratamento de lixiviado de aterro sanitário; L1-Abate = amostra coletada na lagoa anaeróbia do sistema de tratamento de água residuária de abate suíno; e L2-Abate = amostra coletada na lagoa aeróbia do sistema de tratamento de água residuária de abate suíno.

*Os parâmetros N-NO₃⁻ (g.L⁻¹) e N-NO₂⁻ (g.L⁻¹) estiveram abaixo do nível de detecção do método quantificador.

Ao analisar a caracterização do liquor dos lodos coletados para o experimento, destacam-se as diferentes relações carbono/nitrogênio (C/N), detectadas em cada lodo do estudo. Segundo Li *et al.* (2020), existe uma relação direta entre a produção de moléculas de sinalização específicas de *quorum sensing* (QS) e a relação C/N.

O sensor de quórum (QS) foi considerado como um mecanismo para as bactérias se adaptarem a estresses ambientais; o QS (moléculas conhecidas como N-acil-homoserina lactonas - AHLs) pode retroalimentar a informação da densidade da bactéria ao redor das células e, assim, regular diretamente a expressão dos genes alvo. Uma vez induzida a produção de AHLs, a identificação do gene Anammox[®] é aumentada (Tang *et al.*, 2015).

No estudo de Li *et al.* (2020), quanto menor a relação C/N, maior foi a produção de moléculas QS. Diante disso, os reatores inoculados com lodo dos locais de coleta L2 ETE e L2 Lixiviado têm menor chance de manter controle sobre a atividade Anammox[®] devido à sua baixa capacidade de produzir moléculas de sinalização QS.

Na Figura 3, são apresentados os gráficos temporais dos 6 reatores estudados. É apresentado o comportamento das formas nitrogenadas ao término das bateladas em cada uma das três cargas volumétricas de nitrogênio (CVN) testadas.

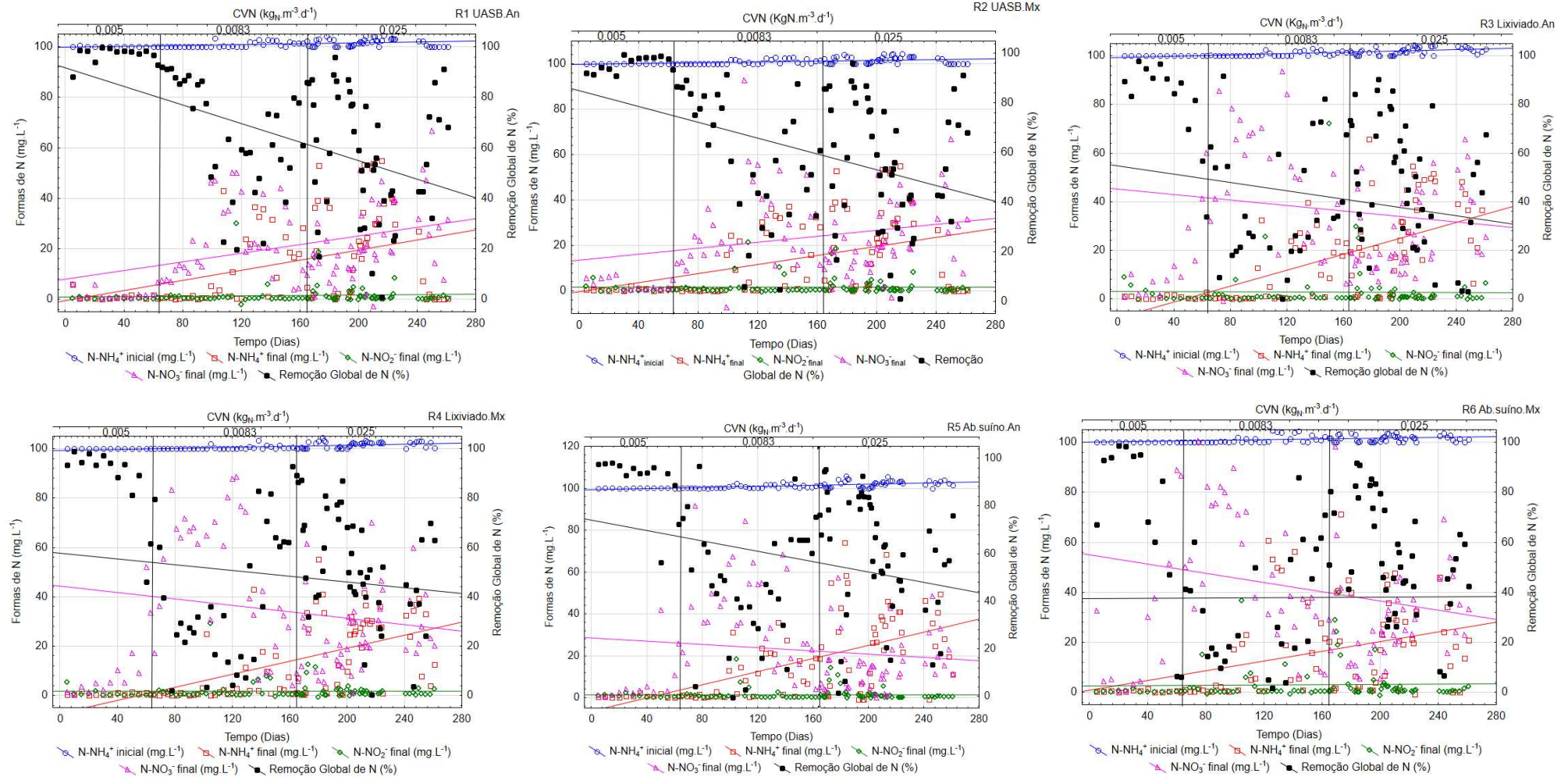


Figura 3 Comportamento Temporal dos Reatores em função da Carga Volumétrica de Nitrogênio (CVN) aplicada, para os TDH de 5, 3 e 1 dia, respectivamente.

Todos os reatores apresentaram remoção de N acima de 80%, durante os 65 dias de operação, equivalentes a CVN $0,005 \text{ kg}_N \cdot \text{m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$, demonstrando a possibilidade da atividade de grupos bacterianos com atividade Anammox[®] ter sido alcançada a partir de 20 dias de operação. Outra possibilidade para alta eficiência inicial de remoção de N pode ser atribuída por via heterotrófica (desnitrificação completa).

Todos os lodos, fonte de partida dos reatores, possuíam DQO remanescente em sua composição, sendo a DQO mínima de $0,08 \text{ g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1}$ (reator R5. Abate.An.). Os reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An tiveram destaque no *start-up* com eficiências de remoção de N acima de 90%. Entre todos os reatores, os reatores R1 UASB.An e R2 UASB.Mx. apresentaram maior similaridade entre si, e isso é atribuído ao lodo utilizado na inoculação ser proveniente do mesmo local de coleta.

Com o aumento da CVN, todos os reatores demonstraram perda do equilíbrio com relação à produção de nitrato e consequente diminuição da eficiência de remoção de nitrogênio. Ao operar um reator contínuo de biofilme aerado por membrana, Augusto *et al.* (2018) apresentaram a mesma dificuldade em manter o comportamento uniforme da atividade Anammox[®]. Segundo os autores, a mudança de carga provocou um desequilíbrio da atividade bacteriana Anammox[®] em favorecimento de bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e oxidadoras de nitrito (BON), assim como evidenciado na presente pesquisa.

Na Figura 2, observa-se que todos os reatores perderam a estabilidade a partir da segunda CVN aplicada ($0,0083 \text{ kg}_N \cdot \text{m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$), porém, nos reatores R2 UASB.Mx, R3 Lixiviado.An e R6 Ab.suíno.Mx, pode-se perceber acúmulos pontuais de nitrito, substrato que traz maior preocupação por sua alta biotoxicidade aos microrganismos Anammox[®].

Jin *et al.* (2012) comentam que, mesmo em baixas doses, o nitrito pode causar inibição Anammox[®]. Os autores apontam concentrações inibitórias variando entre 5 e $340 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e enfatizam que o ideal é manter o nitrito em uma concentração 50% menor que a concentração de amônia.

Pode-se atribuir o acúmulo de nitrito, nos referidos reatores, à baixa oxigenação, uma vez que o oxigênio é o aceptor final de elétrons das bactérias BOA e BON. Portanto, houve oxigênio para as reações de BOA e insuficiente para as reações de BON (MADIGAN *et al.*, 2010). Como a possível atividade Anammox[®] foi reduzida pela mudança de carga, o nitrito, gerado por BOA, não foi usado na proporção relativa ao processo Anammox, acumulando no reator e contribuindo ainda mais para a inibição da atividade desse grupo de microrganismos.

Jin *et al.* (2012) ainda afirmam que 12h em ambiente tóxico pela presença do nitrito é o suficiente para inibição completa dos microrganismos Anammox[®]. Na presente pesquisa, todos os tempos de ciclo foram superiores a 12h, permitindo inferir que um único

ciclo com excesso de nitrito já exerceria influência negativa sobre a estabilidade dos reatores, prejudicando o retorno da desamonificação.

Ao realizar o cálculo dos coeficientes estequiométricos para remoção de N ocorrendo pela ação de microrganismos Anammox[®], chegou-se ao valor máximo para o coeficiente de N₂ em 0,5 para todos os reatores (Figura 4). Esse coeficiente estequiométrico é próximo ao valor teórico de Miao *et al.* (2017), que é de 0,44 mol de N₂ gerado por mol de NH₄⁺ consumido.

Para fins de comparação, Burghate & Ingole (2014) ao calcular os coeficientes para remoção de nitrogênio via desnitrificação heterotrófica (fonte de carbono: metanol), os autores chegaram ao coeficiente de 6 moles de N₂ gerados para cada 2 moles de NH₄⁺ consumidos. Isso permite inferir que a via de desnitrificação heterotrófica gera 3 moles de N₂ por mol de NH₄⁺ transformado.

Como os coeficientes estequiométricos do presente estudo, estiveram limitados a valores próximos do valor teórico de Miao *et al.* (2017). Foi considerado que, quando houve liberação de N à forma gasosa N₂, a via utilizada foi a da desamonificação, ou seja, houve a participação de microrganismos com atividade Anammox[®] na remoção final de N.

Durante os 101 dias de operação, com 3 dias de TC e CVN de 0,0083 kg_N.m³.dia⁻¹, os reatores não retornaram ao comportamento estável, porém, todos demonstraram, com o tempo, uma adaptação da possível atividade Anammox[®] com aumento expressivo da eficiência de remoção de N a partir de 120 dias de operação. Na última CVN testada (0,025 kg_N.m³.dia⁻¹), foi observado o mesmo comportamento; nos primeiros dias de troca de carga, houve queda na eficiência de remoção de N e o seu retorno gradual foi visualizado a partir do dia 240 do experimento.

As linhas de regressão dos dados demonstram a tendência de comportamento durante todo o experimento. Pode-se perceber que o único reator, com tendência geral dos dados de eficiência (remoção de N) inferior a 40%, é o R3 Lixiviado.An. Ao final do experimento, para fins do ensaio de respirometria, foi realizada a análise de SSV e o R3 Lixiviado.An apresentou o menor valor desse indicador de biomassa (0,41 mg.L⁻¹), justificando, portanto, o seu baixo desempenho.

Ao passar do tempo, o R3 Lixiviado.An foi perdendo biomassa, ao invés de aumentar a concentração de sólidos suspensos volatéis; vale destacar que, na caracterização do lodo, esse reator apresentou um valor de sólidos fixos de 65,68 mg.L⁻¹, porém, o aspecto visual desse lodo era mais denso e com presença de material inerte (areia, silte ou argila) superior aos demais, fato que visivelmente dificultava a mistura lodo/efluente durante o tempo de reação de cada batelada. Foi atribuído a esse fator a perda da capacidade de replicação da biomassa.

Na Tabela 4, apresentam-se os valores médios de remoção de N, produção percentual de nitrito e nitrato, presença de carbono orgânico (indicador de atividade heterotrófica) e a taxa de consumo de alcalinidade.

Tabela 4 Tabela-resumo com os percentuais de remoção de nitrogênio, incremento médio de nitrito e nitrato no descarte de efluente dos reatores, alcalinidade consumida/nitrogênio amoniacal removido e concentração final de carbono orgânico em cada carga volumétrica de nitrogênio estudada.

Reator	CVN	Remoção média de N	Alcalinidade consumida em média / N-NH ₄ ⁺ removido	Incremento médio de N-NO ₂ ⁻	Incremento médio de N-NO ₃ ⁻	Carbono Orgânico Total
	KgN. m ³ .dia ⁻¹	(%)	(mg _{Caco3} . mg ⁻¹ _{N-Nh4+})	(%)	(%)	(mg.L ⁻¹)
R1	0,005	96,76±3,25	12,12±1,39	0,22±0,31	1,94±2,30	14,69±7,17
UASB.An	0,0083	60,02±25,67	16,42±2,81	1,27±5,07	25,05±21,19	8,09±4,29
	0,025	55,50±24,13	18,66±4,88	1,83±3,74	22,35±14,81	7,48±5,30
R2	0,005	95,80±3,10	12,55±1,89	0,79±1,55	2,73±2,56	15,75±5,74
UASB.Mx	0,0083	55,45±34,69	16,39±2,25	1,69±4,20	31,17±30,43	6,92±2,19
	0,025	39,56±37,12	19,16±4,36	4,82±9,09	32,00±27,98	8,59±9,85
R3	0,005	81,49±18,22	13,45±1,56	1,62±2,74	15,20±17,82	12,47±5,14
Lixiviado.An	0,0083	24,54±53,11	16,27±2,46	3,69±12,75	57,00±50,75	7,51±3,45
	0,025	44,12±27,08	19,82±5,56	2,55±5,77	26,40±15,24	5,93±0,76
R4	0,005	86,93±15,69	12,15±2,04	0,70±1,42	11,02±15,17	20,91±10,90
Lixiviado.Mx	0,0083	33,50±39,21	14,90±2,59	1,97±5,03	54,94±38,74	7,93±4,22
	0,025	49,96±39,21	18,49±3,43	1,65±2,67	25,05±15,05	6,07±0,80
R5	0,005	90,29±12,27	12,75±2,45	0,63±0,65	7,84±12,20	12,19±24,02
Ab.suíno.An	0,0083	48,66±24,92	15,50±2,88	1,30±3,21	36,50±23,81	8,21±24,02
	0,025	55,37±27,15	20,78±7,28	1,56±2,89	15,77±12,54	6,12±7,67
R6	0,005	70,20±32,83	13,44±1,32	0,28±0,41	27,34±31,33	9,97±5,35
Ab.suíno.Mx	0,0083	20,55±45,06	17,07±5,92	2,60±6,81	57,34±44,50	6,38±1,89
	0,025	41,96±40,95	18,76±5,76	4,01±8,42	31,68±26,75	5,58±1,09

Dentre todos os reatores do estudo, o R2 UASB.Mx, conforme Tabela 4, apresenta queda progressiva de eficiência média e aumento também progressivo da quantidade de nitrato no reator. Assim, demonstra maior fragilidade na recuperação da atividade Anammox[®].

A explicação do comportamento do R2 UASB.Mx pode ter como base a relação C/N inicial. Esse reator foi inoculado com 100 mL de lodo, com C/N = 3,10 e 100mL de lodo

com C/N = 18,93, levando a uma relação C/N média de 11,01, ou seja, a maior relação C/N do experimento. Conforme comentado por Li *et al.* (2020), a relação C/N pode ser apontada como um fator determinante para a produção de moléculas de *quórum sensing*. A deficiência desse importante sinalizador pode ter contribuído para a dificuldade de recuperação notada no reator R2 UASB.Mx, em comparação com os demais.

Ao analisar as eficiências médias de remoção de N, o pior desempenho médio é do reator R6 Ab.suíno.Mx e o melhor desempenho médio é do reator R1 UASB.An, todavia, uma informação importante em reatores Anammox[®] é a capacidade de recuperação, a qual pode ser observada comparando as cargas em relação aos fatores remoção de N e incremento de nitrato.

Todos os reatores demonstram queda de eficiência no primeiro aumento de carga, porém, os únicos reatores que não demonstraram recuperação, ou seja, aumento de eficiência na terceira carga em comparação com a segunda carga aplicada, foram os reatores R1 UASB.An e R2 UASB.Mx. O comportamento inverso é notado no R5 Ab.suíno.An, que chega a acumular em média 36,50% de nitrato na segunda CVN testada e consegue reduzir para 15,77% a presença do nitrato em média, na terceira e maior CVN.

Ainda sobre a recuperação vista no R5 Ab.suíno.An, nota-se que, com relação à remoção média de nitrogênio, o reator teve um decréscimo médio de 90,20% para 48,66% da primeira para a segunda CVN, conseguindo recuperar a remoção de N. Assim, alcança a remoção média de nitrogênio de 55,37%, atingindo a remoção máxima de N de 82,52% na terceira e maior carga. Analisando o comportamento desse reator, pode-se também fazer o paralelo apresentado por Li *et al.* (2020) em relação ao sinalizador QS, pois o R5 Ab.suíno.An deu início ao experimento com a menor relação C/N entre todos os reatores.

Com a perda da atividade Anammox[®], as transformações do nitrogênio amoniacal passam a ser feitas por bactérias formadoras de nitrito e nitrato (DU *et al.*, 2019), as quais utilizam agentes alcalinizantes na estequiometria de suas reações, levando a um aumento do consumo da alcalinidade, superior a 7,14 mg de CaCO₃/NH₄ consumido, valor teórico de consumo da nitrificação completa (MADIGAN *et al.*, 2010).

Em todos os reatores, nota-se um aumento progressivo do consumo da alcalinidade por miligrama de nitrogênio amoniacal removido. Porém, o aumento do consumo de alcalinidade não pode ser atribuído unicamente pelo aumento da formação de nitrato, visto que o carbono inorgânico fornecido pela alcalinidade também é usado por microrganismos Anammox[®] para crescimento celular ($0,066\text{HCO}_3^-$ mol, segundo KARTAL *et al.*, 2010).

Os microrganismos Anammox[®], sendo autotróficos, crescem a partir de CO₂ como fonte única de carbono, entretanto, utilizam a via acetil-coa para fixação de carbono e produção de hidrazina. A hidrazina, por sua vez, é produzida no interior do Anamoxossomo,

organela de reações Anammox[®], sendo posteriormente transformada em N₂ (KARTAL *et al.*, 2013).

Yin *et al.* (2021) avaliaram o crescimento Anammox[®] ocorrendo por meio da fixação de acetado e encontraram indicadores de que diversos grupos de bactérias Anammox[®] podem crescer a partir, inclusive, de carbono orgânico. Esse fenômeno pode ocorrer em baixas relações C/N (>1,0) e, como no presente estudo, a relação C/N não sofreu aumento devido à alimentação sintética; o consumo de bicarbonato superior à demanda nitritante é atribuído ao crescimento celular Anammox[®] e, em todos os reatores, esse consumo foi impulsionado pelo aumento de carga. Conforme houve aumento da CVN, ocorreu aumento de consumo de alcalinidade.

Os valores de COT, apresentados na Tabela 4, indicam praticamente a inexistência de atividade heterotrófica; as pequenas variações, nos valores de carbono orgânico, são provenientes de morte celular microbiana, visto que não existiu fornecimento externo desse composto, pois o ambiente foi controlado para que a remoção de N ocorresse apenas pela via Anammox[®] (LIU *et al.*, 2021).

Na Tabela 5, são apresentados os valores de pH e alcalinidade parcial (carbonatos e bicarbonatos) e total (somatório de bicarbonatos e carbonatos e outros agentes alcalinizantes).

Tabela 5. Tabela resumo do comportamento dos 6 reatores estudados em cada carga volumétrica de nitrogênio aplicada em relação ao pH, alcalinidade parcial, alcalinidade total e carbono orgânico total.

Reator	CVN	pH			Alcalinidade Parcial			Alcalinidade Total		
		$\bar{x} \pm \sigma$	Mín.	Máx.	$\bar{x} \pm \sigma$	Mín.	Máx.	$\bar{x} \pm \sigma$	Mín.	Máx.
R1	0,005	8,33±0,59	6,89	8,95	25,27±11,53	7,45	46,45	300,15±135,35	35	486,5
UASB.	0,0083	7,35±0,94	5,08	9,07	41,91±45,38	0	171,25	55,28±55,45	0	201,75
An	0,025	7,61±0,70	6,42	9,39	45,29±46,10	6,25	222,3	72,73±87,65	12,5	464,5
R2	0,005	7,96±0,61	6,91	9,01	34,59±28,98	0	110,5	252,42±188,48	0	564,5
UASB.	0,0083	7,65±0,74	5,96	9,15	51,55±50,09	0	185,25	66,61±62,79	0	220
Mx	0,025	7,82±0,61	6,61	8,95	56,14±22,25	12,5	105	71,55±24,95	15	122,5
R3	0,005	8,18±0,52	7	9,25	32,69±28,01	0	88,5	165,19±155,35	0	532,5
Lixiviado	0,0083	7,42±1,01	4,59	9,83	39,22±26,55	0	137,5	52,10±34,92	0	166,75
.An	0,025	7,31±1,20	4,92	9,55	33,27±43,47	0	158,75	75,94±96,89	0	408,5
R4	0,005	8,32±0,50	7,58	9,4	38,28±21,70	14,45	81	292,41±199,69	44,5	663,5
Lixiviado	0,0083	7,61±1,32	4,58	9,51	40,37±50,03	0	166,25	95,55±104,55	0	423
.Mx	0,025	7,70±0,75	6,56	9,63	53,87±42,16	10	169,25	65,64±48,91	17,5	214,75
R5 Ab.	0,005	8,17±0,78	7,05	9,98	41,87±25,27	0	87,75	234,40±241,27	0	655,5
suíno.	0,0083	7,32±1,54	4,8	9,56	33,58±51,64	0	179	124,20±150,77	0	514
An	0,025	7,55±0,59	6,63	9,04	17,80±13,37	0,1	60,51	59,42±255	0	255

R6 Ab.	0,005	8,2±0,68	7,11	9,4	35,55±37,18	0	128	161,36±131,40	0	497
suíno.	0,0083	6,83±1,77	3,71	9,09	24,43±40,47	0	145,25	136,52±120,24	4,25	450
Mx	0,025	7,63±0,76	5,6	9,09	44,15±36,63	0	145,25	57,39±45,32	0	205

Os microrganismos Anammox[®], de acordo com a estequiometria apresentada por Van de Graaf *et al.* (1996) ($\text{NH}_4^- + 1.31\text{NO}_2^- + 0.0425\text{CO}_2 \rightarrow 1.045\text{N}_2 + 0.22\text{NO}_3^- + 1.87\text{H}_2\text{O} + 0.09\text{OH}^- + 0.0425\text{CH}_2\text{O}$), têm seu consumo de N-NH_4^+ e crescimento celular baseado no consumo de 0,0425 mol de CO_2 , o que não permite associar a atividade Anammox[®] a quedas bruscas de pH.

Embora todos os reatores do estudo tenham mantido valores médios de pH na faixa ideal para bactérias Anammox[®], os reatores R3 Lixiviado.An, R4 Lixiviado.Mx, R5 Ab.suíno.An e R6 Ab.suíno.Mx apresentaram valores mínimos de pH, que são inibidores de atividade (ZHANG *et al.*, 2019). Conforme foi possível notar por estudos de Assis *et al.*, (2017), a queda de pH é provocada por bactérias nitrificantes, ou seja, os valores inibitórios de pH são vistos nas fases em que houve descontrole da produção de nitrato (CVN de 0,0083 e 0,025 $\text{Kg}_\text{N} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$).

Zhang *et al.* (2021) testaram a capacidade de recuperação de microrganismos Anammox[®] após choque de pH em valores ácidos, com valor mínimo em pH 4,0 e choque básico com valor de pH máximo em pH 11. Em um período de 50 dias após o choque de pH ácido, os autores relatam recuperação de 90% da remoção de N em relação ao comportamento do reator anterior ao choque, em contraponto ao choque básico em que a recuperação chegou a 60%. Diante disso, no presente estudo, pode-se concluir que os choques de pH ácidos podem ter influenciado negativamente a eficiência dos reatores, porém, não em caráter definitivo.

Para melhor visualizar a desamonificação durante o experimento, os coeficientes estequiométricos de nitrato residual, nitrogênio gasoso e oxigênio consumido na reação são demonstrados na Figura 4 (representados por pontos em dispersão). Os dados são comparados aos mesmos coeficientes teóricos da equação 1 (representados em linha cheia no gráfico).

Os valores da presente pesquisa corroboram os coeficientes encontrados por Chini *et al.*, (2019). Os autores operaram um reator de desamonificação que tratou efluente sintético e testou o comportamento do reator em diferentes relações C/N. O referido reator foi inoculado com biomassa Anammox[®] registrada pela agência Brasileira Embrapa Suínos e Aves junto ao banco de microrganismos BRMSA 0323.

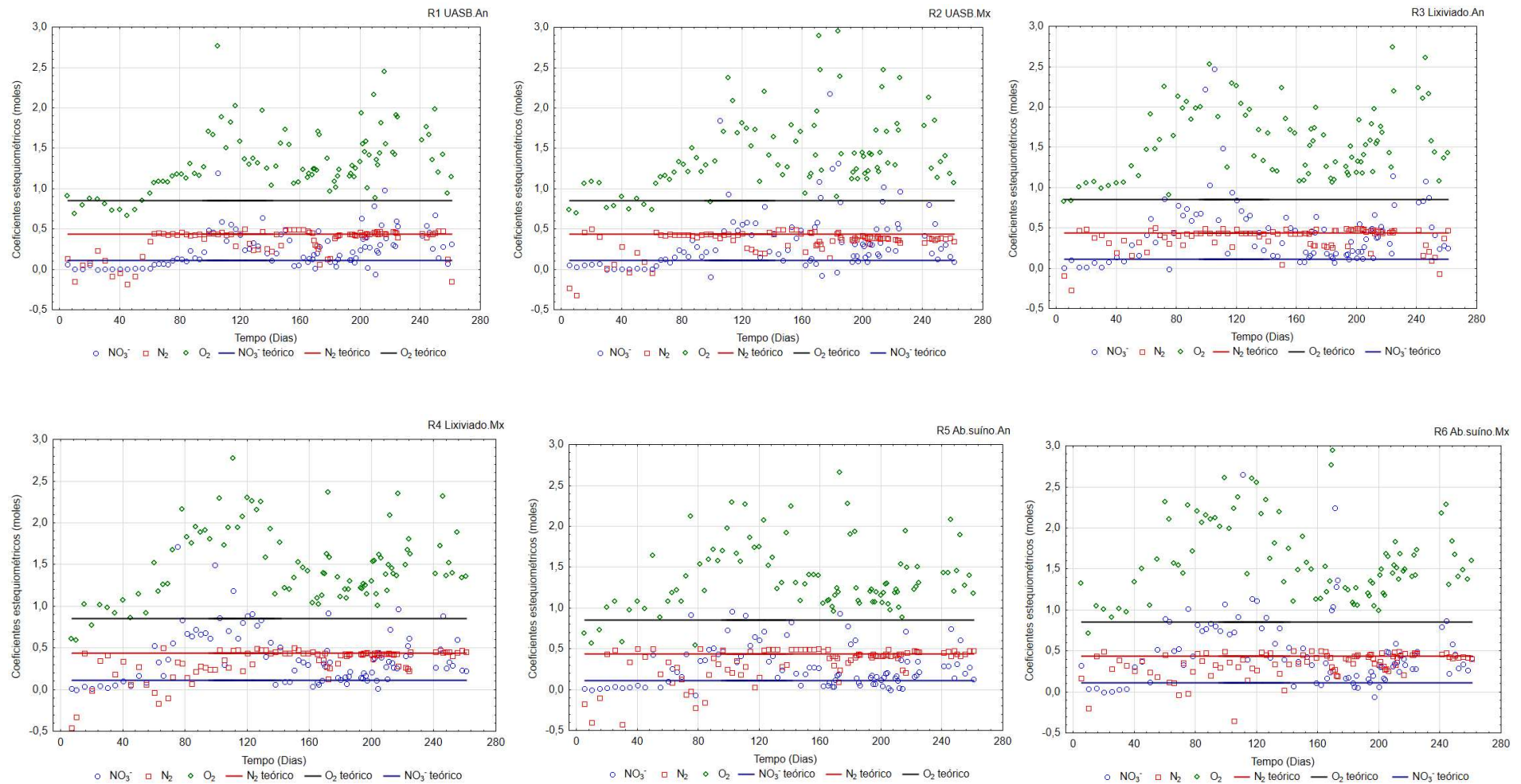


Figura 4. Comportamento Temporal dos reatores com relação aos coeficientes estequiométricos de maior importância para atividade desamonificante, os quais são: moles de nitrato e nitrogênio gasoso gerados e moles de oxigênio consumido por mol de nitrogênio amoniacal transformado em comparação com os coeficientes teóricos de Miao *et al.* (2017), equação 1 (1 para NH_4^+ , 0,44 para N_2 , 0,85 para O_2 e 0,11 para NO_3^-).

Quanto ao consumo de O_2 , na nitrificação parcial, os coeficientes estequiométricos apontam valores superiores ao da estequiometria teórica para reatores NP/A, dado pela equação 1. Comportamento semelhante foi encontrado por Chini *et al.* (2019), ao alimentar o reator estudado, com relação C/N = 1,0 (maior C/N do estudo); os autores atribuíram o consumo de OD maior a 1 mol de O_2 por mol de NH_4 consumido, à atividade de outros microrganismos nitrificantes, corroborando o ocorrido no presente estudo, visto que o consumo de OD e a presença de nitrato são compatíveis com bactérias oxidadoras de nitrito.

Segundo Madigan *et al.* (2010), são necessários 2 moles de O_2 por mol de NO_3^- gerado por bactérias formadoras de nitrato. Quando houver elevadas concentrações de NO_3^- , nos reatores MABR-BS, o consumo estequiométrico de O_2 foi superior a 2 moles, em concordância com Madigan *et al.* (2010).

3.2. Avaliação temporal do consumo de oxigênio dissolvido no biofilme aerada por membrana de silicone

Na Tabela 6, são apresentadas as condições iniciais e finais de pH, a concentração de sólidos suspensos voláteis (indicador de biomassa) e o tempo no qual aconteceu o consumo de oxigênio pelas bactérias presentes no biofilme, bem como seu entorno foi máximo, levando o ambiente dos reatores a entrar em anaerobiose.

Tabela 6 Tabela das condições iniciais e finais de pH e valor de sólidos suspensos voláteis do ensaio de respirometria, realizado ao final das 3 condições de CVN, aplicadas aos reatores.

Reator	pH inicial	pH final	SSV (g.L ⁻¹)	Tempo para tornar o ambiente anaeróbio (horas)
R1 UASB.An	8,33	7,71	2,64	3,5
R2 UASB.Mx	8,7	7,24	5,93	2,25
R3 Lixiviado.An	8,6	7,34	0,41	24
R4 Lixiviado.Mx	8,55	7,37	2,55	24
R5 Ab.suíno.An	7,42	6,9	3,82	2,0
R6 Ab.suíno.Mx	7,42	6,9	1,71	19

Em relação ao pH, nota-se que, nos ensaios de respirometria, os valores não entraram em valores inibitórios para biomassa Anammox[®].

Chama-se a atenção para os valores de SSV (Tabela 6). Durante o experimento, as condições operacionais dos reatores foram controladas para favorecer a atividade Anammox[®], em detrimento de outros grupos bacterianos, entre eles, biomassa nitrificante

e grupos heterotróficos. Diante disso, houve, na maioria dos reatores, com exceção do reator 2, decréscimo da concentração de sólidos voláteis em comparação com os valores iniciais de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$. O maior decréscimo no indicador de biomassa foi no reator 3.

A Figura 5 apresenta o comportamento temporal do consumo de oxigênio no biofilme do reator até atingir o consumo máximo, que torna o ambiente anaeróbio.

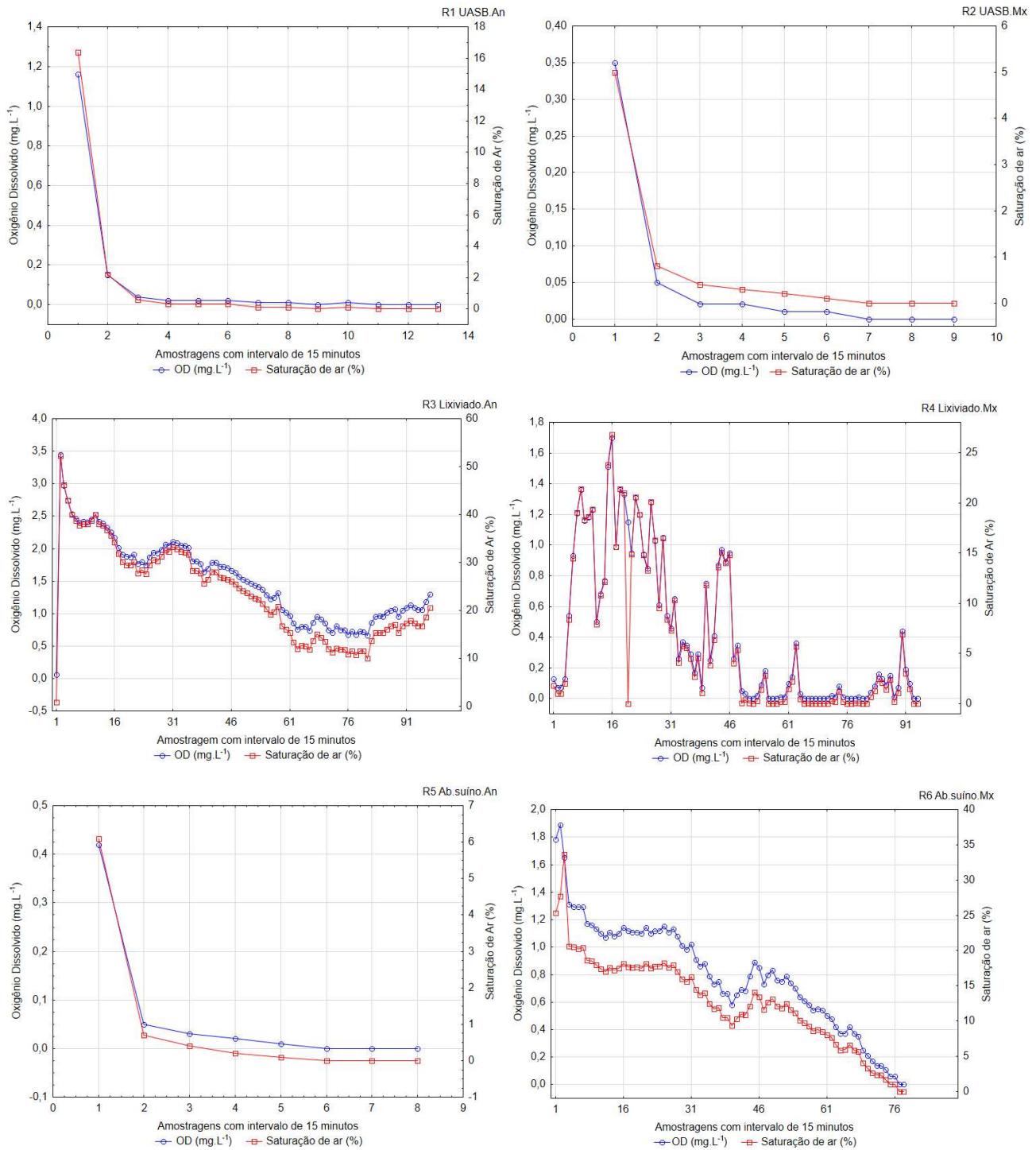


Figura 5 Comportamento de consumo de oxigênio dissolvido e saturação de oxigênio no meio líquido dos reatores.

Os reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An apresentam comportamento semelhante, no sentido de igualar a zero a presença de oxigênio, nas primeiras 2h de ensaio, e manter o ambiente do reator em anaerobiose até o final do ensaio de consumo de OD.

Os reatores R3 Lixiviado.An e R6 Ab.suíno.Mx apresentaram comportamento similar durante o ensaio ao demonstrar tendência de queda na presença de O₂ e saturação de oxigênio, porém, durante o ensaio, existiram pontos de acúmulo de oxigênio dissolvido, que demonstraram queda na atividade nitritante/nitratante e posterior retomada. Isso porque o R6 Ab.suíno.Mx, antes do final do ensaio, chegou ao consumo máximo de O₂, deixando o ambiente completamente anaeróbico nas 5 horas finais.

Outra similaridade entre os reatores R3 Lixiviado.An e R6 Ab.suíno.Mx são os teores de SSV; ambos reatores contam com as menores concentrações de biomassa do ensaio (0,45 e 1,71 g_{SSV}.L⁻¹, respectivamente). Ao comparar esses dois reatores com o comportamento dos reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An (maiores concentrações de SSV), infere-se que, com a maior presença de biomassa, existirá maior consumo de OD no biofilme, colaborando com a função da membrana no controle anóxico dos reatores.

O R4 Lixiviado.Mx apresentou consumo cíclico de OD, diferenciando-se dos demais reatores do estudo. O comportamento cíclico pode-se atribuir à presença de algum grupo de bactérias, que tem como exigência de atividade um limite de saturação de oxigênio, ou seja, quando a presença de OD atingia uma concentração inferior à saturação mínima exigida pelas bactérias, o consumo de OD cessava ou era inibido e retornava quando a saturação aumentava no reator a um nível acima do mínimo exigido pelos microrganismos.

Rodrigues (2016) comenta que o fenômeno de diferenças de afinidade por saturação de oxigênio é visualizado ao comparar as bactérias nitrificantes dos gêneros *Nitrospira* e *Nitrobacter*. O primeiro gênero é K-estrategista (comportamento de alta replicação celular e maior longevidade) e está bem adaptado a baixas concentrações de nitrito e oxigênio, enquanto o gênero *Nitrobacter* é r-estrategistas (alta replicação e menor ciclo de vida, sendo mais frágeis a agentes inibitórios); por isso, tem preferência por se proliferar em altas concentrações de nitrito e oxigênio (SCHRAMM *et al.*, 1999).

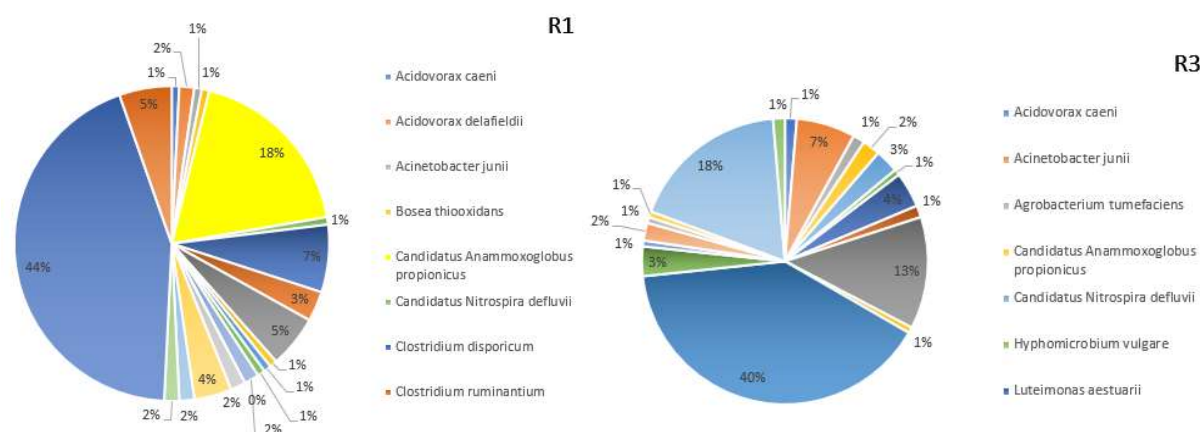
Diversos autores (WANG *et al.*, 2019; AUGUSTO *et al.*, 2018, SALEEN *et al.*, 2019) apontam para a falta de consenso quanto aos níveis ideais de OD em um sistema de desamonificação em reator único, tendo em vista que cada reator tem as especificidades de suas configurações e características únicas dos efluentes a serem tratados. As diferenças de densidade do biofilme dos reatores de membrana aerada, do mesmo modo, exercem influência, pois o biofilme não será uniforme nos diferentes reatores.

Mesmo com as dificuldades apontadas, para se chegar a um valor ótimo de OD em sistemas MABR desamonificantes, os ensaios de consumo de OD e o comportamento de recuperação dos reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An, frente às mudanças de carga, indicam que o sistema de microaeração, usado nos reatores, atendeu à demanda da nitrificação parcial. Quanto aos demais reatores, notou-se, pelo teste de consumo de OD, que houve concentrações com potencial inibitório para bactérias Anammox® (STROUS *et al.*, 1997).

Com relação ao fornecimento intermitente de OD, o reator R4 Lixiviado.Mx é o único que registra uma possível interferência do regime intermitente. Nos demais reatores, uma vez iniciado o consumo de OD, o comportamento cíclico induzido pelo fornecimento intermitente do OD não é mais visualizado. Zhang *et al.* (2019) comentam que, como as bactérias nitratantes apresentam fase *lag* (crescimento bacteriano) maior do que as bactérias nitrificantes em condições de transição de condições anóxicas para aeróbias, o estado transiente criado pela aeração intermitente pode ser benéfico para atividade Anammox® e limitante para bactérias nitrificadoras.

3.3 Avaliação microbiológica

O sequenciamento foi realizado nos reatores inoculados com lodos anaeróbios (R1 UASB.An, R3 Lixiviado.An e R5 Ab.suíno.An), visto que esses lodos estavam presentes em todos os reatores. Na Figura 6, são apresentadas as bactérias e a sua abundância relativa nas amostras.



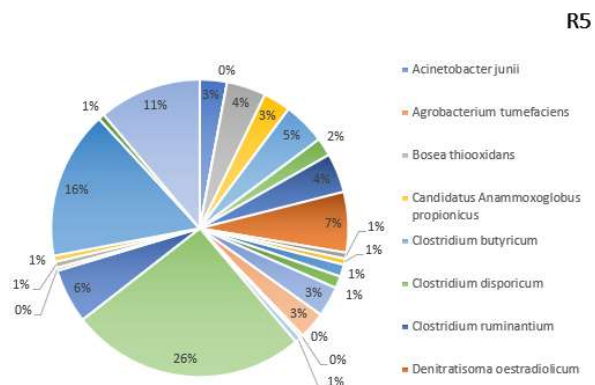


Figura 6 Abundância relativa das bactérias encontradas nos reatores anaeróbios por sequenciamento em plataforma MiSeq, usando primer universal (341R-806F).

Nas 3 amostras enviadas para análise de biologia molecular, foi identificada uma bactéria pertencente ao Filo dos *Planctomicetos*, a Bactéria *Candidatus Anammoxoglobus propionicus*, encontrada com 18, 2 e 3% para os reatores 1, 3 e 5, respectivamente, considerando o total de bactérias encontradas nas amostras. Segundo a ENA (European Nucleotide Archive), essa bactéria é catalogada como *Candidatus Anammoxoglobus propionicus* Bacteria; Planctomycetes; *Candidatus Brocadiaceae*; *Candidatus Brocadiiales*; *Candidatus Brocadiaceae*; *Candidatus Anammoxoglobus* (KARTAL *et al.*, 2007).

A espécie de bactéria *Candidatus Anammoxoglobus propionicus* trata-se de uma bactéria organotrófica que utiliza CO₂ como fonte de carbono, mas tem a peculiar capacidade de oxidar pequena quantidade de carbono orgânico, sendo geralmente encontrada em solos, ecossistemas de água doce e estações de tratamento de águas residuárias em geral (ZHAI *et al.*, 2016; SONTHIPHAND *et al.*, 2014; WINKLER *et al.*, 2012; KARTAL *et al.*, 2007).

Sobre a avaliação geral da análise microbiológica, a nível de reino, foram identificados arqueas e bactérias. A Tabela apresenta a discussão dos principais microrganismos apontados na análise microbiológica dos reatores e a possível influência para os meios reacionais.

Tabela 7 Principais bactérias detectadas na análise de biologia molecular e sua possível influencia no comportamento dos reatores.

Bactéria (identificada a nível de espécie)	Características principais	Influência nos reatores	Fonte
<i>Thiobacillus thioparus</i>	Quimiolitrófica obrigatória, Captura Gás sulfídrico e promove a liberação de Ácido Sulfúrico	Podem contribuir com a acidificação do meio, implicando na pH e possível inibição de microrganismos desamonificantes	Lucheta, 2010.
<i>Nitrosomonas europaea</i>	Autotrófica, oxidação de amônio a nitrito	Bactéria oxidadoras de amônia mais abundante nas amostras, sendo a principal fornecedora do substrato nitrito.	Hesselsøe & Sørensen, 1999
<i>Nitrospira Sp.</i>	Autotrófica, oxidação de amônio a nitrito	Bactéria oxidadoras de amônia, fornecedora do substrato nitrito.	Hesselsøe & Sørensen, 1999
<i>Clostridium butyricum</i> ; <i>Clostridium disporicum</i> ; <i>Clostridium ruminantium</i> .	são anaeróbios estrictos e aerotolerantes, degradação de macro-moléculas como celulose e hemicelulose	Atuam na degradação da matéria orgânica e podem contribuir para o aumento de nitrogênio orgânico no reator.	Xiong et al., 2018
<i>Acinetobacter junii</i>	Duas funções no processo de remoção de nitrogênio, nitrificação heterotrófica (converte amônia em nitrito e nitrato) e desnitrificante aeróbia (oxida nitrito e nitrato a formas gasosas)	Possível competidora as com as bactérias que atuam na desamonificação, com potencial de ser responsável por parte da eficiência dos reatores na remoção final de nitrogênio a forma gasosa.	Xiang Ren, et al., 2014

<i>Candidatus Nitrospira defluvii</i>	Bactéria oxidadora de nitrito	Competidora com as Bactérias <i>Candidatus Anammoxoglobus Propionicus</i> pelo substrato nitrito.	Frank et al., (2008)
<i>Denitratisoma oestradiolicum</i>	Bactéria desnitrificante com capacidade de oxidar nitrobenzeno	Competidora com as Bactérias <i>Candidatus Anammoxoglobus Propionicus</i> pelo substrato nitrito.	Zhang et al., (2018)
<i>Nitrospira Multiformes</i>	Bactéria oxidadora de amônia	Bactéria oxidadoras de amônia, fornecedora do substrato nitrito.	Huang et al., (2018)
<i>Methanoculleus bourgensis</i> , <i>Methanosaeta concilii</i> , <i>Methanosaeta harundinacea</i> , <i>Methanosarcina acetivorans</i>	Bactérias hidrogenotróficas mesofílicas oxidadora de acetato	Atuam na degradação da matéria orgânica e podem contribuir para o aumento de nitrogênio orgânico no reator.	Manzoor et al., (2016)
<i>Acidovorax caeni</i> , <i>Acidovorax delafieldii</i>	Bactérias Desnitrificantes	Competidoras com as Bactérias <i>Candidatus Anammoxoglobus Propionicus</i> pelo substrato nitrito.	Ehsani, et al., (2015)

Conforme discutido na Tabela 7, o comportamento irregular dos reatores pode ser atribuído à presença de microrganismos competidores com a bactéria *Candidatus Anamoxoglobus Propionicus* (Anammox®), principalmente a presença de bactérias BON, que acabam contribuindo para aumento de nitrato no interior dos reatores (FRANK *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2018).

Do mesmo modo, é preocupante a presença de bactérias desnitrificantes, como as *Acidovorax caeni* e *Acidovorax delafieldii*, que usam como substrato na desnitrificação tanto nitrito quanto o nitrato. Essas bactérias atuam consumindo um dos substratos desejáveis para desamonificação (nitrito) e, com isso, auxiliam a falta de estabilidade do processo (EHSANI *et al.*, 2015).

3.4 Comparação final entre os reatores

Na comparação entre as fontes de lodo utilizadas no estudo com relação aos dados de remoção global de nitrogênio, foram realizados testes estatísticos de homogeneidade dos dados (Shapiro-Wilks e Levene). Os testes indicaram dados não homogêneos. Portanto, para efeito de comparação entre os reatores, foi usado um teste não paramétrico de comparação de medianas. O teste aplicado foi o teste de Kruskal-Wallis com 5% de significância. Na Tabela 7, é apresentada a comparação múltipla dos reatores com base no teste Kruskal-Wallis.

Tabela 7 Comparação estatística entre os reatores quanto à remoção global de nitrogênio.

Reator	Média global de remoção de N (%)	Desvio padrão global da remoção de N	Mediana global da remoção de N	Comparação entre reatores*
R1 UASB.An	64,10	26,62	68,12	A
R2 UASB.Mx	53,40	38,13	57,63	a b
R3 Lixiviado.An	41,98	42,13	45,00	b c d
R4 Lixiviado.Mx	48,94	33,74	50,01	b c d
R5 Ab.suíno.An	57,73	28,03	60,78	a b
R6 Ab.suíno.Mx	37,85	44,30	45,52	b c d

*letras iguais demonstram igualdade estatística entre os reatores, letras diferentes demonstram diferença estatística entre os reatores ao nível de 5% de significância.

Os reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An foram considerados estatisticamente iguais, porém, o reator R5 Ab.suíno.An, conforme Figura 7, apresentou maior estabilidade com menor amplitude amostral. Em termos de pior desempenho, os reatores R3 Lixiviado.An, R4 Lixiviado.Mx e R6 Ab.suíno.An foram estatisticamente iguais

e o reator R6 Ab.suíno.Mx apresentou a menor estabilidade com maior amplitude amostral de variabilidade dos dados (Figura 7).

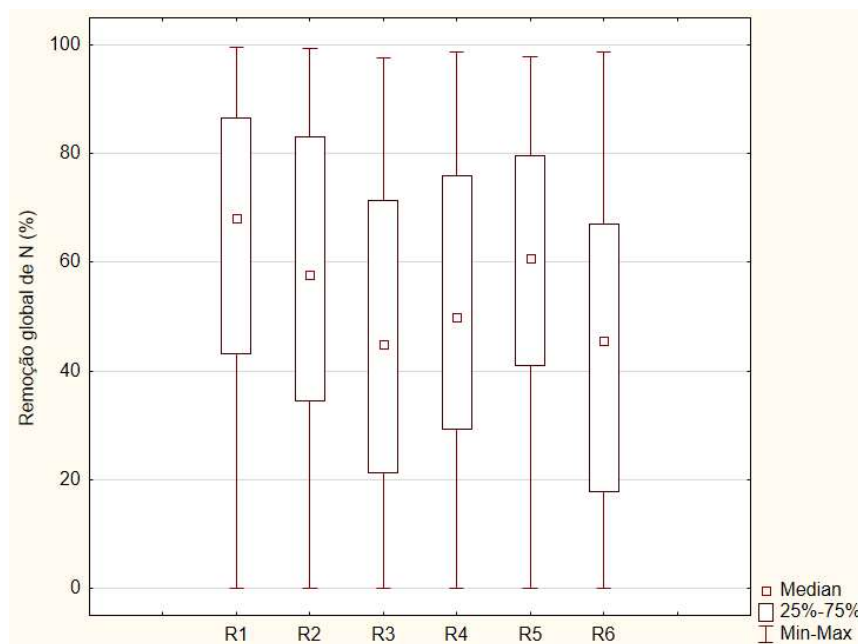


Figura 7 Gráfico box-plot com os dados gerais de remoção de N (%) dos seis reatores estudados.

4 Conclusões

A análise de biologia molecular demonstrou o enriquecimento da biomassa Anammox[®] em todos os reatores. Do mesmo modo, apresentou possíveis justificativas para a falta de estabilidade dos reatores durante o experimento, devido ao convívio nos reatores por bactérias que competem pelos mesmos substratos.

Em relação à sinergia entre bactérias com capacidade Anammox[®] e BOA, foi atingida com maior eficiência nos reatores R1 UASB.An, R2 UASB.Mx e R5 Ab.suíno.An.

Nos reatores citados, os sistemas de membrana permitiram que a aeração se restringisse ao biofilme e, assim, o meio líquido entrasse em anaerobiose a partir de 3,5; 2,25 e 2 horas, respectivamente.

Em termos de enriquecimento de biomassa Anammox[®], o reator de maior destaque foi o R1 UASB.An, que atingiu um enriquecimento de 18% da bactéria do filo dos *Planctomicetos*, *Candidatus Anammoxoglobus Propionicus*, na amostra analisada.

5 Referências Bibliográficas

- ALTSCHUL S, GISH W, MILLER W, MYERS E, LIPMAN D. Basic local alignment search tool. **J Mol Biol**, v. 215, n.3, p. 403-10, 1990.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, DC: APHA, 2005.
- ANDREWS, S. **FastQC – a quality control tool for high throughput sequence data**. [WWW Document]. Babraham Bioinforma, 2010.
- ASSIS, T. M.; SCHILICHTING, M.V.; LOPES, L.C.; KUNZ, A.; GOMES, S.D. Stability of partial nitritation of poultry slaughterhouse wastewater in a sequential batch reactor. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal-SP, v. 37, n.2, p-323-332, 2017.
- AUGUSTO, M.R.; CAMILOTI, P.R.; SOUZA, T.S.O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using Anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 266, [s.n.], p. 151-157, 2018.
- BUNSE, P.; ORSCHLER, L.; AGRAWAL, S.; & LACKNER, S. Membrane aerated biofilm reactors for mainstream partial nitritation/Anammox: Experiences using real municipal wastewater. **Water Research X**, v. 9, [s.n.], p.100066-100077, 2020.
- CAO, S.; DU, R.; LI, B.; WANG, S.; REN, N.; & PENG, Y. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: performance, kinetics and microbial community. **Chemical Engineering Journal**, v. 326, n.100, p. 1186-1196, 2017.
- CAPORASO, J.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J. *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nat Methods**, v. 7, [s.n.], p. 335-336, 2010.
- CHEN, Y.; ZHAO, Z.; LIU, H.; MA, Y.; AN, F.; HUANG, J.; SHAO, Z. Achieving stable two-stage mainstream partial-nitrification/Anammox (PN/A) operation via intermittent aeration, **Chemosphere**, v. 245, n.43, p.101100-101120, 2020.
- CHINI, A.; BOLSAN, A. C.; HOLLAS, C. E.; ANTES, F. G.; FONGARO, G.; TREICHEL, H.; & KUNZ, A. Evaluation of deammonification reactor performance and microorganisms community during treatment of digestate from swine sludge CSTR biodigester. **Journal of Environmental Management**, v. 246, [s.n.], p. 19-26, mai., 2019.
- DU, R.; PENG, Y.; JI, Y.; SHI, L.; GAO, R.; LI, X. Partial denitrification providing nitrite: Opportunities of extending application for Anammox. **Environment International**, [s.l.], v. 131, [s.n.], p.105001-105015, 2019.
- EHSANI, E.; JAUREGUI, R.; GEFFERS, R.; JAREK, M.; BOON, N.; PIEPER, D.H.; VILCHER-VARGAS, R. First Draft Genome Sequence of the *Acidovorax caeni* sp. nov. Type Strain R-24608 (DSM 19327). **Genome Announc**, [s.v.], [s.n.], p.3-6, 2015.
- FRANK, M.; WAGNER, M.; LUCKER, S.; PELLETIER, E.; SCHMITZ-ESSER, S.; HACE, K.; SPIECK, E.; KONRAT, R.; LE PASLIER, D.; DAIMS, H. Environmental

genomics reveals a functional chlorite dismutase in the nitrite-oxidizing bacterium 'Candidatus Nitrospira defluvi'. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 3043-3056, 2008.

GUPTA, H. P. *et al.* Evaluation of corncob as a bio-carrier for the enrichment of Anammox bacteria using activated sludge as seed. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 19, [s.n.], p.101140-101144, 2019.

HESSELSÖE, M.; & SÖRENSEN, J. Microcolony formation as a viability index for ammonia-oxidizing bacteria: Nitrosomonas europaea and Nitrospira sp. **Microbiology**, v. 28, [s.n.], p. 383-391, 1999.

HUANG, X.; ZHAO, J.; SU J.; JIA G.; SHID, X.; WRIGHT, A.; ZHU-BARKERF, X.; JIANG, X. Neutrophilic bacteria are responsible for autotrophic ammonia oxidation in an acidic forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 119, [s.n.], p. 83-89, 2018.

JIANG, H.; WANG, Z.; REN, S.; QIU, J.; ZHANG, Q.; LI, X.; & PENG, Y. (2021). Enrichment and retention of key functional bacteria of partial denitrification-Anammox (PD/A) process via cell immobilization: A novel strategy for fast PD/A application. **Bioresource Technology**, v. 326, [s.n.], p.124744-124757, 2021.

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

KARTAL B.; RATTRAY J.; VAN NIFTRIK L.A.; VAN DE VOSSENBERG J.; SCHMID M.C.; WEBB R.I.; SCHOUTEN S.; FUERST J.A.; SINNINGHE DAMSTE J.; JETTEN M.S.M.; STROUS M. "*Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria"; **Syst. Appl. Microbiol.**, v. 30, n. 1, p. 39-49, 2007.

KARTAL, B.; KUENEN, J.G.; VAN LOOSDRECHT, M.C. Engineering. Sewage treatment with Anammox. **Science**, v. 328, n. 5979, p. 702-703, 2010.

KUNZ, A.; VANOTTI, M.; SZOGI, A.; GONZALEZ, M.C.G.; SCHIERHOLT NETO, G.F.; SOARES, H.M. Development of Anammox process for animal treatment: experiences in Brazil. *In*: KUNZ, Airton. **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AIR QUALITY AND WASTE MANAGEMENT**. St. Joseph: ASABE, 2007. p.1-4

LI, J.; LI, J.; MENG, J.; & SUN, K. Understanding of signaling molecule controlled Anammox through regulating C/N ratio. **Bioresource Technology**, v. 315, n.1, p.11066-11071, 2020.

LIU, C.; LIU, T.; ZHENG, X.; MENG, J.; CHEN, H.; YUAN, Z.; HU, S.; & GUO, J. Rapid formation of granules coupling n-DAMO and Anammox microorganisms to remove nitrogen. **Water Research**, v. 194, n.1, p.1-9, 2021.

LIU, T.; LIM, Z. K.; CHEN, H.; WANG, Z.; HU, S.; YUAN, Z.; & GUO, J. Biogas-driven complete nitrogen removal from wastewater generated in side-stream partial nitrification. **Science of the Total Environment**, v. 745, n.4, p.110-114, 2020.

LU, W.; MA, B.; WANG, Q.; WEI, Y.; & SU, Z. Feasibility of achieving advanced nitrogen removal via endogenous denitrification/Anammox. **Bioresource Technology**, v., 325, [s.n.], p. 1-5, 2021.

LUCHETA, A. R. **Oxidação Microbiológica do Enxofre Elementar no Solo**. Orientador: Marcio Rodrigues Lambais. 2010. P.179. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2010.

MANZOOR, S.; SCHNURER, A.; BONGCAM-RUDLOFF, E.; MULLER, B. Complete genome sequence of oxidising bacteria (SAOB) syntrophic partner of mesophilic acetate- *Methanoculleus bourgensis* strain MAB1. **Standards in Genomic Sciences**, v. 11, n. 1, p.115-125, 2016.

MENEGON, C.G.; AUGUSTO, M.R.; SOUZA, T.S.O. Enriquecimento De Biomassa Anammox Usando Diferentes Diluições De Lixiviado De Aterro Sanitário Como Fonte De Amônio, Alcalinidade E Micronutrientes. **69ª Reunião Anual da SBPC (2017)** - UFMG - Belo Horizonte/MG.

MIAO, Y.; ZHANG, L.; LI, B.; ZHANG, Q.; WANG, S.; & PENG, Y. Enhancing ammonium oxidizing bacteria activity was key to single-stage partial nitrification-Anammox system treating low-strength sewage under intermittent aeration condition. **Bioresource Technology**, v. 231, [s.n.], p. 36-44, 2017.

MORALES, N.; VAL DEL RÍO, Á.; VÁZQUEZ-PADÍN, J.R.; MÉNDEZ, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L. Integration of the Anammox process to the rejection water and main stream lines of WWTPs. **Chemosphere**, v. 140, [s.n.], p. 99-105, 2015.

REGINATTO, V.; TEIXEIRA, R.M.; PEREIRA, F.; SCHMIDELL, W.; FURIGO JR, A.; MENES, R.; ETCHEBEHERE, C.; SOARES, H.M. Anaerobic Ammonium Oxidation in a Bioreactor Treating Slaughterhouse Wastewater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 04, p. 593-600, 2005.

REN, Y.; YANG, L.; & LIANG, X. The characteristics of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium, *Acinetobacter junii* YB. **Bioresource Technology**, v. 171, [s.n.], p.1-9, 2014.

RODRIGUES, V.A.J. **Influência do sedimento no processo de remoção de nitrogênio por nitrificação/desnitrificação em lagoas de polimento**. Orientador: Marcos Von Sperling. 2016. P. 192. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

SALEEM, M.; LAVAGNOLO, M.C.; CONCHERI, G.; STEVANATO, P.; SQUARTINI, A.; SPAGNI, A. Application of anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for the successful enrichment of Anammox bacteria using mixed anaerobic and aerobic seed sludge. **Bioresource Technology**, v. 266, [s.n.], p. 532-540, 2018.

SCHRAMM, A.; BEER, D.; HEUVEL, J. C.; OTTENGRAF, S.; AMANN, R. Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. Along a macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by in situ hybridization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 8, p. 3690-3696, 1999.

SONTHIPHAND, P.; HALL, M.W.; NEUFELD, J.D. Biogeography of anaerobic ammonia-oxidizing (Anammox) bacteria. **Front. Microbiol.**, v. 5, [s.n.], p.1-9, 2014.

STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge. **Appl. Environ. Microb.**, v. 63, [s.n.], p. 2446-2448, 1997.

SUN, Y.; GUAN, Y.; WANG, H.; WU, G. Autotrophic nitrogen removal in combined nitrification and Anammox systems through intermittent aeration and possible microbial interactions by quorum sensing analysis. **Bioresource Technology**, v. 272, n.1, p. 146-155, 2019.

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

TANG, X.; LIU, S.; ZHANG, Z.; ZHUANG, G. Identification of the release and effects of AHLs in Anammox culture for bacteria communication. **Chem. Eng.**, v. 273, [s.n.], p. 184-191, 2015.

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

VERMA, S.; DAVEREY, A.; & LIN, J. G. Successful start-up of Anammox process from activated sludge and anaerobic sludge in a sequencing batch reactor using an unconventional strategy. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 156, n.5, p.110-117, 2021.

WANG Y, QIAN P-Y. Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. **PLoS ONE**, v. 4, n.10, p. e7401, 2009.

WANG, F.; XU, S.; LIU, L.; WANG, S.; & JI, M. One-stage partial nitrification and Anammox process in a sequencing batch biofilm reactor: Start-up, nitrogen removal performance and bacterial community dynamics in response to temperature. **Science of the Total Environment**, v. 772, n. 135, p.1-10, 2021.

WANG, F.; XU, S.; LIU, L.; WANG, S.; & JI, M. One-stage partial nitrification and Anammox process in a sequencing batch biofilm reactor: Start-up, nitrogen removal performance and bacterial community dynamics in response to temperature. **Science of the Total Environment**, v. 772, n. 135, p.12-25, 2021.

WINKLER, M.K.H.; YANG, J.J.; KLEEREBEZEM, R.; PLAZA, E.; TRELA, J.; HULTMAN, B.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Nitrate reduction by organotrophic Anammox bacteria in a nitrification/Anammox granular sludge and a moving bed biofilm reactor. **Bioresour. Technol.** 114, 217–223, 2012.

XIONG, W., REYES, L. H., MICHENER, W. E., MANESS, P., & CHOU, K. J. Engineering cellulolytic bacterium *Clostridium thermocellum* to co-ferment cellulose- and hemicellulose-derived sugars simultaneously. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 115, n. 7, p. 1755-1763, 2022.

YIN, X.; RAHAMAN, M.H.; LIU, W.; MAKINIA, J.; ZHAI, J. Comparison of nitrogen and VFA removal pathways in autotrophic and organotrophic Anammox reactors. **Environmental Research**, v.195, [s.n.], p.817-824, 2021.

ZHAI, J.; RAHAMAN, M. H.; CHEN, X.; XIAO, H.; LIAO, K.; LI, X.; DUAN, C.; ZHANG, B.; TAO, G.; JOHN, Y.; & VYMAZAL, J. New nitrogen removal pathways in a full-scale hybrid constructed wetland proposed from high-throughput sequencing and isotopic tracing results. **Ecological Engineering**, v. 97, [s.n.], p. 434-443, 2016.

ZHANG, J.; PENG, Y.; ZHEN, W.; ZHANG, L.; LI, J.; WEI, J.; ZHENG, Z.; MING & ZHANG, K. Improving the resistance of Anammox granules to extreme pH shock: The effects of denitrification sludge EPS enhanced by a fluctuating C/N ratio cultivation on granules. **Science of the Total Environment**, v. 763, [s.n.], p.124-130, 2021.

ZHANG, M. *et al.* Towards mainstream deammonification of municipal wastewater: Partial nitrification-Anammox versus partial denitrification-Anammox. **Science of the Total Environment**, v. 692, [s.n.], p. 393-401, 2019.

ZHANG, W.; WAN, D.; JIN, Y. Effects of inorganic carbon on the nitrous oxide emissions and microbial diversity of an anaerobic ammonia oxidation reactor. **Bioresource Technology**, v. 250, [s.n.], p. 124-130, 2018.

ZHU, G.; PENG, Y.; LI, B.; GUO J.; YANG, Q.; WANG, S. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. In: Whitacre D.M. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, Nova Iorque, v. 192, n.1, p.100-150, 2008.

ARTIGO 2: DESAMONIFICAÇÃO DE EFLUENTE SINTÉTICO E EFLUENTE DE ABATEDOURO DE AVES EM REATOR CONTÍNUO MABR

Resumo

Este trabalho teve como objetivo enriquecer a biomassa Anammox[®] em reator MABR (do inglês *Membrane Aerated Biofilm Reactor*/Reator de Biofilme aerado por membrana) de fluxo contínuo, sendo a biomassa proveniente do descarte de lodo anaeróbio de um reator UASB que trata esgoto doméstico. Após a etapa de enriquecimento, a biomassa foi alimentada com efluente de abatedouro de aves, coletado na saída de uma lagoa anaeróbia. O reator MABR contínuo foi operado com volume total de 2,2L e volume útil de 2,0L com 2,8m de membrana interna disposta no reator em formato helicoidal como meio de transporte e transferência de oxigênio dissolvido. O tempo de operação do reator foi de 330 dias, passando por três Cargas Volumétricas de Nitrogênio (CVN: 0,02 (95 dias de operação) com TDH de 5 dias, 0,01 (185 dias de operação), com TDH de 3 dias e 0,1 Kg_N.m⁻³.d⁻¹ (50 dias de operação), com TDH de 1 dia. No dia 95 de operação do reator, ocorreu o evento específico de choque de alcalino (pH: 11). Foram testadas alteração de cargas e mudança do método de alimentação que visaram recuperar a atividade Anammox[®] no reator. A inibição do reator só foi revertida após reinoculação com biomassa Anammox[®] ativa proveniente de outro reator MABR. Na segunda etapa do experimento, alimentação do reator com efluente de abatedouro, foram testados tempos de detenção hidráulica (TDH) de 24, 16 e 12h, correspondendo às CVN de 0,13; 0,20, e 0,26 Kg_N.m⁻³.d⁻¹. As CVN tiveram tempo de operação de 20 dias para 24 h e 16 h de TDH, e 26 dias para 12 h de TDH. Como resultados, tem-se que os agentes inibidores nitrito e pH extremo alcalino foram decisivos para a inativação da biomassa Anammox[®], na primeira etapa do experimento, porém, não impediram a replicação celular dessas bactérias. Após reinoculação, o reator MABR contínuo passou a remover nitrogênio pela via da desamonificação a partir de 9 dias de operação. Entre as 3 cargas testadas, a carga de 0,13 Kg_N.m⁻³.d⁻¹ apresentou melhor desempenho com eficiência de remoção de N de 95% obtida a partir de 7 dias de operação e menor consumo de alcalinidade por mg de N_{removido}.

Palavras-chave: Desamonificação, efluente de abate, biofilme microbiano.

1 Introdução

O uso de reatores de biofilme aerado por membrana (MABR) para tratamento de efluentes já foi reportado na literatura com diversas abordagens, remoção de compostos de enxofre (CAMILLOTTI *et al.*, 2016), remoção de compostos orgânicos voláteis, tóxicos e recalcitrantes da indústria farmacêutica (RANA *et al.*, 2017), remoção de carbono e nitrogênio pelos processos convencionais e pela via Anammox[®] (BUNSE *et al.*, 2020; AUGUSTO *et al.*, 2018).

A abordagem MABR de interesse neste trabalho trata-se do uso de biofilme aerado por membrana em reatores de desamonificação, ou seja, que promovem a nitrificação parcial e a remoção final de nitrogênio via microrganismos do filo dos *Planctomicetos*, também registrados como Anammox[®]. Desde que foram descobertos por Mulder *et al.* (1995), os microrganismos Anammox[®], que são anaeróbios e têm capacidade de remoção de

nitrogênio, usando nitrito como aceptor de elétrons, são cada vez mais investigados. Esses reatores apresentam vantagens expressivas relacionadas à economia energética nas estações de tratamento de efluentes e ganhos ambientais notáveis, como a menor geração de lodo e redução na emissão de óxido nítrico que, segundo Morales *et al.* (2015), pode chegar a 83% quando comparado à remoção convencional de nitrogênio.

Augusto *et al.* (2018) relataram a importante vantagem do reator MABR atuando na desamonificação, na rápida *start-up* de reatores inoculados com biomassa proveniente de estações de tratamento de esgoto convencionais. No citado estudo, a partir de 21 dias de inoculação, já se notava remoção de N via desamonificação.

Os processos de enriquecimento Anammox[®] são normalmente muito lentos devido às fragilidades dos microrganismos frente à: inibição provocada por baixas temperaturas, pH em valores extremos (ácidos e básicos), toxicidade em relação ao substrato nitrito, ambiente aeróbio. A baixa taxa de duplicação dos microrganismos Anammox[®] também é um fator complicador (SHEREEN *et al.*, 2011).

O reator MABR apresenta uma tecnologia que vem se mostrando satisfatória no fornecimento de OD suficiente apenas para a nitrificação parcial. Nesse reator, o oxigênio e o meio líquido são separados por uma membrana microporosa. A transferência de microdoses de oxigênio é feita sem a formação de bolhas; a manutenção do ambiente anóxico ou até mesmo anaeróbio, de acordo com a densidade do biofilme formado sobre a membrana, torna o processo simplificado (GONG *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2016).

Outra problemática constantemente abordada em reatores Anammox[®] envolve os desequilíbrios provocados por pH, em que, conforme alguns autores, como Zhang *et al.* (2021), as piores dificuldades de retomada da atividade são relacionadas ao pH alcalino. Os autores notaram inibição completa do reator estudado quando o pH atingiu o valor alcalino de 10,5.

O pH é um parâmetro crucial que afeta o crescimento bacteriano e seu metabolismo e qualquer desvio da condição operacional ideal irá causar uma diminuição significativa de desempenho no sistema Anammox[®] (YIN *et al.*, 2016). Geralmente, o pH fisiológico da bactéria Anammox[®] está entre 6,6 e 8,4 (STROUS *et al.*, 1999).

Fux *et al.* (2004), ao estudar a atividade Anammox[®], viram que ela foi inibida completamente quando o pH foi de 9,3, mas Zhang *et al.* (2021) afirmaram que essa condição de inibição e a própria recuperação Anammox[®], após o choque básico, estão ligadas aos tipos de grânulos Anammox[®] e à produção de moléculas microbianas de *Quorum sensing* (QS), como *acil-homoserina lactonas* (AHLs), células que têm, por funções regulares, comportamentos fisiológicos dos microrganismos, a saber, movimento celular, expressão de atividade e granulação de lodo (LUI *et al.*, 2020).

A segunda temática importante a ser tratada neste trabalho é relativa ao alto volume de efluente rico em nitrogênio gerado nos abatedouros de aves. O mercado avícola mundial, bem como o mercado brasileiro (14,7 milhões de toneladas de carne produzida em 2020) e paranaense (4,49 milhões de toneladas, 33,4% da produção nacional), trata-se de um mercado econômico que movimentou um montante de U\$ 166 trilhões de dólares em 2021 (FAO, 2021). Foram gerados, direta e indiretamente, 33,40 milhões de empregos no mundo, sendo 3,6 milhões apenas no mercado brasileiro (ABPA, 2021).

Os abatedouros de aves foram responsáveis pela geração mundial de 200 m³ de água residuária por cada tonelada de ave criada e abatida, segundo Gerbens-Leenes *et al.* (2013), que estudaram o consumo médio de água nos maiores mercados avícolas do mundo (Estados Unidos, China, Brasil e, como amostra da União Europeia, dados da Holanda).

Considerando o estudo de Gerbens-Leenes *et al.* (2013) e os dados de produção avícola mundial da FAO (2021), em que a produção mundial foi de aproximadamente 133 milhões de toneladas de carne de frango, o mundo gerou, em 2020, um total de 26,7 trilhões de metros cúbicos de água residuária no processamento de carne avícola.

Olhando, ainda, para a importância econômica do mercado avícola, no contexto da pandemia da COVID-19, os preços da carne de frango, a nível mundial, caíram 9,8% em 2020; no mercado de carnes, o frango foi a carne que mais desvalorizou, segundo a FAO (2021).

Com a pandemia, o Brasil, em 2020, sofreu um impacto econômico muito parecido com o da gripe aviária, em 2005; houve alto custo de produção, fragilidade do mercado internacional (medo das exportações serem um meio de acelerar mundialmente a dispersão do Coronavírus), porém, a balança comercial internacional acabou equilibrando o mercado e minimizando, em 2020, os impactos econômicos da pandemia sobre esse setor (FAO, 2021).

Nesse contexto de equilíbrio econômico, segundo o relatório da FAO (2021), o Brasil teve um importante papel, pois conseguiu impulsionar a produção de carne de Frango em 5,3%, enquanto houve queda de 4,0% na Austrália e 3,1% nos Estados Unidos. Isso mostra a importância do Brasil nesse mercado, que deve continuar em expansão nos próximos anos, justificando a necessidade de pesquisas no tratamento de efluentes produzidos nesse setor.

Diferentemente de outros resíduos, como águas residuárias de refinarias/petroquímicas (MILIA *et al.*, 2017; AN *et al.*, 2013); indústria de fármacos (RANA *et al.*, 2017); lixiviado de aterro sanitário, entre outros efluentes perigosos (WANG *et al.*, 2016), o efluente de abate avícola, devido à sua caracterização físico-química, apresenta-se como promissor na remoção de nitrogênio pela via Anammox[®] em larga escala, pois é

um efluente que não desafia as fragilidades dos microrganismos Anammox[®] em termos de agentes inibidores (pH ~7,06; relação C:N < 1,0 e ausência de nitrito, segundo ASSIS *et al.*, 2017).

O reator MABR, que se trata de um reator que conta com separação de fases gasosa/líquida (ar/efluente), é um modelo de reator que tem se mostrado eficiente na remoção de nitrogênio via desamonificação (BUNSE *et al.*, 2020; AUGUSTO *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2016; GONG *et al.*, 2007).

O princípio desse reator consiste em usar uma membrana microporosa para condução do oxigênio por meio de pressão na saída da membrana. Sob pressão, o oxigênio é obrigado a sair pela porosidade, o que ocasiona a formação de um biofilme microbiano (nitritante) aderido à sua parede externa. O fornecimento de oxigênio pela membrana pode ser dosado, de acordo com a pressão do sistema, de forma a atender apenas a nitrificação parcial, sendo o primeiro passo da desamonificação.

A função do biofilme é fornecer o substrato nitrito usando oxigênio como acceptor final de elétrons. Esse fato colabora para um ambiente anóxico na fase líquida do reator ideal para microrganismos Anammox[®].

Nesse contexto, este trabalho teve seus objetivos divididos em duas etapas: 1) Enriquecer a biomassa Anammox[®] (bactérias do filo dos *planctomicetos*), em um reator MABR de fluxo contínuo, com membrana de silicone microporosa em formato helicoidal e recirculação da fase líquida em 1:1. Nessa etapa, o inóculo foi a biomassa proveniente de uma estação de tratamento de esgoto doméstico. 2) Tratar o efluente de abate de aves, coletado na saída da lagoa anaeróbia de um sistema de tratamento de efluentes de abatedouro avícola, localizado na região Oeste do Paraná, testando 3 cargas volumétricas de nitrogênio (CVN: 0,13; 0,20, e 0,26 Kg_N.m⁻³.d⁻¹), no mesmo reator da etapa 1.

Este trabalho apresenta, concomitantemente ao processo de enriquecimento, as etapas abordadas no experimento com objetivo de recuperar a atividade Anammox[®] após um choque de pH alcalino e inibição por acúmulo de nitrito sofrido pelo reator.

2 Material e Métodos

2.1 Aparato experimental

O aparato experimental contou com um reator cilíndrico de 35cm de altura e 9,2cm de diâmetro interno, confeccionado em acrílico, com volume total de 2,2L e volume de trabalho de 2,0L. O reator contava com uma membrana de silicone interna, com 2,80 m de comprimento, acoplada a um aerador com fluxômetro, com vazão de ar regulada em 1,0 L.min⁻¹. A saída da membrana de silicone foi imersa em uma coluna de água de 75 cm para

pressionar a saída do ar pelos poros da membrana. A membrana de silicone possuiu a especificação de 2mm de espessura de parede e diâmetro externo de 8mm (100% silicone – SVH8).

O reator MABR contínuo foi imerso em um tubo de 55cm de diâmetro e 70cm de comprimento, com água até o nível do líquido do reator, mantido na temperatura de 32°C, com base em um termostato; um sistema de controle de pH foi utilizado para manter o valor do pH entre 7,5 e 8,5, com dosagem de soluções de HCL 2M e NaOH 2M.

O efluente foi recirculado a uma taxa de reciclo igual a 1,0 e a alimentação foi ascendente. Tanto a alimentação quanto a recirculação foram realizadas com base em bombas peristálticas.

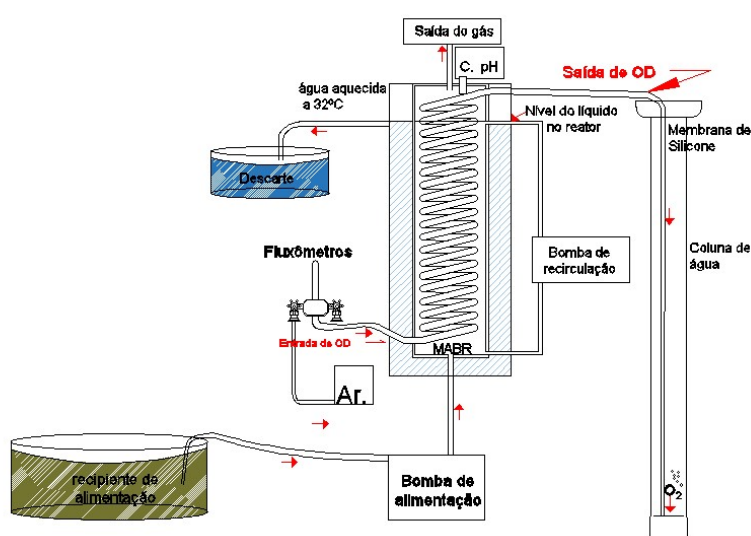


Figura 1 Esquema representativo do sistema que compõe o aparato experimento MABR de fluxo contínuo.

Nota: C.pH : Controlador de pH

A parte superior do tubo, onde o reator foi imerso, foi coberta com papel alumínio para proteção contra a luz, a fim de evitar o crescimento de organismos fototróficos e a possível produção de oxigênio relacionada a eles, conforme recomendado por Tang *et al.* (2011).

A Figura 2 apresenta a representação esquemática da transferência de massa ocorrida no reator MABR Desamonificante em fluxo contínuo operado no presente estudo.

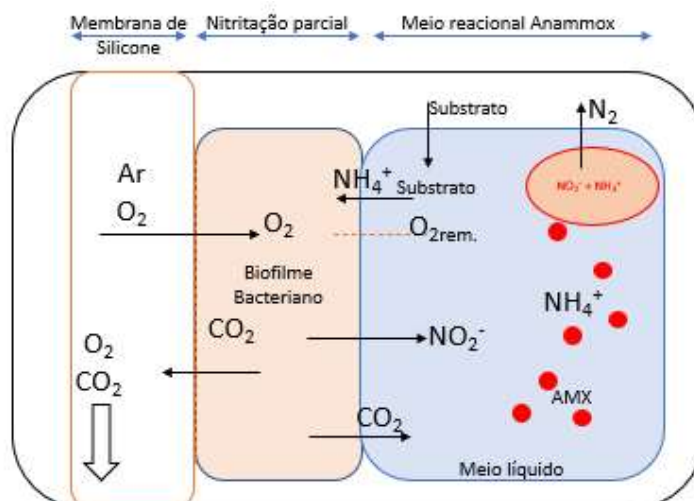


Figura 2 Esquema representativo de um sistema de biofilme aerado por membrana (MABR), com adaptação para reatores que promovem de forma concomitante os processos Nitritação Parcial e Anammox[®] (Adaptado de Casey *et al.*, 1999).

2.2 Condução do experimento

2.2.1. Etapa 1

2.2.1.1. Condições experimentais

Foram testados tempos de detenção hidráulica (TDH) de 5, 3 e 1 dia, correspondendo às CVN de 0,02; 0,033, e 0,1 $\text{Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Durante todo o experimento, o regime de fornecimento de oxigênio foi intermitente, sendo fornecido 1 minuto de aeração com os intervalos, conforme Tabela 1.

Tabela 1 Detalhamento das condições experimentais de acordo com o TDH, CVN e aeração intermitente.

TDH (Dias)	CVN ($\text{Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)	Intervalo de aeração (horas)	Tempo de operação na condição (dias)
5	0,02	4	95
3	0,033	1,44	211
1	0,1	0,16	30

2.2.1.2 Inoculação do Reator MABR de Fluxo Contínuo

O reator foi inoculado com lodo proveniente de uma estação de tratamento de esgoto urbano, coletado no descarte de lodo anaeróbico de um reator UASB.

O procedimento de inoculação foi constituído de: i) preencher o volume útil do reator (2,0L) com lodo diluído no próprio efluente da coleta, atingindo o teor de Sólidos Voláteis de aproximadamente 4000 mg.L⁻¹; ii) ligar a microaeração forçada por meio da membrana de silicone durante um período de 7 dias (AUGUSTO *et al.*, 2018). Após os 7 dias iniciais de inoculação, a microaeração foi convertida para o modo intermitente.

2.2.1.3 Alimentação da etapa I: Sintética

A alimentação sintética foi adaptada de Van de Graaf *et al.* (1996), seguindo a formulação: NH₄Cl (100mg.L⁻¹); NaHCO₃ (1,5 g.L⁻¹); KH₂PO₄ (0,0272g.L⁻¹); MgSO₄·7H₂O (0,3g.L⁻¹); CaCl₂·2H₂O (0,18g.L⁻¹); solução de elemento traço I (para 1L de água ultrapura: EDTA, 5g; FeSO₄·7H₂O, 9,15g) 1 mL da solução por litro de efluente sintético; Solução de elemento traço II (para 1L de água ultrapura: EDTA, 15g; ZnSO₄·7H₂O, 0,43g; CoCl₂·6H₂O, 0,24 g; MnCl₂·4H₂O, 0,99 g; CuSO₄·5H₂O, 0,25 g; Na-MoO₄·2H₂O, 0,22 g; NiCl₂·6H₂O, 0,19g; Na₂SeO₃(anidro), 0,10 g; H₃BO₄, 0,014g) 1 mL da solução por litro de efluente sintético.

2.2.1.4 Estratégias usadas na recuperação do reator frente aos momentos de inibição das bactérias Anammox[®]

Na Tabela 2, são descritos os eventos e as estratégias usadas para recuperação da atividade das bactérias Anammox[®] quando houve inibição no reator.

Tabela 2 Estratégias de recuperação do reator MABR contínuo de acordo com o estágio temporal de operação experimental.

Dia de operação	Evento	Estratégia Operacional
60°	Evento (E1): Mudança na alimentação de fluxo contínuo para batelada sequencial, devido ao acúmulo de nitrito, notado nos primeiros 60 dias de operação.	Lavagem do reator, com troca manual de todo o substrato presente no reator e posterior mudança de estratégia de alimentação de contínua para batelada sequencial.

95°	Evento (E2): Choque alcalino devido a deficiência na bomba peristáltica de recirculação da fase líquida, que promoveu uniformidade de agitação do reator acarretando fornecimento exacerbado de solução de NaOH (pH: 11)	Troca imediata de efluente e manutenção da alimentação em batelada por mais 2 ciclos de 5 dias.
106°	-	Retorno da alimentação ao regime contínuo para lavagem do efluente presente no reator com excesso de NaOH com TDH reduzido para 3 dias.
280°	-	Redução do TDH para 1 dia.
300°	Evento (E3): Reinoculação do reator com biomassa Anammox [®] proveniente de outro reator MABR operado em batelada sequencial.	

2.2.2. Etapa 2

2.2.2.1 Condições experimentais

Na etapa 2, o reator foi alimentado com efluente de abatedouro de aves. Foram testados tempos de detenção hidráulica (TDH) de 24, 16 e 12h, correspondendo às CVN de 0,13; 0,20, e 0,26 $\text{Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Durante todo o experimento, o regime de fornecimento de oxigênio foi intermitente, conforme Tabela 3.

A cada intervalo temporal, informado na Tabela 3, o aerador era ligado por temporizador, fornecendo 1 minuto de aeração. Os intervalos entre as aerações foram sendo reduzidos conforme aumentou-se a CVN, pois foi mantido, no reator, o fornecimento de OD, de acordo com a demanda de nitrificação parcial de cada TDH estudado.

Tabela 3 Detalhamento das condições experimentais de acordo com o TDH, CVN e aeração intermitente.

TDH (horas)	CVN ($\text{Kg}_N \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)	Intervalo de aeração (minutos)	Tempo de operação na condição (dias)
24	0,13	9	20
16	0,20	6	20

12

0,26

4,5

26

2.2.2.2 Alimentação da etapa II: Efluente de Abatedouro de Aves

O reator foi alimentado com efluente de abatedouro e frigorífico de aves, que foi coletado na saída da lagoa anaeróbia do sistema de tratamento de efluente de uma agroindústria abatedora de aves, localizada na Região Oeste do Paraná. Após a coleta, o efluente foi homogeneizado, analisado (conforme item 2.3) e acondicionado em recipientes de polietileno de 2L, armazenado em freezer a -18°C, até seu uso.

2.3 Análises físico-químicas

Nas duas etapas do experimento, bem como na caracterização do lodo, fonte de biomassa Anammox® a ser enriquecida, foram realizadas as seguintes análises: Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK); Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄⁺); Nitrato(N-NO₃⁻); Nitrito(N-NO₂⁻); pH; Alcalinidade total (AT); Sólidos Totais (ST); Sólidos Voláteis (SV); Sólidos Fixos (SF); Oxigênio Dissolvido (OD). Todas as análises foram realizadas de acordo com a APHA (2005).

A análise de Carbono Orgânico Total (COT) foi realizada pelo método NPOC, usando um analisador de TOC (TOC-LCPH/CPN, Shimadzu, Kyoto, Japão), de maneira a respeitar as recomendações do fabricante, usando o método NPOC.

Para a caracterização do efluente de abatedouro de aves, foram realizadas análises de macro e micronutrientes: Potássio (K), Zinco (Zn), Sódio (Na), Manganês (Mn), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Cromo (Cr), Cálcio (Ca), Cádmiio (Cd), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Chumbo (Pb). O método utilizado, para espectrometria de absorção atômica, foi conforme APHA (2005).

2.4 Cálculo da Eficiência de Remoção de Nitrogênio

A eficiência de remoção de nitrogênio foi calculada por balanço de massa entre as entradas e saídas, com concentrações das formas nitrogenadas no reator. Conforme equação 1.

$$\text{Eficiência de Remoção de N (\%)} = \left\{ \frac{(NTK_{af} - \sum N_{ox_{ef}})}{NTK_{af}} \right\} * 100 \quad (1)$$

Em que:

NTK_{af} = Concentração de Nitrogênio Total Kjeldahl no afluente;

$N_{ox\ ef}$ = Concentração do somatório das formas nitrogenadas NTK_{efluente}, $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$ no efluente.

3 Resultados e Discussão

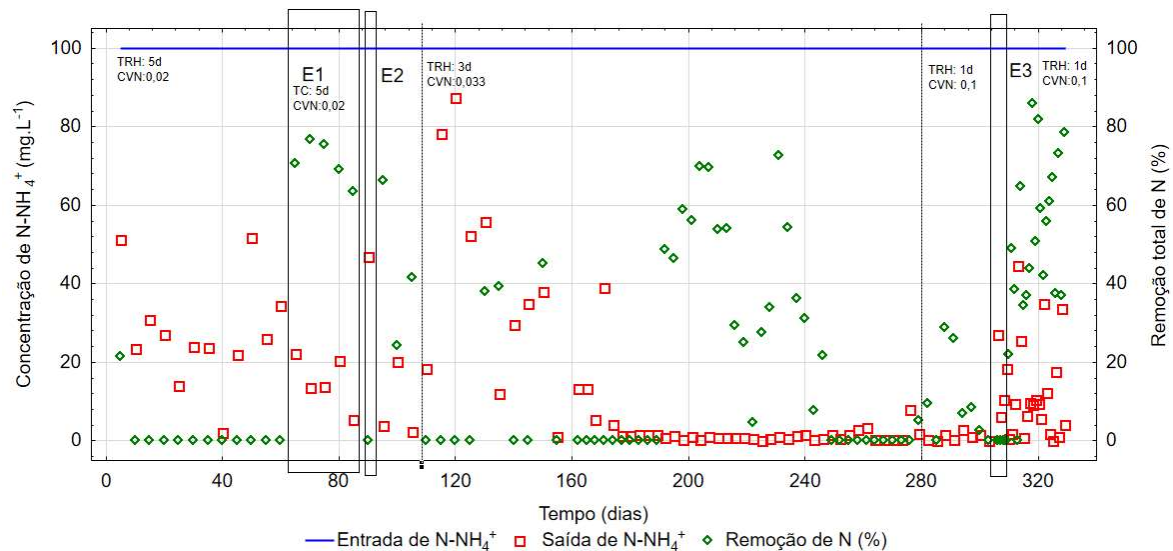
3.1 Resultados da Etapa 1: Enriquecimento de bactérias Anammox®

Na Tabela 4, é apresentada a caracterização do lodo proveniente de Reator UASB que trata esgoto urbano usado na inoculação do reator MABR.

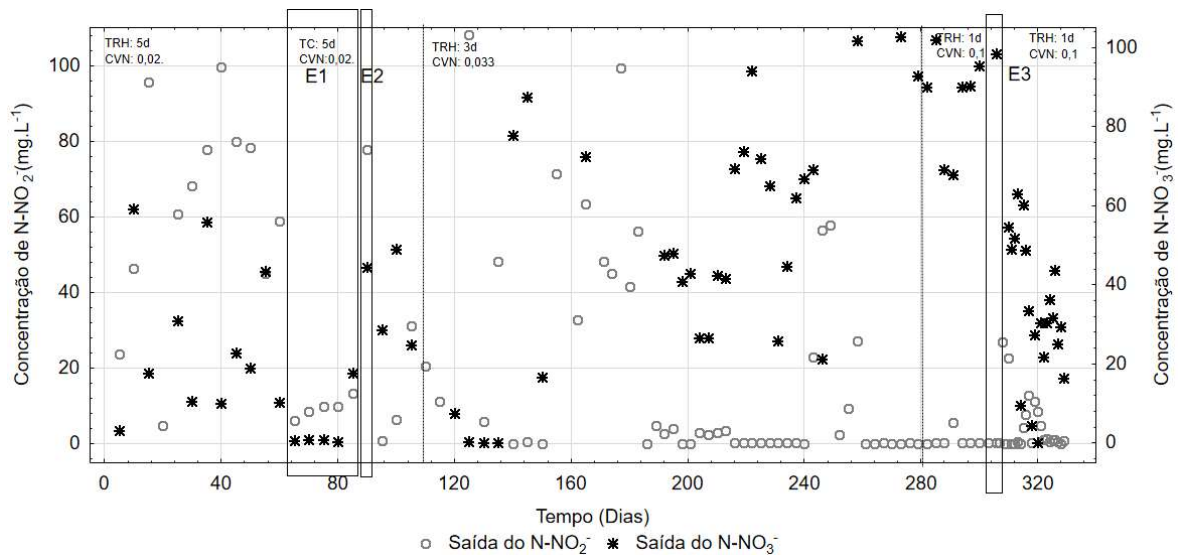
Tabela 4 Caracterização do lodo utilizado na inoculação do reator MABR de fluxo contínuo para enriquecimento das bactérias Anammox®.

Parâmetros	Lodo proveniente De ETE Urbana (Reator UASB)
NTK (g.L ⁻¹)	2,50
N-NH ₄ ⁺ (g.L ⁻¹)	0,30
pH	7,84
AT (g.L ⁻¹)	0,26
ST (g.L ⁻¹)	61,64
SF (g.L ⁻¹)	46,78
SV (g.L ⁻¹)	43,48
DQO (g.L ⁻¹)	0,94
Relação C/N	3,10

Embora a relação C/N tenha sido relativamente baixa, a presença de DQO, em 0,94 g.L⁻¹, para o padrão de um reator de desamonificação, pode ter prejudicado a *start-up* do reator, conforme nota-se na Figura 3. É atribuído a esse desequilíbrio o efeito da competição inicial de organismos heterotróficos com bactérias Anammox®.



(A)



(B)

Figura 3 Comportamento temporal do reator MABR contínuo em relação às formas nitrogenadas (A) N-NH_4^+ e remoção Total de N; (B) N-NO_2^- e N-NO_3^- .

Legenda: E1: Reator alimentado em batelada, E2: Choque de pH básico ($\text{pH}=11$) e E3: Re-inoculação com biomassa Anammox[®] proveniente de outro reator MABR desamonificante.

Pela Figura 3 (A), nota-se que, durante os primeiros 60 dias de operação, nenhuma atividade Anammox[®] foi detectada. Percebe-se, inicialmente, um pico de remoção de nitrogênio ocorrendo na primeira semana de operação do reator com eficiência de 20%; provavelmente, esse comportamento aconteceu por alguma atividade heterotrófica remanescente. Essa afirmação pode ser levantada, visto que, conforme Jenni *et al.* (2014), o ideal para microrganismos Anammox[®] é uma relação DQO/NTK inferior a 1,4, com

relações C/N > 3,0, de maneira que são favorecidos microrganismos anaeróbios heterotróficos.

Em contrapartida à não remoção de nitrogênio, houve um acúmulo exacerbado de nitrito (Figura 3(B)), agente inibidor de grande preocupação em reatores Anammox[®]. Li *et al.* (2016) comentam a falta de consenso na literatura em relação aos valores inibitórios do substrato nitrito, porém, ressaltam que tanto o pH quanto o status de energia das células afetam fortemente a sensibilidade celular à toxicidade do NO₂⁻, levando ao entendimento de que existe uma variação do valor inibitório, de acordo com o pH do meio e a espécie bacteriana Anammox[®].

Li *et al.* (2016), ao exporem células Anammox[®] ao nitrito, explicam que o efeito tóxico foi encontrado quando as células foram expostas a NO₂⁻ na ausência de NH₄⁺, ou na ausência prolongada de substrato (stress energético bacteriano). Essa descoberta levou os autores à hipótese de que a energia de um gradiente de prótons intracelular é usada para transportar NO₂⁻ para regiões sensíveis das células Anammox[®], ocasionando a inibição. Os autores ainda explicam que essa inibição é reversível pela adição exógena de baixas concentrações de nitrato no interior celular (0,85mM), que cria um gradiente reverso, expulsando o NO₂⁻ das células Anammox[®]. Os autores fazem, ademais, uma ressalva de que essa situação de stress, envolvendo a toxicidade do nitrito, devem ser evitadas na *start-up* dos reatores.

Como o acúmulo de nitrito foi visto, durante os primeiros dias de *start-up* do reator, foi realizado um procedimento de troca manual de todo o substrato rico em nitrito e procedeu-se a alteração da alimentação de fluxo contínuo para alimentação em batelada sequencial, tendo como expectativa aumentar o tempo de contato biomassa/substrato (TC=5 dias), para ativação dos microrganismos Anammox[®].

O reator foi operado em batelada sequencial por 40 dias (Figura 3, Evento 1), período no qual a atividade Anammox[®] foi alcançada, com remoção de nitrogênio superior a 60% em todas as bateladas e valor máximo de remoção de N em 76,83%; os coeficientes estequiométricos, em comparação com valores teóricos de MIAO *et al.* (2017), são apresentados nas equações 2 (teórico) e 3 (real - presente estudo), comprovando a *start-up* da atividade Anammox[®], no reator.



Os coeficientes estequiométricos da equação 2, em comparação com os valores teóricos da desamonificação (equação 1), demonstram que, quando operado em batelada,

o reator apresentou coeficientes muito próximo aos teóricos, com a vantagem de que a produção de nitrato foi 4 vezes menor do que a produção de nitrato teórica.

Após os 40 dias de alimentação em batelada sequencial, foi constatada, no dia 95 de operação, uma falha mecânica que provocou uma parada na bomba de recirculação/agitação do meio líquido. Essa falha fez com que o sensor do controlador de pH não verificasse as alterações de pH uniformemente e deslocasse, para dentro do reator, solução de NaOH 2M em quantidade suficiente para elevação de pH de 8,5 para pH 11, paralisando gradativamente todas as atividades do reator (nitrificante e Anammox[®]) até o 130° dia de operação.

Zhang *et al.* (2021) testaram, em reatores em batelada sequencial, a exposição de lodo granular Anammox[®] a pH básico por um período de 3 dias em pH 10,5; a elevação do pH do estudo também foi realizada com solução de NaOH 2M. A tentativa de recuperação da atividade foi feita até o dia 70 de operação e nenhuma recuperação foi encontrada pelos pesquisadores; logo após o choque alcalino, a eficiência de remoção de N caiu de 82 para 13%. No presente estudo, logo após o choque alcalino, a eficiência de remoção de N caiu de 62 para 40%.

Como estratégias de recuperação da atividade bacteriana Anammox[®] no reator, foi realizada, posteriormente ao choque de pH alcalino, a alteração imediata do regime de alimentação de batelada sequencial para contínuo, a fim de promover a lavagem dos agentes tóxicos alcalinos e biomassa morta para fora do reator. O TDH foi reduzido de 5 para 3 dias, uma vez que, com a morte de parte de biomassa por choque alcalino, a atividade nitrificante poderia ser facilitada devido à grande diferença entre a taxa de replicação Anammox[®] (~2,6 a 11 d) e outras bactérias nitrificantes (~5-8 h) (ZHANG *et al.*, 2021).

A partir do dia 130, a atividade nitrificante foi retomada no reator com alternância de formação predominante de nitrito e nitrato. Entre os dias 200 e 240, pode-se notar uma leve recuperação de atividade condizente com microrganismos Anammox[®], visto que as concentrações de carbono orgânico no interior do reator são extremamente baixas (TOC_{médio} 9,0±4,10 mg.L⁻¹, Tabela 4), impedindo atividade heterotrófica de remoção de nitrogênio (TORNO *et al.*, 2018).

Embora o reator tenha demonstrado essa breve melhora na remoção de N, a atividade Anammox[®] foi novamente perdida por completo após o 240° dia de operação, demonstrando que o microrganismo predominante foram bactérias formadoras de nitrato.

Como estratégia para recuperação da atividade Anammox[®], foi realizada a redução do TDH de 3 dias para 1 dia, a partir do 280° dia de operação. O reator, diante dessa mudança, demonstrou uma leve recuperação de atividade Anammox[®] indicada pela remoção de N (que atingiu um único pico de 30%) e, em menos de 10 dias, foi perdida

novamente toda a atividade, restando apenas nitrato como forma nitrogenada no efluente do reator.

Como estratégia final de operação do reator MABR Anammox[®] contínuo, o reator foi reinoculado, com biomassa rica em microrganismo Anammox[®], da espécie *Candidatus Anammoxoglobus Propionicus*, proveniente de outro reator Anammox[®] MABR, operado em batelada sequencial. A reinoculação foi realizada no dia 300 de operação e o processo de *start-up* foi acelerado pelo reator MABR, como é demonstrado na Figura 4.

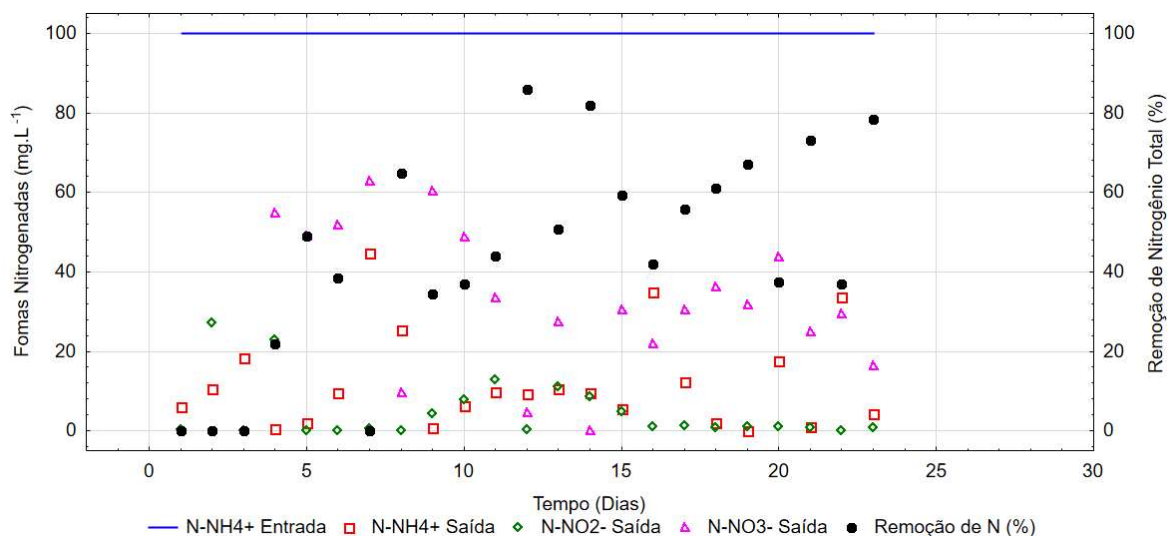


Figura 4 Comportamento temporal do reator MABR contínuo em relação às formas nitrogenadas N-NH₄⁺, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ e remoção de Total de N, após o evento E3: Reinoculação com biomassa Anammox[®].

As quedas expressivas da presença de nitrato e consequente início da atividade Anammox[®] foram percebidos a partir do 9º dia da reinoculação e, em menos de 25 dias, já são vistos picos de remoção de N via Anammox[®] acima de 80%, demonstrando que o sistema de biofilme aerado por membrana possibilitou o controle nas concentrações de nitrito e dosagem de oxigênio suficiente para nitrificação parcial.

Na Tabela 5, são apresentados os dados de consumo de alcalinidade em função do nitrogênio amoniacal oxidado (mgCaCO₃/mgNH₄⁺), pH e presença de carbono orgânico total, como indicativo de atividade heterotrófica.

Tabela 5 Valores médios que representam o comportamento do reator com relação aos parâmetros Consumo de Alcalinidade / Consumo de Nitrogênio Amoniacal, pH e presença de carbono orgânico nas três cargas aplicadas no reator.

TDH ou TC (Dias)	CVN kg _N .m ⁻³ .d ⁻¹	Alc/NH ₄ ⁺	pH	COT mg.L ⁻¹
TDH de 5 dias	0,02	16,20	7,66±0,43	4,23±0,7
TC de 5 dias	0,02	15,21	7,70±0,33	7,70±0,6

TDH de 3 dias	0,033	15,76	8,50±0,30	10,78±3,15
TDH de 1 dia	0,1	15,33	8,98±0,15	6,23±0,20
TDH de 1 dia	0,1	16,57	8,60±0,13	4,70±1,07
(após re-inoculação)				
Geral	-	15,72	8,04± 0,54	9,0±4,10

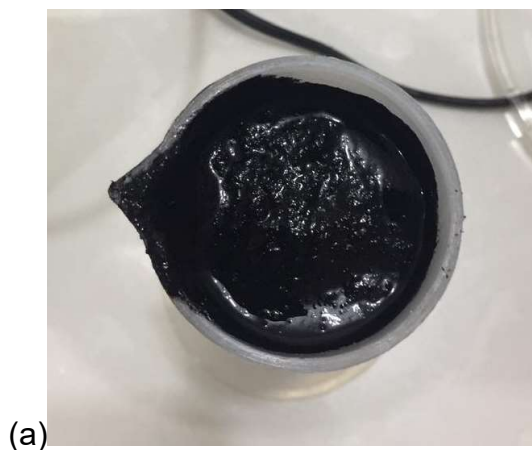
*relação alcalinidade consumida: nitrogênio amoniacal oxidado ($\text{mgCaCO}_3/\text{mgNH}_4^+$)

CVN: Carga Volumétrica de Nitrogênio.

COT: Carbono Orgânico Total.

A literatura não aponta para um consenso sobre a quantidade de alcalinidade consumida nos reatores de NP/A em fase única, visto que a alcalinidade é usada na nitrificação parcial e no crescimento celular Anammox[®]. Os dados de pH, com exceção do choque alcalino, demonstram que o pH não exerceu influência sobre o equilíbrio do meio. A atividade heterotrófica, como demonstram os dados de COT, foi inviabilizada no reator; a primeira leitura de carbono orgânico foi feita aos 15 dias de operação e indica uma relação C/N controlada de 0,1 a partir da data mencionada.

Na Figura 5, são apresentadas imagens dos estágios visuais da biomassa Anammox[®] enriquecida no reator MABR contínuo; todos os estágios mostrados são prévios à reinoculação do reator.



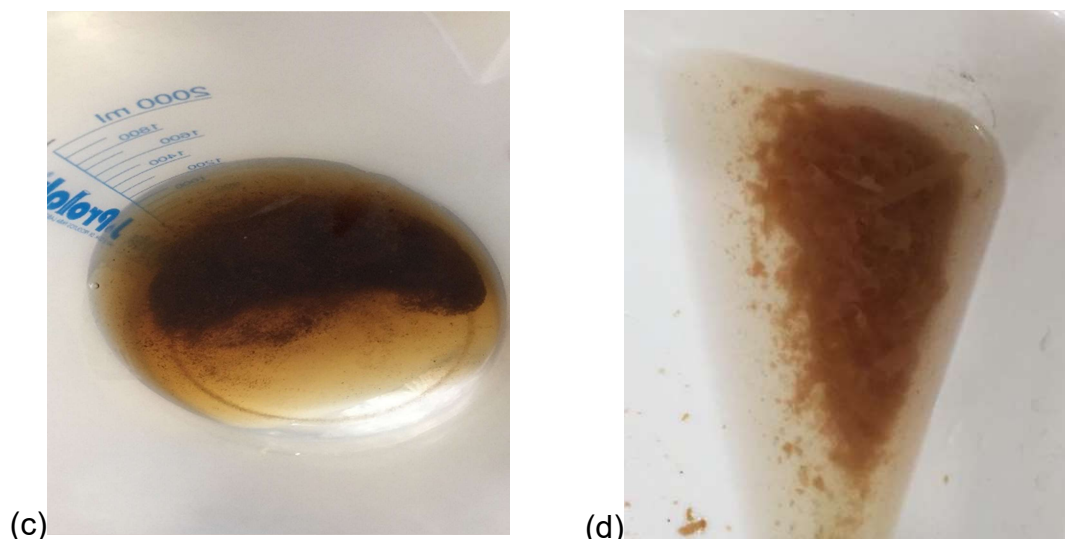


Figura 5. Estágios visuais da biomassa enriquecida no reator MABR contínuo. (a) biomassa coletada no descarte de lodo de um reator UASB-ETE Urbana, usado na inoculação do reator. (b) sinais de enriquecimento Anammox[®], com mudança de coloração da biomassa após 60 dias de operação. (c) aspecto da biomassa após o choque em pH alcalino. (d) biomassa retirada do fundo do reator no dia da reinoculação (E3).

As imagens (a) e (b) da Figura 5 têm diferença de 90 dias e representam a coleta do lodo na estação de tratamento, bem como o lodo enriquecido com 90 dias de maturação; a Figura 5 (c) permite visualizar a biomassa após o choque alcalino com 20h de exposição da biomassa ao pH 11. O aspecto de biomassa desintegrada também é relatada por Zhang *et al.* (2021), após os reatores do estudo sofrerem um choque alcalino em pH 10,5.

Um fato que chamou a atenção foi a imagem da Figura 5 (d), que foi obtida após 300 dias de operação; no fundo do reator, foi recolhida biomassa de cor avermelhada, compatível com aspecto de biomassa Anammox[®] ativa. Contudo, essa biomassa não conseguiu promover a remoção de N pela via Anammox[®].

Nos últimos anos, o fator quorum sensing (QS), no processo Anammox[®], tem atraído cada vez mais atenção, pois se trata de um mecanismo de comunicação célula-célula onipresente. O QS é percebido com base na produção microbiana de substâncias sinalizadoras, como acil-homoserina lactonas (AHL's), fornecendo importantes reguladores funcionais para comportamentos fisiológicos de microrganismos, como movimento celular e expressão de atividade (LIU *et al.*, 2018).

Zhao *et al.* (2016) observaram que a desintegração do lodo e a redução da atividade ocorreram no reator Anammox[®] em estudo, quando a liberação de acil-homoserina lactonas endógenas foi suprimida. Sun *et al.* (2018) e Zhang *et al.* (2019) verificaram que é possível promover a adição exógena de células de AHLs e melhorar, portanto, a agregação dos grânulos Anammox[®], bem como aumentar a eficiência dos reatores.

Dentro desse contexto, pode-se fazer a inferência de que o choque de pH alcalino não impediu por completo o processo de replicação das bactérias Anammox[®] no reator do

presente estudo (Figura 5 (d)), mas, provavelmente, a desintegração do lodo, conforme evidencia a Figura 5 (c), provocou redução significativa na produção de moléculas de QS, as quais não sofreram reposição externa, de forma que não foi possível a reativação do reator.

A reativação só foi vista quando o reator foi inoculado com biomassa de outro reator MABR operado em batelada sequencial, que estava com a biomassa ativa e produzindo moléculas de Quórum Sensing.

Zhang *et al.* (2021) contribuem com essa discussão da recuperação de atividade Anammox[®] por meio de moléculas de QS, demonstrando que a flutuação da relação C/N pode estimular a produção dessas células. Isso foi evidenciado com base na alimentação de um reator Anammox[®] com substrato descartado de outro reator desnitrificante RBS convencional, alimentado com efluente rico em acetato (fonte de carbono) e nitrato fonte de nitrogênio. Esse substrato continha células AHL's e, quando colocado no reator Anammox[®], produziu relação C/N variável (flutuante) que estimulou a produção de novas células de QS e reativou o reator.

Outro estudo que corrobora a ideia de estimulação da produção de moléculas QS, pela flutuação da relação C/N, é o estudo de Bunse *et al.* (2020), que comentam que essa flutuação ocorreu no reator MABR estudado devido ao sistema ser híbrido metanogênese/desnitrificação heterotrófica/nitrificação parcial e Anammox[®], no mesmo reator, atuando no tratamento de esgoto doméstico urbano. Nesse estudo, infere-se que a relação C/N flutuante mantém outros microrganismos produtores de AHL's ativos e, por consequência, a alta liberação de AHL's no liquor do reator também mantém as bactérias Anammox[®] em atividade.

Diferentemente do ocorrido no reator recuperado por Zhang *et al.* (2021) e no estudo de Bunse *et al.* (2020), o presente estudo não pôde contar com a estimulação da produção de células de QS pela flutuação da relação C/N, uma vez que o afluente era sintético e controlado para se manter sem carbono orgânico, a fim de impedir a competição de microrganismos Anammox[®] e outros organismos heterotróficos.

3.2 Desamonificação de Efluente de Abatedouro De Aves

A caracterização do efluente de abate de aves usado no experimento é apresentada na Tabela 2.

Tabela 6 Caracterização da água residuária utilizada na alimentação do reator MABR contínuo

Parâmetro*	Água residuária de abatedouro avícola
NTK (mg.L ⁻¹)	131,60
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	70,84
pH	7,21
AT (mg.L ⁻¹)	27,50
SST (mg.L ⁻¹)	65,00
SSF (mg.L ⁻¹)	10,00
SSV (mg.L ⁻¹)	55,00
DQO (mg.L ⁻¹)	136,28
Relação NTK/DQO	0,97
P (mg.L ⁻¹)	0,06
K (mg.L ⁻¹)	56,28
Zn (mg.L ⁻¹)	0,39
Na (mg.L ⁻¹)	2782,75
Mn (mg.L ⁻¹)	0,39
Mg (mg.L ⁻¹)	41,22
Fe (mg.L ⁻¹)	5,33
Cr (mg.L ⁻¹)	0,37
Ca (mg.L ⁻¹)	145,53

*Os parâmetros Cd, Cu, Ni, Pb, NO₃⁻ e NO₂⁻ estiveram abaixo do nível de detecção do método quantificador.

Com base no pH levemente básico e baixa alcalinidade, expressa na forma de CaCO₃, que atua no poder tampão, evitando quedas bruscas de pH a níveis inadequados a microrganismos Anammox[®] (SHEREEN *et al.*, 2011), optou-se pela suplementação de 2,0 g.L⁻¹ de alcalinizante na forma de bicarbonato de sódio.

Na Figura 6, é apresentado o comportamento das formas nitrogenadas no reator diante das 3 cargas testadas.

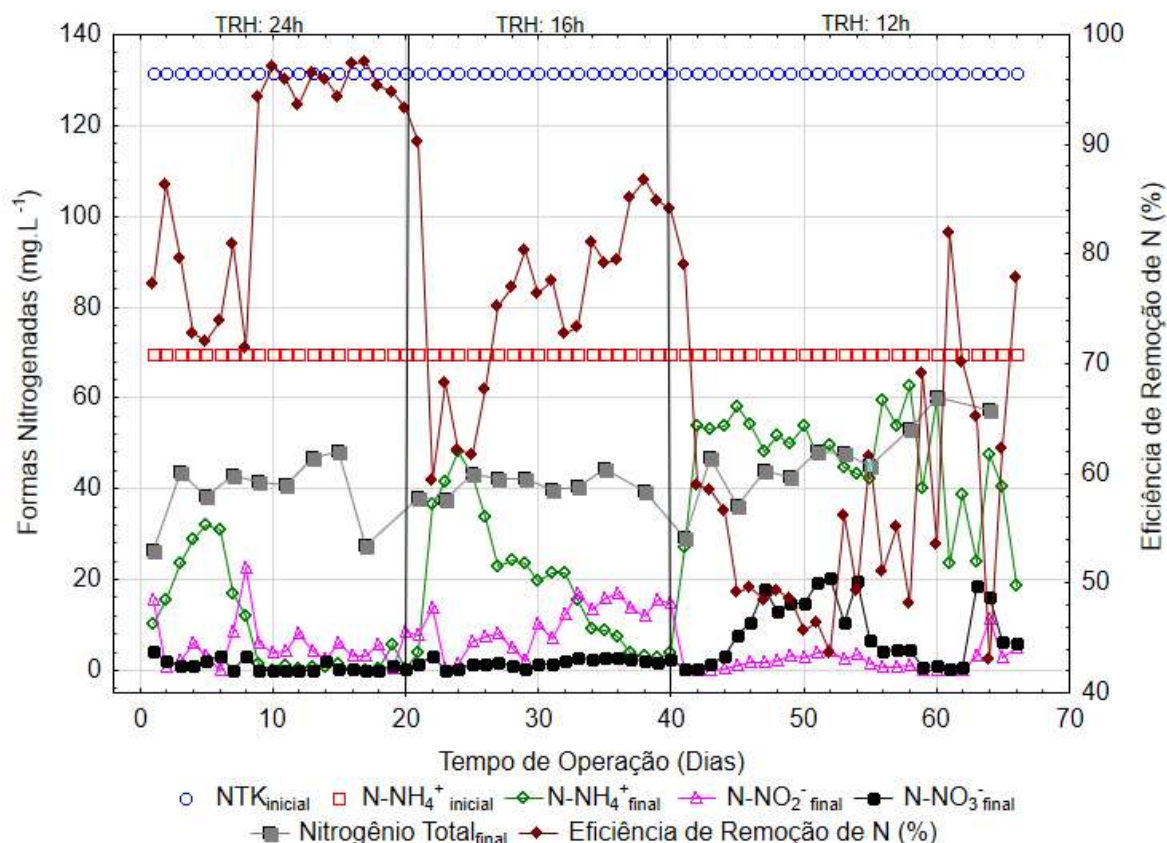


Figura 6 Formas nitrogenadas e eficiência de remoção de nitrogênio durante a condução do experimento.

O TDH de 24h apresentou os melhores índices de remoção de nitrogênio; o tempo de adaptação dos microrganismos a uma remoção de nitrogênio acima de 95% foi de 7 dias. Quando o reator sofreu redução de TDH para 16h, o tempo de adaptação foi de 10 dias e o pico de remoção de N foi de 85%. O terceiro TDH testado, 12h, apresentou um comportamento mais irregular entre todos os testes, porém, após 20 dias de aumento de carga, atingiu um pico de remoção de N superior a 80%.

Bunse *et al.* (2020) operaram 4 reatores MABR em escala de laboratório no tratamento de efluentes de esgoto doméstico; os níveis de nitrogênio amoniacal e DQO foram similares aos da presente pesquisa (variando entre 31 e 120 mg_{NH₄⁺} L⁻¹ e a DQO solúvel entre 7 e 230 mg_{O₂}.L⁻¹). A remoção de amônio alcançada foi entre 70 e 90% e Remoção de NT entre 60 e 80% com taxas médias de remoção, de aproximadamente 1,2 g_N.m⁻².d⁻¹ e remoção máxima de TN de ~ 2 g_N.m⁻².d⁻¹; as taxas de remoção, reportadas pelos autores, expressam função da área disponível de membrana no interior dos reatores.

A remoção de nitrogênio total, apresentada por Bunse *et al.* (2020), demonstra que o fenômeno de amonificação ocorreu nos reatores da pesquisa citada. Esse fenômeno também é notado no presente trabalho. Isso ocorre devido às condições de baixa oxigenação, que permitem a conversão de nitrogênio da forma orgânica para forma

amoniacoal, fornecendo mais substrato para a remoção final do nitrogênio pela via Anammox[®], durante o tempo de reação. Na presente pesquisa, notou-se um aporte máximo de 50% de nitrogênio amoniacoal proveniente do nitrogênio orgânico presente no afluente.

No contexto de parâmetros de caracterização que podem causar inibição a microrganismos Anammox[®], apenas o teor de sódio chama atenção.

Madeira & Araújo (2021) comentaram que a molécula de sódio é encontrada em diversos surfactantes (detergentes), geralmente utilizados nos processos de limpeza industrial; entre essas moléculas, pode-se citar as formulações químicas Dodecil benzeno Sulfonato de Sódio, Lauril sulfato de sódio e Dodecil sulfato de sódio.

O efeito de surfactantes à base de sódio sobre a atividade de microrganismos Anammox[®] foi testado por Qiao *et al.* (2016), que não identificaram efeitos inibitórios ao testar efluentes com concentrações entre 50 e 150mg.L⁻¹ da forma química Dodecil Benzeno Sulfonato de Sódio. Zhang *et al.* (2021) informaram perda de atividade Anammox[®] de 79,2% e 85,1%, quando houve exposição da biomassa Anammox[®] a moléculas de Lauril Sulfato de Sódio, em concentrações entre 50 e 150mg.L⁻¹. Os autores ainda reportaram que apenas 10 mg.L⁻¹ de Dodecil Sulfato de Sódio foi suficiente para desagregar o lodo e inibir o metabolismo Anammox[®].

Embora a caracterização do efluente, no presente estudo, apresente 2,78 g.L⁻¹ de concentração de sódio, a inibição da atividade Anammox[®] não foi identificada, conforme nota-se na Figura 2. Diante disso, pode-se inferir que a formulação química do surfactante, usado pela agroindústria onde foi coletado o efluente da presente pesquisa, não conteve uma formulação inibidora Anammox[®].

Outras formas de sódio, como o hipoclorito de sódio e o NaCl (sal), são usadas na limpeza e no processamento de tripas embaladas; parte desses sais chega ao sistema de tratamento de efluentes, podendo ser tóxico aos microrganismos Anammox[®] (SENAI-RS, 2003). Porém, a concentração desses sais, no efluente estudado, não foi inibitória.

Outra justificativa para a não inibição do reator MABR do presente estudo, diante da alta concentração de sódio, é comentada por Ma (2018). A autora fundamenta que a presença do biofilme dos reatores MABR pode atuar evitando choques tóxicos de compostos inibidores, com microrganismos Anammox[®]. A autora, ao analisar as bactérias presentes no biofilme, comenta a existência de biomassa Anammox[®] nas camadas mais externas do biofilme (distanciadas do contato direto com OD).

As bactérias Anammox[®], estando também fixas no biofilme, são protegidas pela resistência do biofilme a compostos inibidores. Essa justificativa, comentada por Ma (2018), pode ter fundamentado o bom desempenho do reator do presente estudo frente ao inibidor sódio encontrado em altas concentrações no efluente de abate de aves.

Na Figura 7, são apresentados resultados de alcalinidade, carbono orgânico e pH.

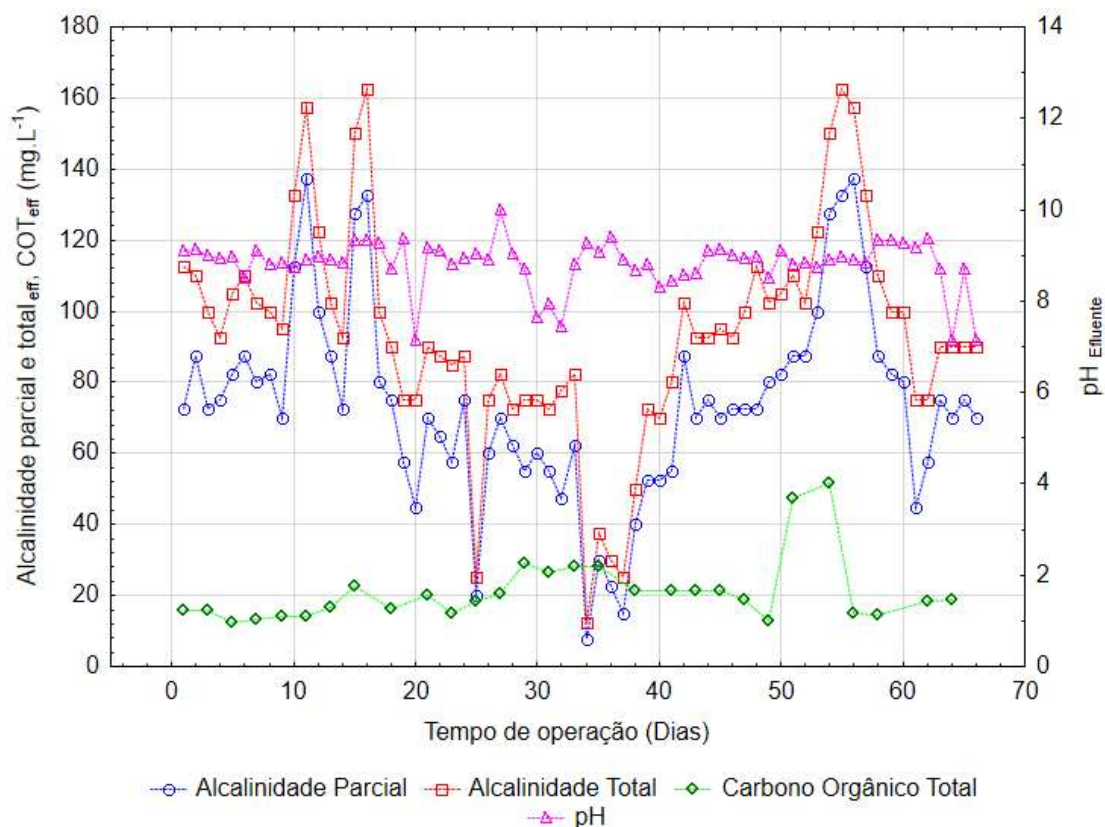


Figura 7 Alcalinidade parcial e total, Carbono Orgânico Total e pH no descarte do efluente de abate de aves tratado no reator MABR Anammox® contínuo. (eff = presença do composto no efluente final).

O consumo de carbono orgânico é evidenciado no reator, ao comparar os dados da Figura 3, com a caracterização do efluente ($DQO_{inicial} = 136,28 \text{ mg.L}^{-1}$), indicando possível atividade heterotrófica concorrente à Anammox®. Porém, a baixa relação C/N do presente estudo não permite afirmar que houve preferência pela via heterotrófica no reator.

Bunse *et al.* (2020) verificaram concorrência entre a via Anammox® e a via de desnitrificação heterotrófica, ao operar o reator com C:N de até 5,5, porém, quando os autores controlaram essa relação em valores inferiores a 1, houve predominância da atividade Anammox®, corroborando o comportamento do reator da presente pesquisa.

A Figura 8 apresenta as taxas de consumo de alcalinidade e a quantidade de alcalinidade consumida por nitrogênio amoniacal oxidado.

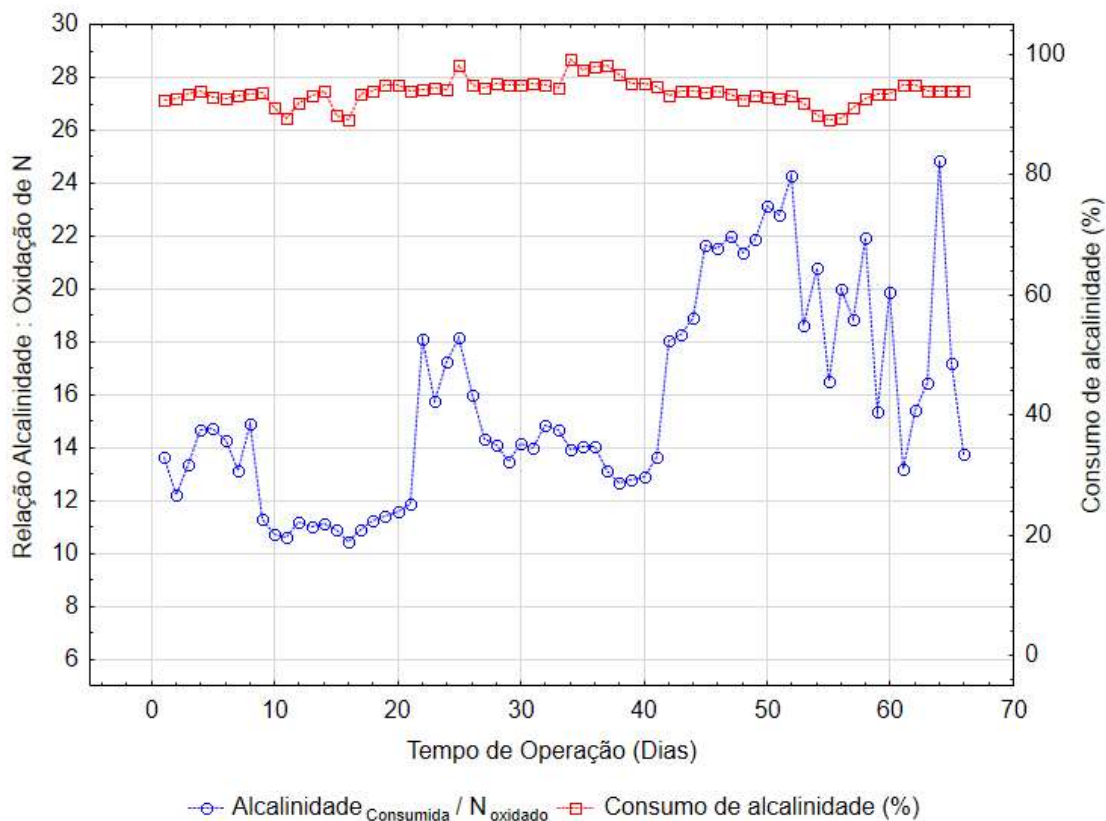


Figura 8 Taxa de consumo de alcalinidade e relação entre alcalinidade e oxidação de nitrogênio no reator MABR Anammox® contínuo.

Do ponto de vista econômico, o TDH de 24 horas apresentou os resultados mais interessantes com menor consumo de agente alcalinizante; esse fenômeno ocorreu nos dias em que o reator atingiu as maiores eficiências de remoção N, relação Alcalinidade Consumida/Nitrogênio oxidado inferior a 12.

Embora seja vantajoso, economicamente, haver consumos menores de alcalinidade em reatores Anammox®, Cao *et al.* (2021) alertaram que a indisponibilidade de alcalinizantes favorece a atividade de bactérias oxidadoras de nitrito. Os autores trabalharam com relação alcalinidade/nitrogênio de 6,2 e 4,9 e, em ambas as condições, visualizaram a perda da atividade Anammox®, com predominância da formação de nitrato nos reatores.

No presente estudo, a menor relação Alcalinidade consumida / Nitrogênio oxidado foi de 10,42, tomando como base a concentração de $\text{NTK}_{\text{inicial}}$ em $131,60 \text{ mg.L}^{-1}$. A relação Alcalinidade consumida / Nitrogênio oxidado foi em média de 15,19. O fornecimento de alcalinizantes ao processo de nitrificação parcial e crescimento celular Anammox® foram satisfatórios para o estudo, não ocorrendo nenhum processo inibitório.

AN, P.; XU, X.; YANG, F.; LIU, L.; & LIU, S. A pilot-scale study on nitrogen removal from dry-spun acrylic fiber wastewater using Anammox process. **Chemical Engineering Journal**, v. 222, [s.n.], p. 32-40, 2013.

ASSIS, T. M.; SCHILICHTING, M.V.; LOPES, L.C.; KUNZ, A.; GOMES, S.D. Stability of partial nitrification of poultry slaughterhouse wastewater in a sequential batch reactor. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal-SP, v. 37, n. 2, p-323-332, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual 2021**. Disponível em: <http://abpa-br.org/abpa-lanca-relatorio-anual-2021/>. Acesso em: 09 set. 2021.

AUGUSTO, M.R.; CAMILOTI, P.R.; SOUZA, T.S.O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using Anammox and partial nitrification (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 266, [s.n.], p. 151-157, 2018.

BUNSE, P.; ORSCHLER, L.; AGRAWAL, S.; & LACKNER, S. Membrane aerated biofilm reactors for mainstream partial nitrification/Anammox: Experiences using real municipal wastewater. **Water Research X**, v. 9, [s.n.], p.100066-100077, 2020.

CAMILOTI, P. R. *et al.* Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 89, n. 7, p. 1044-1050, 2013.

CAMILOTI, P.R.; OLIVEIRA, G.H.D.; ZAIAT, M. Sulfur recovery from wastewater using a micro-aerobic external silicone membrane reactor (ESMR). **Water. Air. Soil Pollut.**, v. 227, n.31, p.115-121, 2016.

CAO, S.; DU, R.; LI, B.; WANG, S.; REN, N.; & PENG, Y. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: performance, kinetics and microbial community. **Chemical Engineering Journal**, v. 326, n. 100, p. 1186-1196, 2017.

CASEY, E.; GLENNON, B.; HAMER, G. Oxygen mass transfer characteristics in a membrane-aerated biofilm reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 62, n. 2, p. 183-192, 1999.

CHO, S.; KAMBEY, C.; NGUYEN, V. K. Performance of Anammox Processes for Wastewater Treatment: A Critical Review on Effects of Operational Conditions and Environmental Stresses. **Water**, v.12, n.1, p. 20, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. (2021). **Meat Market Review-March 2021**. March. Disponível em: <https://www.fao.org/economic/est/est-commodities/meat/meat-and-meat-products-update/en/>. Acesso em: 01 set. 2021.

FUX, C.; MARCHESI, V.; BRUNNER, I.; SIEGRIST, H. Anaerobic ammonium oxidation of ammonium-rich waste streams in fixed-bed reactors. **Water Sci. Technol.**, v. 49, [s.n.], p. 77-82, 2004.

GERBENS-LEENES, P. W.; MEKONNEN, M. M.; & HOEKSTRA, A. Y. The water footprint of poultry, pork and beef: A comparative study in different

countries and production systems. **Water Resources and Industry**, v. 1-2, [s.n.], p. 25-36, mar., 2013.

GONG, Z.; YANG, F.; LIU, S.; BAO, H.; HU, S.; & FURUKAWA, K. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox®. **Chemosphere**, v. 69, n.5, p. 776-784, 2007.

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

LI, X.; SUN, S.; BADGLEY, B. D.; SUNG, S.; ZHANG, H.; & HE, Z. Nitrogen removal by granular nitrification-Anammox in an upflow membrane-aerated biofilm reactor. **Water Research**, v. 94, [s.n.], p. 23-31, 2016.

LIU, Y.M.; GUO, J.B.; LIAN, J.; CHEN, Z.; LI, Y.J.; XING, Y.J.; WANG, T. Effects of extracellular polymeric substances (EPS) and N-acyl-L-homoserine lactones (AHLs) on the activity of Anammox biomass. **Int. Biodeterior. Biodegradation**, v. 129, [s.n.], p. 141-147, 2018.

MA, Y. **Monitoring and modeling of nitrogen conversions in membrane-aerated biofilm reactors: Effects of intermittent aeration**. Orientador: Simon Lackner . 2018. P.70. Tese. (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Department of Environmental Engineering, Technical University of Denmark (DTU), local, 2018.

MADEIRA, C. L.; & DE ARAÚJO, J. C. Inhibition of Anammox activity by municipal and industrial wastewater pollutants: A review. **Science of the Total Environment**, v., 799, [s.n.], p.149449-149472, 2021.

MIAO, Y.; ZHANG, L.; LI, B.; ZHANG, Q.; WANG, S.; & PENG, Y. Enhancing ammonium oxidizing bacteria activity was key to single-stage partial nitrification-Anammox system treating low-strength sewage under intermittent aeration condition. **Bioresour. Technol.**, v. 231, [s.n.], p. 36-44, 2017.

MILIA, S.; PERRA, M.; TOCCO, G.; & CARUCCI, A. The start-up of an Anammox reactor as the second step for the treatment of ammonium rich refinery (IGCC) wastewater with high Corg/N ratio. **Ecological Engineering**, v. 106, n. 2, p. 358-368, 2017.

MITRA, S.; DALTRAPHE, N. C.; GILRON, J. A. novel eductor-based MBR for the treatment of domestic wastewater. **Water Research**, v. 100, [s.n.], p. 65-79, 2016.

MORALES, N.; VAL DEL RÍO, Á.; VÁZQUEZ-PADÍN, J.R.; MÉNDEZ, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L. Integration of the Anammox process to the rejection water and main stream lines of WWTPs. **Chemosphere**, v. 140, [s.n.], p. 99-105, 2015.

MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A. A.; ROBERSON, L. A.; KUENEM, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized reactor. **FEMS Microbiol. Ecol.**, v. 16, [s.n.], p. 177-184, 1995.

QIAO, S.; ZHENG, N.; TIAN, T.; YU, C.; ZHOU, J. Effects of short-term exposure to linear anionic surfactants (SDBS, SLS and SDS) on Anammox biomass activity. **RSC Adv**, v.195, [s.n.], p.817-824, 2016.

RANA, R. S.; SINGH, P.; KANDARI, V.; SINGH, R.; DOBHAL, R.; & GUPTA, S. A review on characterization and bioremediation of pharmaceutical industries' wastewater: an Indian perspective. **Applied Water Science**, v. 7, n.1, p.1-12, 2017.

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

SENAI.RS. **Princípios Básicos de Produção mais Limpa em Matadouros Frigoríficos**. Porto Alegre: Centro Nacional de Tecnologias Limpas SENAI, 2003.

STROUS, M.; HEIJNEN, J.J.; KUENEN, G.J.; JETTEN, M.M.S. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 50, [s.n.], p. 589-596, 1998.

SUN, Y.P.; GUAN, Y.T.; ZENG, D.F.; HE, K.; WU, G.X. Metagenomics-based interpretation of AHLs-mediated quorum sensing in Anammox biofilm reactors for low-strength wastewater treatment. **Chem. Eng. J.**, v. 344, [s.n.], p. 42-52, 2018.

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

TORNO, J.; NAAS, C.; SCHROEDER, J. P.; & SCHULZ, C. Impact of hydraulic retention time, backflushing intervals, and C/N ratio on the SID-reactor denitrification performance in marine RAS. **Aquaculture**, v. 496, [s.n.], p. 112-122, jul., 2018.

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

WANG, Z.; PENG, Y.; MIAO, L.; CAO, T.; ZHANG, F.; WANG, S.; & HAN, J. Continuous-flow combined process of nitrification and ANAMMOX for treatment of landfill leachate. **Bioresource Technology**, v. 214, [s.n.], p. 514-519, 2016.

YIN, X.; RAHAMAN, M.H.; LIU, W.; MAKINIA, J.; ZHAI, J. Comparison of nitrogen and VFA removal pathways in autotrophic and organotrophic Anammox reactors. **Environmental Research**, v.195, [s.n.], p.817-824, 2021.

ZHANG, J.; PENG, Y.; ZHEN, W.; ZHANG, L.; LI, J.; WEI, J.; ZHENG, Z.; MING & ZHANG, K. Improving the resistance of Anammox granules to extreme pH shock: The effects of denitrification sludge EPS enhanced by a fluctuating C/N ratio cultivation on granules. **Science of the Total Environment**, v. 763, [s.n.], p.124-130, 2021.

ZHANG, J.; ZHANG, Y.C.; WANG, X.J.; LI, J.; ZHOU, R.X.; WEI, J.; LIANG, D.B.; ZHANG, K. Effects of substrate shock on release of AHL signals in Anammox granules and properties of granules. **Environ. Sci. Water Res. Technol.**, v. 4, [s.n.], p. 26-49, 2019.

ZHANG, Z.Z.; ZHANG, Y.; CHENG, Y.F.; JIN, R.C. Linear anionic surfactant (SDBS) destabilized Anammox process through sludge disaggregation and metabolic inhibition. **J. Hazard. Mater.**, v. 403, n. 123641, p.1-10, 2021.

ZHAO, W.J.; WU, J.F.; CHEN, F.S. Experimental study on filtering papermaking black liquor by dynamic blade crossflow membrane. **Nord. PULP. PAP. RES. J.**, v. 35, [s.n.], p. 464-470, 2020.

Conclusões

- A produção de moléculas de *Quórum sensing* foi prejudicada no reator na primeira etapa experimental, após o choque alcalino sofrido, ficando inviável a recuperação do reator.
- A reinoculação do reator permitiu demonstrar que o sistema de formação de biofilme aerado por membrana, de fato, colaborou com *start-up* de atividade Anammox[®] no reator com tempo de 9 dias.
- O aspecto de biomassa Anammox[®], encontrada previamente à reinoculação, leva à inferência de que a exposição do lodo à elevada concentração de nitrito inicial e o choque de pH básico inibiram a atividade da via Anammox[®], mas levantam a hipótese de que a replicação celular pode não ter sido inibida.
- O comportamento do reator MABR contínuo, quando alimentado com efluente real de indústria abatedora de aves, que sofreu prévia amonificação, foi compatível com a remoção de nitrogênio via desamonificação;
- Não foi constatado nenhum tipo de inibição das bactérias Anammox[®] pelos agentes químicos caracterizados no efluente agroindustrial;
- O melhor tempo de detenção hidráulica testado no experimento foi o TDH de 24h.

5 Referências Bibliográficas

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo geral de enriquecer a biomassa Anammox[®] e promover a remoção de nitrogênio de efluente de abatedouro de aves, com a respectiva biomassa enriquecida, foi alcançado. Para atingir esse objetivo geral, é necessário ressaltar que houve a necessidade do reator MABR contínuo passar pelo processo de reinoculação com biomassa desamonificante de outro reator MABR, cuja presença da bactéria *Candidatus Anammoxoglobus Proprionicus* foi acusada por biologia molecular.

De igual modo, os objetivos específicos 1 e 2 foram alcançados. Nesses objetivos específicos, era esperado que tanto os reatores em batelada sequencial (MABR-BS) quanto o reator de fluxo contínuo (MABR) fossem competentes no enriquecimento da biomassa Anammox[®], com alimentação sintética.

Os objetivos específicos 3 e 4, que visavam avaliar o comportamento dos reatores frente às mudanças de CVN, foram igualmente atingidos. Durante o processo de enriquecimento da biomassa, houve dificuldades para estabilizar os reatores Anammox[®], porém, essa etapa foi essencial a fim de demonstrar a resiliência e capacidade de recuperação da atividade, por meio do controle dos parâmetros inibitórios. O comportamento mais estável, visto no reator, ao avaliar as diferentes CVN aplicadas, foi ao alimentar o reator MABR contínuo, com efluente real de abatedouro avícola (fase pós-enriquecimento).

Houve diferenças significativas entre a start-up dos dois modelos de reatores operados. Os reatores em batelada (MABR-BS) tiveram *start-up* a partir de lodo bruto, visualizado nos primeiros 90 dias. O reator de fluxo contínuo foi reinoculado em 2 momentos do experimento, com biomassa já enriquecida, e apresentou altas taxas de remoção de N, a partir de 7 dias de operação na nova condição experimental.

6 PERSPECTIVAS PARA FUTURAS PESQUISAS

Ficam lacunas para futuras investigações, a saber:

- Estudar a remoção de nitrogênio em reatores MABR em batelada sequencial em maior escala;
- Explorar os modelos de reatores aqui abordados com efluentes de abatedouros de bovinos, suínos e peixes, abrangendo, assim, as demais indústrias abatedouras da região do Oeste do Paraná;
- Ampliar o tempo de operação com as condições operacionais do reator contínuo MABR de 12h. Os 24 dias testados, na presente pesquisa, não foram suficientes para obter um comportamento homogêneo, indicando o potencial do reator de se mostrar estável com maior tempo de operação;
- Explorar condições de temperatura inferiores aos 32°C (fixados no presente estudo), bem como avaliar a possibilidade de conduzir a operação dos reatores MABR em temperatura ambiente, abordando a vantagem econômica de não se utilizar aquecimento artificial.