



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Presidente Prudente

CARLA ELOÍSA DINIZ DOS SANTOS
KIEMI DE BRITO MURATA

**REMOÇÃO DE N-AMONÍACAL EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE
OXIGÊNIO DISSOLVIDO A PARTIR DO EFLUENTE DE UM FRIGORÍFICO
BOVINO**

Presidente Prudente
2011

CARLA ELOÍSA DINIZ DOS SANTOS
KIEMI DE BRITO MURATA

**REMOÇÃO DE N-AMONÍACAL EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE
OXIGÊNIO DISSOLVIDO A PARTIR DO EFLUENTE DE UM FRIGORÍFICO
BOVINO**

Trabalho de Graduação apresentado à Faculdade de
Ciências e Tecnologia da UNESP Presidente Prudente,
como parte do requisito para graduação no curso de
Engenharia Ambiental
Orientador: Prof. Dr. Francisco Javier Cuba Teran

Presidente Prudente
2011

S234r Santos, Carla Eloísa Diniz dos Santos.
Remoção de N-amoniaco em baixas concentrações de oxigênio dissolvido a partir do efluente de frigorífico bovino/ Carla Eloísa Diniz dos Santos, Kiemi de Brito Murata. - Presidente Prudente : [s.n], 2011
85 f. : il.

Orientador: Francisco Javier Cuba Teran
Trabalho de conclusão (bacharelado – Engenharia Ambiental) -
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

1. Anammox. 2. Nitrogênio Amoniacal. 3. Reator Biológico. I. Teran, Francisco Javier Cuba. II. Murata, Kiemi de Brito. III. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. IV. Remoção de N-amoniaco em baixas concentrações de oxigênio dissolvido a partir do efluente de frigorífico bovino.

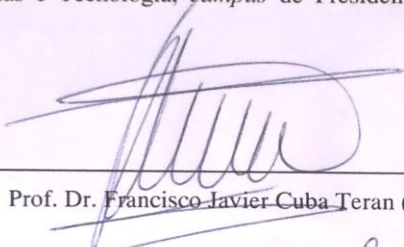
TERMO DE APROVAÇÃO

II

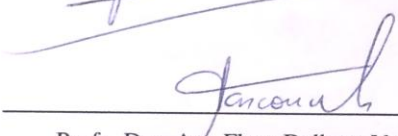
KIEMI DE BRITO MURATA e CARLA ELOÍSA DINIZ DOS SANTOS

**"REMOÇÃO DE N-AMONÍACAL EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO
DISSOLVIDO A PARTIR DO EFLUENTE DE UM FRIGORÍFICO BOVINO"**

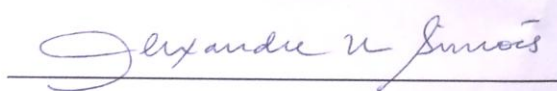
Trabalho de graduação aprovado como um dos requisitos parciais para a obtenção do título de Engenheiro Ambiental da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – Faculdade de Ciências e Tecnologia, *campus* de Presidente Prudente – SP, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Francisco Javier Cuba Teran (Orientador)



Profa. Dra. Ana Flora Dalbeto Vasconcelos



Prof. Ms. Alexandre Simões

Presidente Prudente, 21 de novembro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente às nossas mães pela educação, pelo carinho e acima de tudo, pela presença marcante em toda a nossa graduação, de forma a sempre nos encorajar a nunca desistirmos de nossos sonhos.

Aos grandes amigos que fizemos durante a faculdade, pessoas que marcaram presença em todos os momentos importantes por nós vivenciados, incentivaram mesmo nos momentos mais difíceis e acompanharam nas alegrias, e por isso, conquistaram nosso afeto, consideração e admiração. Nossa vida universitária não teria a mesma graça sem a companhia de todos vocês.

Em especial, agradecemos a Tati, Carina, Fran, Renata, Mariana e Tiago Osório, por muitas vezes irem tomar conta do nosso reator quando não tínhamos tempo para isso, e também Natália e Leonardo pela ajuda nas análises em laboratório.

Ao Professor Dr Francisco Teran por estar presente em nossa vida acadêmica nos últimos três anos, pelo apoio à execução de nossa pesquisa e pelas cobranças, que sem dúvidas, foram essenciais para a formação de nossas capacidades profissionais daqui em diante.

Aos técnicos de laboratório (Paulo Ruiz, Marilsa e Gabriel) pelo apoio na execução das análises laboratoriais deste trabalho. Agradecemos também aos professores doutores Neri Alves e Aldo Job que, juntamente com seus orientandos de doutorado (Rafael e Deuber), contribuíram para incrementar o leque de análises da pesquisa, através do auxílio na execução dos testes térmicos e na microscopia eletrônica de varredura.

A Márcia funcionária da Estação de Tratamento de Esgotos Limoeiro da SABESB, pela ajuda e apoio prestados.

Também não podemos esquecer a nossa instituição, esse campus que depois de tanto tempo de graduação já nos familiarizamos.

À banca examinadora, Ana Flora Vasconcelos e Alexandre Simões.

*Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
(Fernando Pessoa)*

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema biológico de remoção de nitrogênio amoniacal operando em baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Para isto, foi construído um reator operando em escoamento ascendente, no qual o afluente é introduzido pela parte inferior, atravessando a camada de material suporte até o topo. Foi utilizado como inóculo o lodo de uma lagoa de estabilização de um abatedouro bovino localizado no município de Presidente Prudente/SP. Inicialmente, o sistema operou em regimes de bateladas e depois, em regime de fluxo contínuo com diferentes TDH. Para a alimentação do reator nas fases iniciais adotou-se um meio de cultivo sintético, descrito por Martins (2007), com o intuito de estabelecer as condições ideais para o desenvolvimento das bactérias *Anammox* e posteriormente, submeteu-se o sistema ao bombeamento de efluente bruto de um frigorífico. Os resultados obtidos mostraram uma significativa eficiência de remoção de N-amoniacal, principalmente na fase sem recirculação de meio de cultura, com média de 71% de remoção, com a proporção de remoção de N-NH_4^+ : N-NO_2^- média de 1:1,69. Em relação ao período de operação com efluente do frigorífico, não foram obtidos resultados satisfatórios, sem a confirmação de proliferação de bactérias *Anammox* no sistema, devido a grande presença de matéria orgânica no mesmo confirmada pelas altas concentrações de DQO.

Palavras-chave: *Anammox*, nitrogênio amoniacal, reator biológico.

ABSTRACT

This work aimed to develop a biological system for removal of ammonia nitrogen operating at low concentrations of dissolved oxygen. Thus, a biological upflow vertical reactor was built, in which the affluent pass through the support media until the top. Sludge from an anaerobic stabilization pond of a slaughterhouse unit in the city of Presidente Prudente - SP was used as inoculum. Initially the system operated in batch and afterwards in a continuous flow with different HRT. For feeding the reactor, an initial phases was adopted a synthetic culture media, described by Martins (2007), in order to establish the ideal conditions for the development of *Anammox* bacteria and subsequently, submitted to the system a sludge effluent of slaughterhouse. The results showed significant removal efficiency of N-NH_4^+ , especially in the phase without recirculation of culture media, with an average of 71% removal, with the proportion of removal of $\text{N-NH}_4^+:\text{N-NO}_2^-$ average 1: 1,69. For the period of operation with effluent from the slaughterhouse, were not obtained satisfactory results, without confirmation of the proliferation of *Anammox* bacteria in the system, due to the high presences of organic matter in the same confirmed by high concentrations of COD.

Keywords: *Anammox*, ammonia nitrogen, biological reactor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática dos conversões envolvidas no ciclo biológico do nitrogênio.....	22
Figura 2 - Espécies de bactérias autotróficas capazes de oxidar amônia e nitrito.....	23
Figura 3 – Esquema representativo do ciclo biológico do nitrogênio.	27
Figura 4 – Reações do processo SHARON (nitrificação parcial) e suas vantagens energéticas em relação à nitrificação convencional.	28
Figura 5 – Representação esquemática da aplicação de um sistema SHARON como pré-tratamento de um reator <i>Anammox</i>	29
Figura 6 – Fluxograma descritivo do processo industrial de abate de bovinos, considerando duas linhas de produção de efluente.	34
Figura 7 – Esquema ilustrativo do reator.....	37
Figura 8 – Fotografia do lodo usado como inóculo do reator.	38
Figura 9 – Fotografia da coleta do lodo flotado sobre a superfície da lagoa anaeróbia.	39
Figura 10 – Fotografia do termostato digital.	40
Figura 11 – Analisador termogravimétrico TG 209.	44
Figura 12 – Fotografia do Microscópio Eletrônico de Varredura	45
Figura 13 - Fotografia do sistema experimental operando em regime de bateladas.	47
Figura 14 – Nova estruturação do sistema, marcada pela introdução de um reservatório para receber o líquido submetido ao tratamento no reator.	48
Figura 15 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal durante as oito bateladas realizadas e o comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido.	52
Figura 16 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante as oito bateladas realizadas.	52
Figura 17 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante as oito bateladas realizadas.	53
Figura 18 – Perfil do nitrogênio total nas bateladas realizadas.	54
Figura 19 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal e o comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.	55
Figura 20 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.	55

Figura 21 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.....	56
Figura 22 – Perfil do nitrogênio total na fase sem recirculação.	57
Figura 23 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal e comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido durante os 26 dias de operação com efluente industrial.....	58
Figura 24 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante os 26 dias de operação com efluente industrial.....	59
Figura 25 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante os 26 dias de operação com efluente industrial.....	59
Figura 26 - Perfil do nitrogênio total na fase de operação com efluente industrial.....	60
Figura 27 – Variação da DQO afluente, efluente e do oxigênio dissolvido durante a Fase 1..	61
Figura 28 – Variação da concentração de DQO no afluente, efluente e eficiência de remoção de DQO durante a fase 3.....	62
Figura 29 – Perfil das concentrações de OD durante todo o período de operação do reator. ..	63
Figura 30 – Variação do pH no afluente e efluente durante todo o período experimental.....	64
Figura 31 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal e da sua eficiência de remoção durante todo o período experimental.....	65
Figura 32 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante todo o período experimental.	65
Figura 33 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante todo o período experimental.	66
Figura 34 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio total e da sua eficiência de remoção durante todo o período experimental.....	68
Figura 35 – Análise de tratamento térmico com o pedrisco limpo.....	69
Figura 36 – Análise do tratamento térmico com o pedrisco retirado do reator enquanto este operava na Fase 1.	70
Figura 37 - Análise do tratamento térmico com o pedrisco retirado do reator enquanto este operava a Fase 2.	70
Figura 38 - Análise do tratamento térmico com pedrisco retirado do reator ao final da Fase 3.	71
Figura 39 – Micrografia eletrônica de pedrisco limpo. Aumento: 50x.	73
Figura 40 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco. Aumento: 2000x.	73
Figura 41 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco. Aumento: 5000x.	74

Figura 42 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco com possível presença de cocos. Aumento: 5000x.	74
Figura 43 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco com possível presença de cocos. Aumento: 10000x.	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Padrões de qualidade da água com relação aos compostos nitrogenados em um corpo d'água classe II.	20
Tabela 2 – Impactos ambientais relacionados ao excesso de NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- em corpos d'água.	21
Tabela 3 - Reagentes usados para preparar as soluções envolvidas na determinação da DQO, Nitrogênio Amoniacal, Nitrito, Nitrato, DBO e nas análises de MEV.	36
Tabela 4 – Características físicas do reator.	37
Tabela 5 – Características físico-químicas médias do efluente bruto disposto na segunda lagoa de estabilização do batedouro de bovinos.	39
Tabela 6 – Meio de Cultivo sintético adotado para a alimentação inicial do reator.....	40
Tabela 7 – Componentes da Solução Traço I.	41
Tabela 8 – Componentes da Solução Traço II.....	41
Tabela 9 – Reagentes usados no preparo do meio de cultivo.	42
Tabela 10 – Parâmetros analisados e métodos utilizados no experimento.....	43
Tabela 11 – Informações sobre as bateladas.	47
Tabela 12 – Vazão e tempo de detenção hidráulica medido nas condições operacionais Fase 1, Fase 2 e Fase 3.....	51
Tabela 13 - Valores de Remoção de nitrogênio nas formas de N-NH_4^+ e de N-NO_2^- e proporção de remoção.	57
Tabela 14 - Valores de Remoção de nitrogênio nas formas de N-NH_4^+ e de N-NO_2^- e proporção de remoção.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Anammox</i>	Anaerobic Ammonium Oxidation
°C	Graus Celsius
CANON	Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EPA	US Environmental Protection Agency
FCT	Faculdade de Ciências e Tecnologia
HDMS	Hexametildisilazano
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NH ₃	Nitrogênio da forma de amônia
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio da forma de íon amônio
N-NO ₂ ⁻	Nitrogênio da forma de nitrito
N-NO ₃ ⁻	Nitrogênio da forma de nitrato
OD	Oxigênio Dissolvido
OLAND	Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification
PVC	Cloreto de Polivinila
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
SHARON	Single Reactor System for High Ammonia Removal Over Nitrite
TG	Termogravimetria
UNESP	Universidade Estadual Paulista

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Geral.....	17
2.2 Específicos.....	17
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Parâmetros de Qualidade dos Recursos Hídricos e os Impactos Gerados pelos Compostos Nitrogenados	18
3.3 O Ciclo do Nitrogênio: Visão Geral.....	21
3.4 Processos de Remoção de Nitrogênio de Águas Residuárias	22
3.4.1 <i>Nitrificação e Desnitrificação</i>	22
3.4.2 <i>O Processo Anammox</i>	25
3.4.3 <i>O Processo SHARON.....</i>	28
3.4.4 <i>Os Processos CANON e OLAND.....</i>	29
3.4.5 <i>Desnitrificação Curta</i>	30
3.5 Pós-Tratamento de Efluentes em Reatores de Leito Fixo	31
3.6 Efluentes Gerados em Indústrias de Abate de Bovinos.....	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 Equipamentos e Vidrarias Envolvidas.....	35
4.2 Reagentes utilizados.....	35
4.3 O Reator	37
4.4 Material Suporte	38
4.5 Inóculo.....	38
4.6 Controle da Temperatura.....	40
4.7 Meio de Cultivo	40
4.8 Análises Realizadas	42
4.9 Monitoramento do Reator	46
4.9.1 <i>Fase 1 (Inoculação e Partida)</i>	46
4.9.2 <i>Fase 2 (Operação em regime de fluxo contínuo).....</i>	48
4.9.3 <i>Fase 3 (Efluente Bruto).....</i>	49
4.10 Cálculo do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH).....	49
4.11 Cálculo da eficiência de remoção	50

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
5.1 Tempo de Detenção Hidráulica	51
5.2 Variação nas Concentrações de Compostos Nitrogenados	51
5.2.1 Fase 1	51
5.2.2 Fase 2	54
5.2.3 Fase 3	58
5.3 DQO	61
5.4 Oxigênio Dissolvido e pH	62
5.5 Remoção de Nitrogênio amoniacal – Visão Geral	64
5.6 Análises Térmicas	69
5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura	72
6. CONCLUSÕES	76
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO

A temática ambiental tem se destacado em nossa sociedade face ao alto impacto que as mais distintas atividades humanas têm causado sobre o ambiente, trazendo como consequência a exaustão de muitos recursos naturais (SCHIERHOLT NETO, 2007). O desenvolvimento da sociedade tem alterado os produtos, as formas de produção e os resíduos gerados, este ritmo está trazendo passivos ambientais que devem receber atenção, pois graves problemas ambientais podem ser gerados.

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o ano de 2010 registrou o abate de 29,265 milhões de cabeças de bovinos em frigoríficos; representando uma alta de 4,3% em relação a 2009. E no primeiro trimestre de 2011, foram abatidas 7,097 milhões de cabeças de bovinos, representando um aumento de 0,2% em relação ao mesmo período de 2010 (IBGE, 2011).

Para tentar diminuir os impactos ambientais sobre o meio ambiente, muitas técnicas de tratamento visando à remoção de matéria orgânica da água residuária deste tipo de indústria foram desenvolvidas e implementadas. Porém, a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) não recebeu a mesma atenção, se tornando uma área carente de informações e técnicas viáveis para sua implantação.

O lançamento de efluentes contendo concentrações elevadas de nutrientes pode causar vários danos ao ambiente aquático e à saúde humana. No aspecto ambiental, pode-se levar à eutrofização dos corpos d'água, favorecendo o crescimento de fitoplâncton e de macrófitas aquáticas que causam a depleção do oxigênio dissolvido do corpo receptor, mudança na qualidade das águas, alteração da diversidade de espécies, mudanças de pH, floração de cianobactérias, produção de toxinas, entre outros (EPA, 1993; CALIJURI *et al.*, 2006). Quando se trata da saúde humana, a concentração elevada de nitrato nas águas de abastecimento está associada a doenças como metahemoglobinemia (síndrome do bebê azul) e a formação de substâncias de poder mutagênico e carcinogênico no organismo (EPA, 1993; ALMASRI, 2007).

Diante da necessidade de cumprir normas ambientais e melhorar a qualidade dos recursos hídricos disponíveis, várias técnicas de tratamento terciário (degradação de fósforo e nitrogênio) vêm surgindo. No entanto, boa parte destes pós-tratamentos gera custos adicionais de implantação e operação do sistema, razão pela qual há grande interesse no desenvolvimento de tecnologias que minimizem esses custos (NOCKO, 2008). Dentre as

técnicas de pós-tratamento, o processo *Anammox* (Oxidação Anaeróbia de Amônia) mostra-se como uma alternativa para remoção de nitrogênio em apenas uma etapa; economicamente viável e sustentável em comparação com o processo convencional de nitrificação/desnitrificação.

Sendo assim, este trabalho buscou o enriquecimento de uma cultura microbiana *Anammox* através da operação um reator biológico anaeróbio para remoção de nitrogênio amoniacal.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Desenvolver um sistema biológico de remoção de nitrogênio amoniacal operando em baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

2.2 Específicos

- Construção e operação de um reator, sendo este do tipo biológico, de leito fixo e fluxo ascendente;
- Enriquecimento de microorganismos anaeróbios oxidadores de amônia (*Anammox*) para efetuar a remoção de nitrogênio amoniacal em águas residuárias geradas pela indústria de abate de bovinos;
- Monitoramento do reator através de análises físico-químicas, e a otimização da sua operação, buscando a melhor eficiência de remoção de N-amoniacal sob baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Parâmetros de Qualidade dos Recursos Hídricos e os Impactos Gerados pelos Compostos Nitrogenados

A lei federal nº 9433/97, que institui a Política Nacional dos Recursos Hídricos e o Sistema Nacional de Gerenciamento dos Recursos Hídricos, estabelece dentre outros aspectos que:

- I - a água é um bem de domínio público;
- II - a água é um recurso natural limitado, dotado de valor econômico;
- III- a gestão dos recursos hídricos deve sempre proporcionar o uso múltiplo das águas.

Assim, pode-se afirmar que a água é um bem que deve estar disponível a todos e, por se tratar de um recurso de disponibilidade finita, deve atender as diversas atividades humanas de maneira racional e eficiente; buscando-se sempre a sustentabilidade. Porém, é cada vez pior a situação da água disponível no planeta já que, segundo Merten & Minella (2002), sua qualidade vem sendo comprometida em decorrência da poluição causada por diferentes fontes, tais como: efluentes domésticos, efluentes industriais e o deflúvio superficial urbano e agrícola; sendo que os esgotos - industriais e domésticos - estão entre as principais fontes de poluição dos corpos d'água. Estudos de Borges (2003) mostram que apenas 0,78% da água disponível no planeta apresenta qualidade ideal para ser utilizada no abastecimento público.

Quando se utiliza o termo "qualidade da água", é necessário compreender que esse não se refere, necessariamente, a um estado de pureza, mas simplesmente às características químicas (dureza, acidez, alcalinidade, presença de oxigênio dissolvido e sais), físicas (estado, densidade, calor específico, cor, sabor, turbidez, efeito da temperatura) e biológicas (presença de organismos que podem ser maléficos ou benéficos à saúde) e que com base nessas características, são estipuladas diferentes finalidades para a água. Assim, a Política Normativa Nacional de Uso da Água, como consta na Resolução CONAMA n.º 357, de 17 de março de 2005 (alterada parcialmente e complementada pela Resolução CONAMA n.º 430, de 13 de maio de 2011), procurou estabelecer parâmetros que definem limites aceitáveis de elementos estranhos, considerando os diferentes usos (MERTEN, G.H.; MINELLA, J.P., 2002).

A presença de nitrogênio e fósforo em águas residuárias é inevitável; porém isso se torna um problema quando estes componentes atingem os corpos d'água em concentrações acima do permitido pela legislação ambiental vigente. Segundo von Sperling (2005), no meio aquático o nitrogênio pode ser encontrado nas seguintes formas: nitrogênio molecular (N₂)

que escapa para a atmosfera; nitrogênio orgânico (dissolvido e em suspensão); amônia livre (NH_3) e ionizada (NH_4^+); nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). Sob o ponto de vista da caracterização de águas residuárias brutas e tratadas, os compostos que merecem maior atenção são a amônia, o nitrito e o nitrato.

A amônia existe em solução aquosa, tanto na forma de íon (NH_4^+) quanto na forma livre (NH_3); sendo que esta relação é altamente dependente do pH e da temperatura do meio. Em sua forma gasosa, a amônia é altamente tóxica para os peixes, podendo, em concentrações acima de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ causar a morte de certas espécies (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991; HAGOPIAN & RILEY, 1998). Além disso, apresenta uma alta demanda por oxigênio dissolvido ($4,6 \text{ mg}$ de O_2 para cada miligrama de NH_4^+) quando é oxidada biologicamente à nitrato; o que normalmente, tem um significado negativo para a vida aquática (EPA, 1975; BITTON, 1994). O nitrito (NO_2^-) e o nitrato (NO_3^-) estão envolvidos à questão da patogenicidade em seres vivos.

No Brasil, a Resolução CONAMA N° 357/2005, que estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, fixa o limite máximo de emissão apenas para o nitrogênio amoniacal, por ser esta a forma mais nociva ao meio ambiente, em 20 mg de $\text{N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$. Entretanto, em termos de padrões de lançamento de efluentes, não houve nesta atualização da legislação a preocupação em se limitar a descarga de outras formas de nitrogênio, como o nitrato e o nitrito, que também oferecem riscos de contaminação ambiental (PHILIPS, 2008). Por outro lado, deve-se ressaltar que esta resolução apresenta valores permissíveis de concentração de nitrito e nitrato, para padrões de qualidade da água, de acordo com o enquadramento em classes dos corpos hídricos.

Já para fins de reuso, dependendo do destino, a qualidade da água poderá ser baseada nos Padrões Nacionais de Potabilidade. Estes são indicados pelo Ministério da Saúde através da Portaria n° 518 de 25 de maio de 2004, a qual determina concentrações máximas de 10 mg.L^{-1} ; $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ para N-NO_3^- e N-NO_2^- , respectivamente. No caso do nitrogênio amoniacal, a concentração é fixada de acordo com o pH sendo que, para pH igual ou abaixo de 7,5 a concentração máxima permitida é $3,7 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ (PHILIPS, 2008).

O Estado de São Paulo por meio do Decreto n° 8468, de 8 de setembro de 1976, que dispõe sobre a prevenção e controle da poluição das águas, preconiza em seu artigo 18, a definição dos padrões de emissão para os efluentes de qualquer fonte poluidora lançados, direta ou indiretamente, nos corpos d'água. Os valores apresentados são: 10 mg.L^{-1} para nitrato, 1 mg.L^{-1} para nitrito e $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ para a amônia. Além de obedecer aos limites estabelecidos nesse artigo, os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características

em desacordo com o enquadramento do mesmo, na classificação das águas (SILVA, 2009). A Tabela 1 traz os padrões de qualidade para o nitrogênio em água doce classe 2, de acordo com as especificações da Resolução CONAMA nº 357/2005.

Tabela 1 – Padrões de qualidade da água com relação aos compostos nitrogenados em um corpo d'água classe II.

Parâmetro	Valor Máximo
Nitrato	10,0 mg.L ⁻¹
Nitrito	1,0 mg.L ⁻¹
Nitrogênio Amoniacal Total	3,7 mg.L ⁻¹ para pH ≤ 7,5
	2,0 mg.L ⁻¹ para 7,5 < pH ≤ 8,0
	1,0 mg.L ⁻¹ para 8,0 < pH ≤ 8,5
	0,5 mg.L ⁻¹ para pH > 8,5

Fonte: Resolução CONAMA nº 357, 2005.

Existe também o problema de saúde pública ligado ao saneamento dos domicílios, uma vez que os reservatórios utilizados para abastecimento público estão sujeitos à proliferação excessiva de cianobactérias, devido à alta concentração de compostos nitrogenados provenientes da falta de tratamento adequado dos despejos domiciliares e industriais. Algumas dessas algas podem sintetizar cianotoxinas tais como: as hepatotoxinas (microcistina e nodularina), as neurotoxinas (anatoxina-a, anatoxina-a(s), homoanatoxina-a e saxitoxina) e uma dermatoxina (lingbiatoxina) (CODD *et al.*, 2005). Estas cianotoxinas são perigosas porque, quando presentes na água utilizada para abastecimento, pesca ou lazer, podem atingir as populações humanas e provocar efeitos adversos como gastroenterite, hepato-enterite e outras doenças do fígado e rim, câncer, irritações na pele, alergias, conjuntivite, problemas com a visão, problemas respiratórios, asfixia, convulsões e morte, dependendo do tipo da toxina, da concentração e da via de contato (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1999).

Outro problema já citado e que pode ser evitado através da remoção de compostos nitrogenados nas águas residuárias é a metahemoglobinemia - também conhecida como meta-Hb – doença caracterizada pela conversão da hemoglobina em metahemoglobina em grande quantidade, a qual é incapaz de se ligar ao oxigênio e transportá-lo aos tecidos, causando assim, a má oxigenação das células, o que pode levar à morte dos pacientes.

Em síntese, os problemas ambientais relacionados aos compostos nitrogenados abordados estão listados na tabela abaixo.

Tabela 2 – Impactos ambientais relacionados ao excesso de NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- em corpos d'água.

Íon	Problema Ambiental
NH_4^+	Crescimento exagerado de plantas aquáticas Esgotamento de oxigênio dissolvido Elemento tóxico
NO_2^-	Crescimento exagerado de plantas aquáticas Esgotamento de oxigênio dissolvido Elemento tóxico
NO_3^-	Crescimento exagerado de plantas aquáticas Metahemoglobinemia Elemento tóxico

Fonte: Gerardi, M. H., 2002.

Vale ressaltar também que, como afirma von Sperling (2005), a determinação da forma predominante do nitrogênio em um corpo d'água pode fornecer informações sobre o estágio da poluição, ou seja, uma poluição mais recente está associada ao nitrogênio na forma orgânica ou de amônia, enquanto que uma poluição mais remota está associada ao nitrogênio na forma de nitrato.

3.3 O Ciclo do Nitrogênio: Visão Geral

Segundo Hagopian & Riley (1998), o nitrogênio é um dos mais importantes elementos para todos os seres vivos e é capaz de assumir um grande número de estados de oxidação, podendo assim, existir em muitos compostos. Boa parte do nitrogênio global encontra-se na forma de nitrogênio gasoso (N_2), o qual não está disponível para a biota terrestre. O suprimento e a ciclagem de suas formas disponíveis dependem da decomposição biológica do nitrogênio presente em seus componentes acumulados na biota; esta decomposição ocorre pelos processos de fixação, amonificação, nitrificação e desnitrificação (CHAZAL & LENS, 2000).

A Figura 1 sintetiza as interconversões biológicas do nitrogênio, onde, inicialmente, o nitrogênio gasoso do ar é reduzido a amônia por bactérias presentes no solo ou na água. A amônia formada na etapa anterior ou produzida da decomposição de compostos nitrogenados orgânicos pode ser assimilada pelos organismos vivos ou então, ser oxidada até nitrato pela ação de bactérias nitrificantes. O nitrato, por sua vez, pode ser convertido a óxido nítrico e nitrogênio gasoso (processo de desnitrificação), voltando assim, à atmosfera (BROCK & MANDIGAN, 1991).

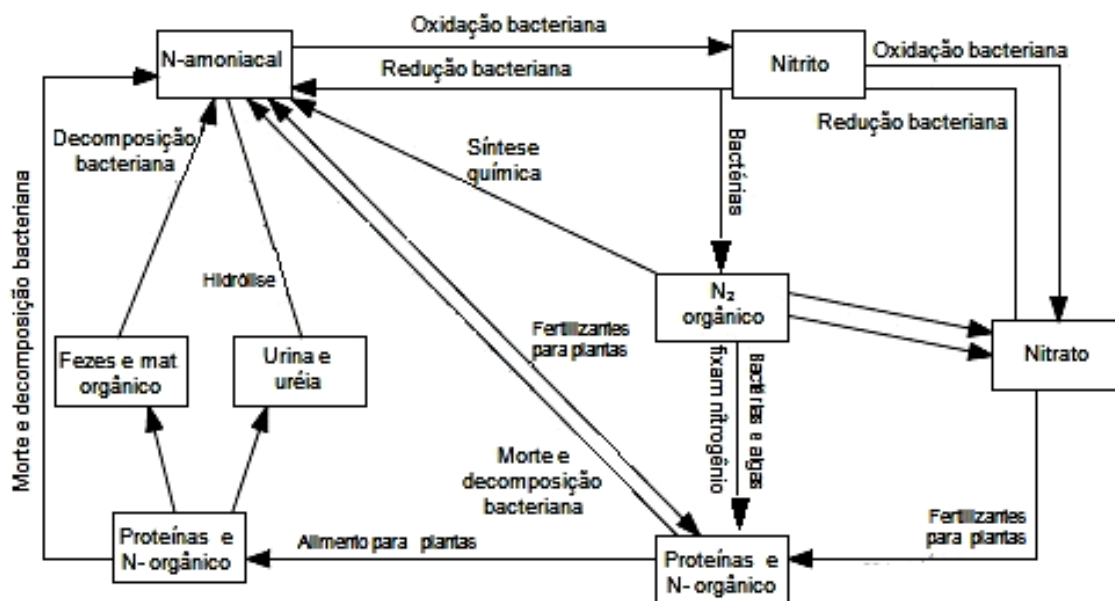


Figura 1 – Representação esquemática das conversões envolvidas no ciclo biológico do nitrogênio.

Fonte: METCALF & EDDY, 2003.

O ciclo ilustrado acima é muito mais complexo do que se imagina, devido as numerosas interações que podem ocorrer entre as comunidades microbianas envolvidas e pelas interferências entre as rotas metabólicas. É por isso que novos estudos estão sendo desenvolvidos com o intuito de compreender mais a fundo o comportamento do nitrogênio na biosfera e assim, auxiliar o desenvolvimento de novos processos para sua remoção.

3.4 Processos de Remoção de Nitrogênio de Águas Residuárias

Para a remoção de nitrogênio de efluentes de indústrias e em plantas de tratamento de esgotos, podem ser utilizados tratamentos físico-químicos ou tratamentos biológicos. Os tratamentos químicos de eliminação de amônio por precipitação com amônio-fosfato de magnésio ou de NH_3 por “stripping” são eficientes, mas em relação aos processos de tratamento biológicos são mais onerosos (FUX et al., 2002).

Em seguida, são descritos alguns processos de remoção biológica de nitrogênio, sendo o primeiro a via convencional e os demais, processos alternativos.

3.4.1 Nitrificação e Desnitrificação

Entre os processos conhecidos para a remoção de compostos nitrogenados, o biológico é o que melhor se adapta à realidade econômica e ambiental de muitas indústrias (EPA, 2002

apud KHIN & ANNACHHATRE, 2004), por ser mais seguro e barato. Este método baseia-se nos processos de nitrificação e desnitrificação.

A nitrificação é um processo que ocorre em vários ambientes naturais, como por exemplo, no solo, onde bactérias denominadas de nitrificantes oxidam o nitrogênio amoniacal até nitrato (PHILIPS, 2008).

Em sistemas convencionais de tratamento biológico, bactérias aeróbias quimioautotróficas são responsáveis pelo processo de nitrificação, realizando a oxidação do nitrogênio amoniacal ou nitrito, com a utilização do $\text{CO}_{2(g)}$ como fonte de carbono.

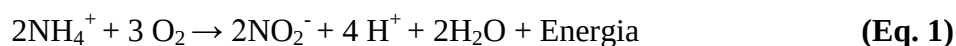
De acordo com METCALF & EDDY (2003), na primeira etapa da nitrificação as bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosorobrio* participam da etapa de nitrificação (oxidação de N-NH_4^+ a N-NO_2^-). E durante a segunda etapa da nitrificação, também chamada de nitratação (oxidação de N-NO_2^- a N-NO_3^-), são envolvidos os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitroeystis*. As espécies de cada gênero podem ser exemplificadas através da Figura 2.

Nome das espécies oxidadoras de amônia		Nome das espécies oxidadoras de nitrito	
<i>Nitrosococcus</i>	<i>N. halophilus</i> <i>N. mobilis</i> <i>N. nitrosus</i> <i>N. oceani</i>	<i>Nitrobacter</i>	<i>N. alkalicus</i> <i>N. hamburgensis</i> <i>N. vulgaris</i> <i>N. winogradsky</i>
<i>Nitrosospira</i>	<i>N. briensis</i> <i>N. multiformis</i> <i>N. tenuis</i>	<i>Nitrospira</i>	<i>N. marina</i> <i>N. moscoviensis</i> <i>Candidatus N. efluvi</i>
<i>Nitrosomonas</i>	<i>N. aestuarii</i> <i>N. communis</i> <i>N. cryotolerans</i> <i>N. europaea</i> <i>N. eutropha</i> <i>N. halophila</i> <i>N. marina</i> <i>N. nitrosa</i> <i>N. oligotropha</i> <i>N. ureae</i>	<i>Nitrospina</i>	<i>N. gracilis</i>
		<i>Nitrococcus</i>	<i>N. mobilis</i>

Figura 2 - Espécies de bactérias autotróficas capazes de oxidar amônia e nitrito.

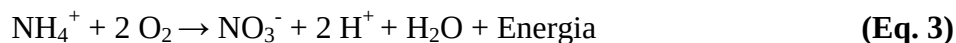
Fonte: Adaptado de VANPARYS, 2006.

Dessa forma, a nitrificação é descrita de acordo com as seguintes equações (VON SPERLING, 2002):





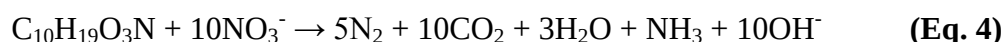
Equação Geral



Nota-se, através das equações acima, a alta demanda de oxigênio para a oxidação do nitrogênio amoniacal. Além disso, a Equação 1 mostra que tal processo gera íons H^+ que podem diminuir o pH do sistema caso o efluente não contenha alcalinidade em quantidade suficiente para tamponar a ação destes íons; neste caso é imprescindível a adição de bicarbonato ao sistema, o qual também serve como fonte de carbono para as bactérias quimioautotróficas envolvidas.

A conversão biológica de compostos oxidados de nitrogênio – como nitrito e nitrato – em compostos mais reduzidos – como óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e gás nitrogênio (N_2) – é denominada desnitrificação. Em processos convencionais de tratamento de águas residuárias, a desnitrificação é processada por bactérias heterotróficas facultativas, incluindo os gêneros *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, *Vibrio*, *halobacterium* e *Methanomonas* (METCALF & EDDY, 2003).

A desnitrificação anóxica, ou seja, realizada sem oxigênio, é responsável pela conversão de NO_3^- ou NO_2^- a N_2 . Segundo Metcalf & Eddy (2003), a equação de desnitrificação do efluente a partir de fontes de nitrato é descrita pela Equação 4 e $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}$ representa a fonte de carbono orgânico em águas residuárias pela US EPA (1993):



A presença de matéria orgânica é essencial para que o processo de desnitrificação ocorra, já que esta funciona como doadora de elétrons. Ela pode ser suprida através de compostos sintéticos adicionados ao meio (estequiometricamente, 0,83 moles de metanol são necessários para desnitrificar um mol de NO_3^-), ou pela matéria orgânica presente no próprio resíduo a ser tratado (SCHIERHOLT NETO, 2007). O oxigênio pode causar inibição na desnitrificação pela repressão das enzimas redutoras de nitrato. Contudo, a desnitrificação pode ocorrer na presença de baixas concentrações de oxigênio dissolvido ($0,5 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$).

Isso porque a concentração de oxigênio no interior do floco ou biofilme pode ser menor que no meio líquido, promovendo a desnitrificação nesses locais (METCALF & EDDY, 2003).

De acordo com Van Haandel & Marais (1999), entre as condições ambientais mais importantes para este processo estão a temperatura e o pH. Eles relatam que a velocidade de desnitrificação é máxima para uma faixa de pH entre 7,0 e 7,5 e que para valores abaixo de 6,0 e acima de 8,5 há uma diminuição considerável na atividade desnitrificante. Observam também que a velocidade de desnitrificação aumenta com a temperatura até atingir um valor ótimo de 40°C.

3.4.2 O Processo Anammox

Tal processo foi descoberto acidentalmente na década de 90 por pesquisadores que observavam a perda de amônio em um reator desnitrificante em uma estação de tratamento de esgotos na Holanda (MULDER *et al.*, 1995). O microrganismo responsável pela transformação anaeróbia de amônio em nitrogênio gasoso era desconhecido, porém, Strous *et al.* (1999) identificaram o mesmo como uma bactéria autotrófica da ordem *Brocadiales*, filiados à *Planctomycetes* e o processo foi chamado de *Anammox* ("Anaerobic Ammonium Oxidation").

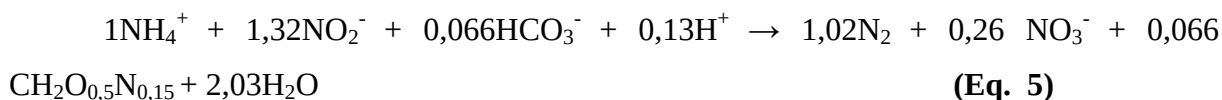
Segundo Martins (2010), as bactérias *Anammox* representam a mais recente inclusão de microrganismos atuantes no ciclo biogeoquímico do nitrogênio. Tais microrganismos obtêm sua energia para o crescimento a partir da conversão do amônio e nitrito em gás nitrogênio (N₂), sob ausência de oxigênio e utilizando uma fonte de carbono inorgânico. Neste metabolismo, ocorre a formação da hidrazina, um composto intermediário muito reativo e tóxico. Bactérias *Anammox* são caracterizadas por um arranjo celular diferenciado, marcadas pela presença de um compartimento central conhecido como anamoxossomo.

Desde que foi descoberto, o processo *Anammox* tem sido apontado como uma forma economicamente eficiente e sustentável de tratar águas residuárias ricas em nitrogênio amoniacal (JETTEN *et al.*, 1997; KARTAL *et al.*, 2010). Estudos de Kartal *et al.* (2010) mostram que com sua implementação, pode-se reduzir em até 60% os custos operacionais devido à redução no consumo de O₂ e a diminuição na produção de lodo e pode-se alcançar também, 90% de redução nas emissões de gases de efeito estufa, já que este processo não libera na atmosfera o intermediário NO₂.

Cálculos baseados nos estudos de Siegrist *et al.* (2008) mostram que o processo de tratamento de águas residuárias com microrganismos *Anammox* atuando na linha principal do

sistema representaria um consumo de 24 watt-hora por pessoa por dia ($\text{Wh.p}^{-1}.\text{d}^{-1}$), enquanto que o tratamento convencional oferece um consumo de $44 \text{ Wh.p}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Segundo Van de Graaf *et al.* (1996), a estequiometria global de um processo *Anammox* pode ser descrita da seguinte maneira:



Os organismos *Anammox*, como dito anteriormente, estão classificados no filo dos Planctomicetos, cinco dos quais foram denominados provisoriamente de *Candidatus Brocadia anammoxidans*, *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, *Candidatus Scalindua wagneri*, *Candidatus Anammoxoglobus propionicus* (KARTAL *et al.*, 2008) e *Candidatus Jettenia asiatica* (QUAN *et al.*, 2008), que se constituem em um grupo interessante de bactérias com muitas propriedades raras ou únicas. Elas apresentam morfologia de cocos com diâmetro menor que $1 \mu\text{m}$ (VAN NIFTRIK *et al.*, 2004), tempo de duplicação de aproximadamente 11 dias e são fisiologicamente distintas dos outros membros do grupo, pois são anaeróbias e quimiolitotróficas. Tais bactérias contêm uma organela ligada à sua membrana celular, a qual é responsável pela conversão do amônio e do nitrito a gás nitrogênio sob a ação da hidrazina (N_2H_4) (KARTAL *et al.*, 2010). São organismos mesófilos, ou seja, apresentam eficiência máxima de seus processos metabólicos a uma temperatura entre 20° e 42°C e em pH entre 7 e 8 (SCHIANETZ, 1999).

As bactérias *Anammox* são mais versáteis metabolicamente do que se pensava. Além do metabolismo usual, autotrófico, são capazes de crescer em meio contendo ácidos orgânicos como doadores de elétrons para redução de nitrito e nitrato (GUVEN *et al.*, 2005; KARTAL *et al.*, 2007b).

A partir de estudos do genoma do gênero *K. stuttgartiensis* (4,2 megabases) é que foram deduzidas as rotas metabólicas da oxidação anaeróbia do amônio neste tipo de microrganismo. Tais estudos apontam a existência de diversos genes específicos, dentre os quais os responsáveis pela síntese das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, comuns aos primeiros passos da desnitrificação. Porém, a ausência de genes para óxido nítrico redutase e óxido nitroso redutase (que também são enzimas da desnitrificação) sugere uma rota diferente da desnitrificação convencional. Assim, tanto o nitrito quanto o nitrato podem servir como receptores de elétrons, com amônio sendo o produto final. À medida que o organismo pode gerar tanto nitrito (do nitrato) quanto amônio (do nitrito), a consequência é que este organismo pode produzir seus próprios receptores e doadores de elétrons. Essa via metabólica

leva à produção de N_2 por um caminho diferente da desnitrificação convencional (KARTAL *et al.*, 2007a).

De acordo com Jetten *et al.* (2000), a remoção de nitrogênio via *Anammox* se mostra mais simples que aquela via nitrificação e desnitrificação convencional. Além disso, a reação *Anammox* é tão energeticamente favorável ($\Delta G^\circ = -357 \text{ kJ/mol}$) quanto, por exemplo, a reação de nitrificação ($\Delta G^\circ = -275 \text{ kJ/mol}$).

Quanto às características operacionais ótimas para o desenvolvimento desta microbiota, pode-se dizer que o pH ideal para crescimento dos microrganismos está entre 7 e 8 com o ótimo próximo de 8 e a temperatura de atuação está na faixa de 20 a 43° com o ótimo em $40 \pm 3^\circ \text{C}$ (SCHIERHOLT NETO, 2007). Ainda segundo Schierholt Neto (2007), o processo *Anammox* sofre forte inibição pela presença de oxigênio dissolvido (OD), mesmo em baixas concentrações como $2 \mu\text{mol/L}$ ($0,06 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$). Porém, a inibição cessa imediatamente após a retirada do OD do meio sendo, portanto, uma inibição reversível.

Uma desvantagem deste tipo de tratamento é que o desenvolvimento de bactérias é muito lento e, portanto, é necessário um sistema eficiente de separação de sólidos e um longo período de partida para se obter a concentração de biomassa suficiente para uma boa operação (JETTEN *et al.*, 1997).

A Figura 3 mostra um esquema do ciclo biológico do nitrogênio com o processo de nitrificação, desnitrificação, fixação do nitrogênio e *Anammox*.

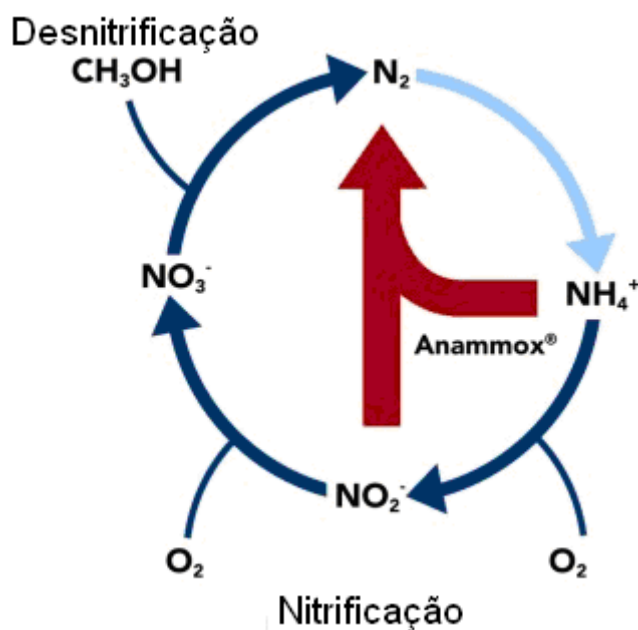


Figura 3 – Esquema representativo do ciclo biológico do nitrogênio.

Fonte: <http://www.paques.nl/?pid=46>

3.4.3 O Processo SHARON

O SHARON (Single reactor system for high Ammonia removal over Nitrite) é sistema de um único reator que remove altas concentrações de amônia, oxidando parcialmente a amônia em nitrito. Segundo Hellinga *et al.* (1998), reatores desse tipo trabalham a temperaturas na faixa de 35 a 40°C e pH entre 7 e 8; e, Van Kempen *et al.* (2001) aponta que devido a alta temperatura há um crescimento muito alto de microrganismos, portanto, o tempo de retenção pode ser limitado para um dia.

Mulder & Kempen (1997) indicam vantagens do processo SHARON, como: o baixo investimento devido à utilização de um único reator com simples operação e manutenção; baixos custos relacionados às baixas quantidades de oxigênio e carbono utilizadas; além do processo não requerer pré-tratamento e não utilizar nenhum tipo de produto químico. Essas vantagens são demonstradas na Figura 4, confirmando uma economia de 25% de oxigênio, e 40% de fonte de carbono, além de apresentar as equações do processo em questão.

Também é um processo que pode ser utilizado em associação, pois tanto o nitrogênio amoniacal como o nitrito são requeridos no processo *Anammox*. Na Figura 5 são ilustrados os processos em conjunto, sendo o SHARON considerado um pré-tratamento para o reator *Anammox*.

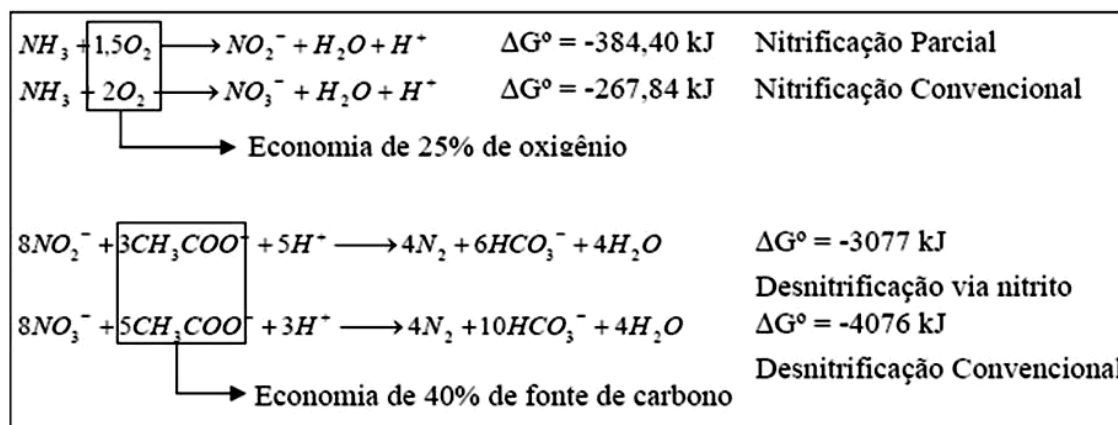


Figura 4 – Reações do processo SHARON (nitrificação parcial) e suas vantagens energéticas em relação à nitrificação convencional.

Fonte: HUNIK et al., 1993.

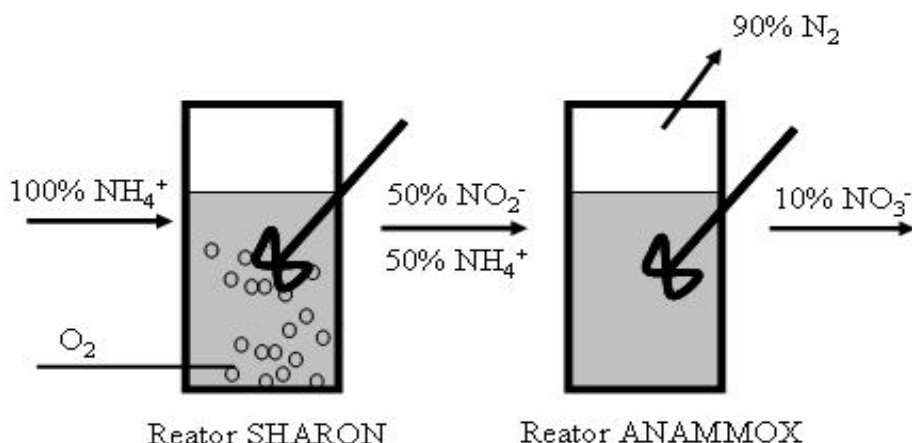


Figura 5 – Representação esquemática da aplicação de um sistema SHARON como pré-tratamento de um reator *Anammox*.

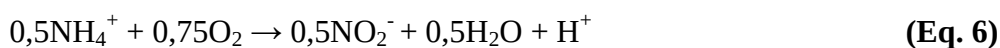
Fonte: SCHIERHOLT NETO, 2007.

3.4.4 Os Processos CANON e OLAND

Outros processos que podem ser utilizados com o intuito de remover a amônia via nitrito são o CANON e o OLAND (CANON - Completely Autotrophic Ammonium Removal Over Nitrite, OLAND - Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification), ambos removem amônio em um único reator, em um único estágio, porém, com limitação de oxigênio (VERSTRAETE E PHILIPS, (1998); SLIEKERS *et al.*, 2002).

A principal distinção entre eles, é que OLAND faz uso da atividade desnitrificante pelas bactérias aeróbias nitrificantes, e o CANON incorpora o processo *Anammox*. No processo OLAND, as bactérias do gênero *Nitrosomonas*, oxidadoras de amônia, obtêm energia a partir da combinação da nitrificação (Equação 6) e da desnitrificação autotrófica (Equação 7) (SILVA FILHO, 2009). De acordo com as seguintes reações:

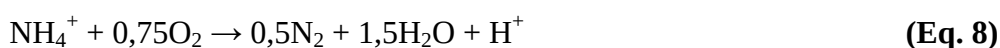
Nitrificação



Desnitrificação



Reação Global

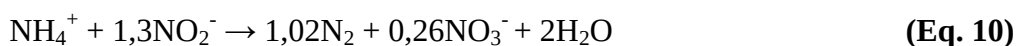


E no processo CANON é combinado nitrificação parcial (Equação 9) e processo *Anammox* (Equação 10), sempre em um único reator e muito aplicado em reatores com biofilmes (SCHMIDT *et al.*, 2003). Segundo Khin & Annachhatre (2004) em sua revisão de literatura, as equações que relatam esse sistema são:

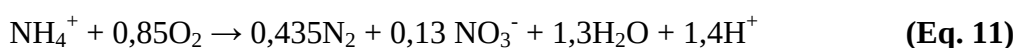
Nitrificação parcial



Anammox



Reação Global:



3.4.5 Desnitrificação Curta

Atualmente, várias pesquisas têm demonstrado a ocorrência de microrganismos nitrificantes capazes de reduzir NO_2 a N_2O ou NO , sob baixas concentrações de oxigênio dissolvido. A partir disso surgiu o conceito de desnitrificação curta ou desnitrificação via nitrito, na qual, segundo Cervantes *et al.* (2001) em um ambiente anaeróbio, o nitrogênio amoniacal pode atuar como doador de elétrons auxiliar, formando NO_2^- e este promover a desnitrificação com baixíssimas concentrações de produtos intermediários.

De acordo com o apresentado anteriormente, as bactérias nitrificantes são aeróbias e, portanto, dependem da concentração de oxigênio dissolvido para realizarem a etapa da nitrificação. Apesar disto, é apresentado o fato das bactérias oxidadoras de nitrito serem mais sensíveis a baixas concentrações de oxigênio que as oxidadoras de amônio. Com isto, vários trabalhos estão usando a limitação de oxigênio dissolvido para causar a inibição do *Nitrobacter* e promover o acúmulo de nitrito (LAANBROEK *et al.*, 1993)

As condições para se atingir uma efetiva nitrificação/desnitrificação via nitrito são (YOO *et al.*, 1999):

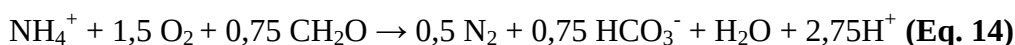
- Usar processo simultâneo e/ou alternado de nitrificação e desnitrificação em um mesmo reator;
- Manter baixas concentrações de oxigênio dissolvido durante a aeração;

- Manter organismos em contato com água residuária afluyente em condições de suprimento de oxigênio deficiente, para induzir contato com altas concentrações de amônia livre ou hidroxilamina livre;
- Elevar pH;
- Adicionar hidroxilamina ao reator;
- Manter a temperatura do reator próxima a 25°C.

Villaverde *et al.* (2000) relatam que o processo de remoção biológica de nitrogênio por via curta, pode reduzir em até 25% do oxigênio requerido na nitrificação e, aproximadamente, 40% da fonte externa de carbono na desnitrificação. Além disso, este método proporciona de 30 a 40% na redução do volume do reator e elevada taxa de desnitrificação. As equações características deste processo estão representadas abaixo, com o CH₂O atuando como doador de elétrons e como fonte de carbono.



Equação Geral:



3.5 Pós-Tratamento de Efluentes em Reatores de Leito Fixo

Conforme assegura Chernicharo (1997), um sistema anaeróbio de tratamento de efluentes apresenta características muito favoráveis: baixo custo, simplicidade operacional e baixa produção de sólidos. O papel do pós-tratamento, neste caso, é o de completar a remoção de matéria orgânica, bem como o de proporcionar a remoção de constituintes pouco afetados no tratamento convencional (nutrientes e patogênicos).

Como as bactérias *Anammox* têm um tempo de duplicação celular relativamente alto se comparado às outras bactérias (11 a 20 dias), uma solução encontrada foi o desenvolvimento, em laboratório, de um sistema de reatores que permita a retenção eficiente do lodo, ou seja, um reator de leito fixo e operando, na fase inicial, sob o regime de bateladas sequenciais (HU *et al.*, 2006; STROUS *et al.*, 1998; KARTAL *et al.*, 2008).

Von Sperling (2005) afirma que os reatores anaeróbios de leito fixo são caracterizados pela presença de um material de empacotamento estacionário, no qual os sólidos biológicos

podem aderir ou ficar retidos nos interstícios. A massa de microrganismos aderida ao material suporte, ou retida em seus interstícios, degrada o substrato contido no fluxo de água residuária.

O material suporte para microrganismos neste tipo de reator pode ser de vários tipos. O mais usual é pedra britada, mas podem ser utilizados outros materiais como: anéis de plástico, elementos cerâmicos, módulos de plástico tubulares e com fluxo cruzado, elementos de madeira, bambu, esferas perfuradas etc. Evidentemente, deve-se procurar materiais convenientes quanto à eficiência, disponibilidade e custo.

O sistema de leito fixo é geralmente operado em fluxo vertical, tanto ascendente quanto descendente, sendo o de fluxo ascendente o mais usual. Na configuração do ascendente, o líquido é introduzido pela base, fluindo através da camada filtrante e sendo descartado pela parte superior; enquanto que no caso do descendente, o despejo é distribuído na parte superior, imediatamente acima do meio suporte, sendo recolhido na parte inferior.

Tal sistema apresenta simplicidade operacional, eficiente retenção de biomassa, homogeneidade na mistura, estabilidade por um longo período de operação e estabilidade sob condições limitantes de substrato (STROUS *et al.*, 1998; VAN DONGEN *et al.*, 2001; MARTINS, 2010). Além disso, Cybis *et al.* (2001) destaca estas outras vantagens:

- Espaço mínimo, devido suas operações ocorrerem em um mesmo tanque;
- Possibilidade de modificação do ciclo durante a operação;
- Potencial elevado para automação do funcionamento e do controle dos processos biológicos;
- Flexibilidade ao tratar a carga orgânica dos efluentes;
- Estabilidade operacional do sistema não é afetada com a perda de lodo.

No entanto, como as pesquisas na área de pós-tratamento de efluentes não são muito desenvolvidas, deve-se buscar a constante adaptação dos sistemas de tratamento já existentes. Isto fica evidenciado no trabalho desenvolvido por Moura (2011), no qual o autor assegura:

A aplicação de diferentes estratégias operacionais em sistemas de tratamento que promovem a remoção biológica de nitrogênio é um tema de grande relevância. Isso se deve ao fato de haver pouco conhecimento específico sobre como o uso de novas condições operacionais pode influenciar em tais processos. Com isso, pesquisas que têm por objetivo avaliar o desempenho de reatores que utilizam medidas operacionais inovadoras são de grande importância para o desenvolvimento de novas tecnologias, buscando sempre sistemas com uma eficiência elevada juntamente com uma operação estável e economicamente favorável (MOURA, 2011, p. 17).

Nesse sentido, segundo Araújo *et al.* (2010), trabalhos que visam o enriquecimento e a produção de biomassa *Anammox* são importantes, pois podem viabilizar a aplicação dessa biomassa como inóculo para a partida de reatores cada vez maiores que, posteriormente, poderão ser aplicados ao tratamento de águas residuárias contendo elevadas concentrações de compostos nitrogenados.

3.6 Efluentes Gerados em Indústrias de Abate de Bovinos

O abate de bovinos é uma das atividades econômicas mais importantes no mercado brasileiro, colocando o Brasil entre um dos maiores exportadores da carne bovina no mundo. Dados divulgados pelo IBGE no final de 2010 revelam que o montante de abate do ano foi de 29,625 milhões de cabeças; um aumento significativo em relação ao ano anterior (4,3%) devido, principalmente, ao aquecimento do consumo interno (www.ibge.gov.br).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 2002) o volume de água consumida e efluente gerado por produto acabado pode variar substancialmente entre diferentes plantas de processamento. Uma das variáveis é o reflexo dos diferentes níveis de investimentos para a minimização do consumo de água a fim de reduzir os custos com o tratamento do efluente. Os abatedouros de modo geral necessitam de água em abundância em seu processo de industrialização, podendo chegar a 2500 litros por animal abatido (BRAILE, 1993).

No processamento de carnes a água é utilizada na lavagem das carcaças, remoção de pêlos, evisceração, limpeza e sanitização dos equipamentos e utensílios do processo e, ainda, no resfriamento de equipamentos (TEIXEIRA, 2006). Desta maneira, os principais constituintes dos efluentes oriundos do processamento de carnes são uma variedade de componentes orgânicos biodegradáveis, primariamente gorduras e proteínas.

Com a intenção de melhorar a qualidade do efluente que será lançado no corpo d'água e assim, fornecer um tratamento adequado a cada tipo de efluente, os frigoríficos dispõem de tubulações que separam três tipos distintos de efluentes conhecidos como Linha Vermelha, Linha Verde e Linha de Esgoto Sanitário. Da Linha de Esgoto Sanitário fazem parte os despejos líquidos provenientes dos banheiros e da cozinha, que posteriormente são despejados na Linha Vermelha. Esta, por sua vez, contém os despejos originários do abate e manuseio da carne vermelha (sangue e vísceras). Por fim, a Linha Verde corresponde à água contendo estrume e rúmen, oriunda das lavagens dos currais, bucharia e triparia. Desta forma,

é apresentado a seguir o fluxograma do processo industrial típico de abate de bovinos (Figura 6).

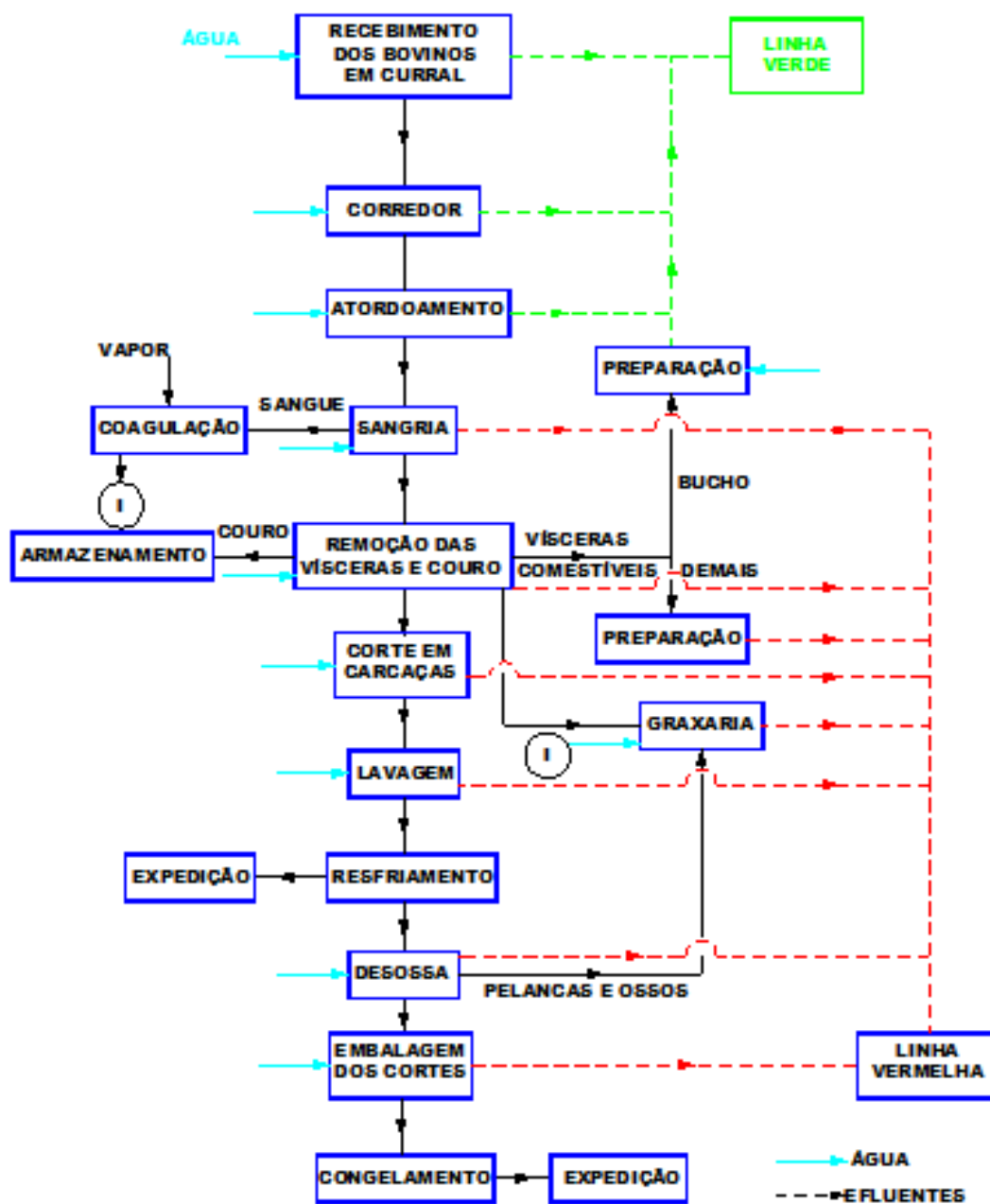


Figura 6 – Fluxograma descritivo do processo industrial de abate de bovinos, considerando duas linhas de produção de efluente.

Fonte: AMORIN, D.G.; DADAMO, L.F., 2008.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Equipamentos e Vidrarias Envolvidas

- Vidraria comum de laboratório (béquers, balões volumétricos, pipetas, provetas, etc);
- Balança semi-analítica – modelo AY220, marca SHIMADZU;
- Bomba peristáltica modelo 85MHP5, marca STENNER;
- Bomba peristáltica modelo 77120-62, marca MASTERFLEX;
- Bomba peristáltica modelo 77120-52/6 rpm, marca MASTERFLEX;
- Estufa – marca SOLAB;
- Forno de DQO – modelo HI 839800 marca HANNA INSTRUMENTS;
- Espectrofotômetro – modelo Genesys 10 uV, marca THERMO ELECTRON CORPORATION;
- Oxímetro – modelo HI9146 marca HANNA INSTRUMENTS;
- Medidor de pH de bancada – modelo mPA-210/ mPA210P, marca TECNOPON;
- Destilador de Nitrogênio – modelo MA-03, marca MARCONI Equipamentos e Calibração para Laboratórios LTDA;
- Termo-microbalança - modelo TG 209, marca NETZSCH;
- Microscópio Eletrônico de Varredura - modelo EVO LS 15, marca ZEISS;
- Sputtering – modelo Q150R ES, marca QUARUM.

4.2 Reagentes utilizados

Antes de dar início à operação definitiva do reator foi necessário preparar as soluções envolvidas nas análises efetuadas durante toda a operação do sistema. Desta maneira, segue abaixo uma lista com informações técnicas dos reagentes empregados em tais procedimentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Reagentes usados para preparar as soluções envolvidas na determinação da DQO, Nitrogênio Amoniacal, Nitrito, Nitrato, DBO e nas análises de MEV.

Reagentes	Fórmula Molecular	Peso Molecular (g.mol⁻¹)	Percentagem de Pureza	Marca
Sulfato de Prata	Ag ₂ SO ₄	311,80	99%	Impex
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	98,08	95-99%	Impex
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	98,08	95-98%	Fmaia
Dicromato de Potássio	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,18	99%	Synth
N – (1-naftil) etilenodiamino	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ .2HCl	259,18	98%	Vetec
Sulfato de Mercúrio	HgSO ₄	296,65	98%	Vetec
Ácido Clorídrico	HCl	36,46	37%	Impex
Sulfanilamida	C ₆ H ₈ O ₂ N ₂ S	172,21	99%	Synth
Nitrato de Potássio	KNO ₃	101,10	99%	Cinética
Nitrito de Sódio	NaNO ₂	69	97%	Cinética
Fosfato Monobásico de Potássio	KH ₂ PO ₄	136,09	99%	Fmaia
Fosfato dibásico de potássio	KH ₂ PO ₄	136,09	97%	May & Baker
Fosfato dibásico de sódio heptahidratado	Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	268,07	98%	Impex
Cloreto de amônio	NH ₄ Cl ₂	53,49	99,5%	Fmaia
Sulfato de Magnésio	MgSO ₄ . 7H ₂ O	246,50	99%	Reagen
Cloreto de Cálcio	CaCl ₂	110,99	99%	Casquímica
Cloreto férrico	FeCl ₃ . 6H ₂ O			
Ácido Bórico	H ₃ BO ₃	61,83	99,5%	Reagen
Hidróxido de Sódio	NaOH	40		Reagen
Solução	C ₅ H ₈ O ₂	100,1		Cinética
Glutaraldeído 5%				
Fosfato de Sódio Monobásico	NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	137,99	98%	LabSynth
Fosfato de Sódio Dibásico	Na ₂ HPO ₄ . 7H ₂ O	268,07	99%	Vetec

Além destes reagentes, utilizou-se também para a determinação de N-amoniacal nas amostras, um indicador misto para a solução de ácido bórico 4% cuja composição é a seguinte, para cada 1L de solução de H₃BO₃ preparada: 15 mL de vermelho de metila (0,1% em etanol) e 6 mL de verde de bromocresol (0,1% em etanol).

4.3 O Reator

O reator foi construído a partir de um tubo de vidro (de 85 cm de altura e diâmetro interno de 7,5 cm) e com conexões e válvulas de PVC, operando em escoamento ascendente, onde o afluente é introduzido pela parte inferior (A1), escoando através da camada de material suporte até o topo do reator (saída). O ponto de saída do efluente (A2) foi instalado a uma altura de 77 cm da base do reator. Deste modo, o volume total do reator foi de 3,52 L. Para o funcionamento deste reator foram utilizadas diferentes bombas peristálticas (de acordo com o propósito de cada fase), permitindo que o nível do líquido permanecesse constante dentro do reator. As dimensões da parte cilíndrica do reator eram: 45,0 centímetros de altura preenchido com material suporte (leito fixo); e 32,0 centímetros de *headspace*. A Figura 7 exemplifica a estrutura do reator confeccionado.

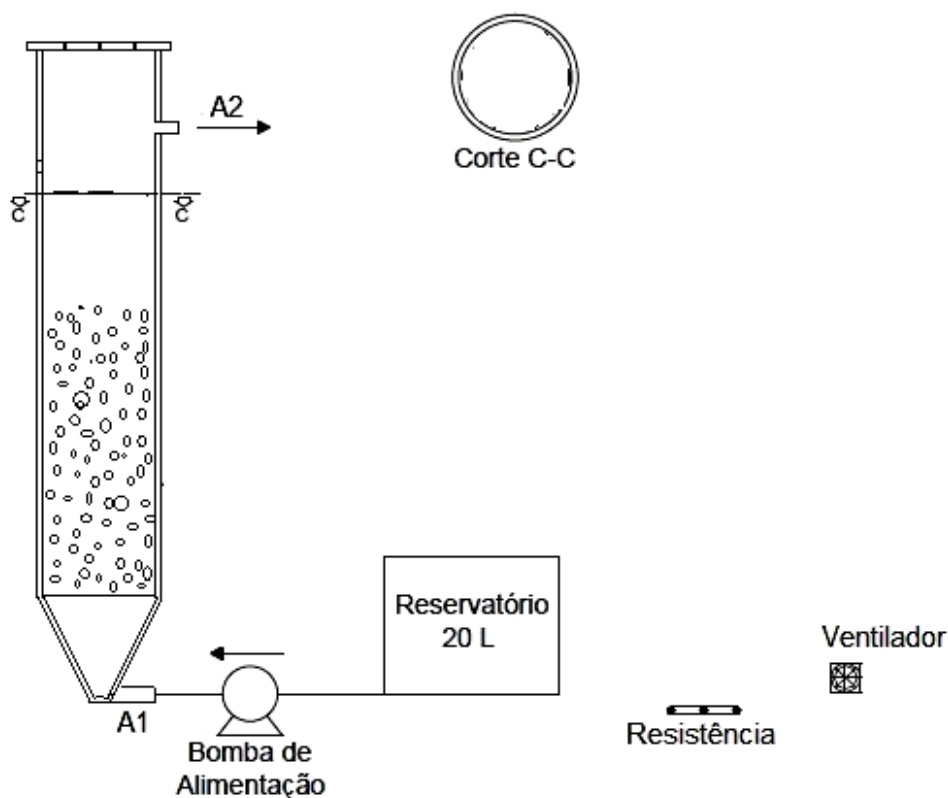


Figura 7 – Esquema ilustrativo do reator.

As características físicas do reator estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características físicas do reator.

Parâmetros do Reator	
Altura	85 cm
Diâmetro	7,5 cm
Volume total	3,52L
Volume útil	2,32 L
Porosidade do leito	60%

De forma a possuir controle sobre a temperatura, o reator foi fixado com um suporte metálico dentro de uma câmara de madeira com dimensões de 1,50 m de altura x 1,00 m de largura x 1,00 m de comprimento. Além disso, o leito do material suporte para a formação do biofilme era caracterizado pela presença de um material de empacotamento estacionário, no qual os sólidos biológicos puderam aderir ou ficar retidos nos interstícios.

4.4 Material Suporte

Para o trabalho em questão, foram adotadas partículas de pedriscos de formato granulado (diâmetro médio de 3 mm e massa específica igual a $2,60 \text{ g.cm}^{-3}$) como suporte de imobilização da biomassa.

4.5 Inóculo

Utilizou-se como inóculo 225 mL do lodo proveniente de uma lagoa de estabilização anaeróbia de um abatedouro de bovinos situado no município de Presidente Prudente/SP. Este tipo de lodo foi escolhido com o objetivo de verificar a presença de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia, isto é, os microorganismos que promovem a reação característica do processo *Anammox*. A Figura 8 mostra o lodo empregado para inoculação no reator.



Figura 8 – Fotografia do lodo usado como inóculo do reator.

Após visitas prévias ao local e coleta de material para análise, decidiu-se que o lodo deveria ser retirado da segunda lagoa de estabilização, na qual verificou-se a existência de nitrogênio orgânico em abundância, tornando-a um ambiente favorável à presença de bactérias *Anammox*, como evidencia a caracterização inicial do efluente bruto encontrado neste local (Tabela 5).

Tabela 5 – Características físico-químicas médias do efluente bruto disposto na segunda lagoa de estabilização do batedouro de bovinos.

Parâmetros	Valor
DQO	1005,33 mg.L ⁻¹
DBO	165,90 mg.L ⁻¹
Nitrogênio Amoniacal	221,48 mg.L ⁻¹
Nitrito	7,25 mg.L ⁻¹
Nitrato	2,13 mg.L ⁻¹
OD	0,43 mg.L ⁻¹
pH	7,26

Durante a coleta, procurou-se retirar o lodo flotado, ou seja, aquele que emergia do fundo da lagoa até a superfície, na interface líquido-ar (Figura 9). Tal procedimento foi adotado para evitar a retirada de sólidos inertes sedimentáveis (areia e pedriscos) presentes, em grandes quantidades, no fundo da lagoa devido a problemas nos sistema de tratamento de efluentes do frigorífico.



Figura 9 – Fotografia da coleta do lodo flotado sobre a superfície da lagoa anaeróbia.

4.6 Controle da Temperatura

O controle da temperatura do sistema foi feito com um termostato digital (Figura 10) ligado diretamente, através de fios de cobre, a uma resistência com potência igual a 880 W. O aparelho foi programado para uma variação igual a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, próximo ao intervalo ideal de $40 \pm 3^\circ\text{C}$ usado por Schierholt Neto (2007), estabelecendo uma condição ótima ao metabolismo das bactérias *Anammox*.



Figura 10 – Fotografia do termostato digital.

4.7 Meio de Cultivo

Neste trabalho adotou-se o meio de cultivo sintético utilizado por Martins (2007) e baseado em estudos de Van de Graaf *et al.* (1996), cuja composição química está explicitada nas Tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6 – Meio de Cultivo sintético adotado para a alimentação inicial do reator.

Componentes	Quantidades – q.s.p 1000mL de água ultrapurificada
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,33 g
NaNO_2	0,354 g
KHCO_3	0,50 g
KH_2PO_4	0,0272 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,300 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,180 g
Solução Traço I	1 mL
Solução Traço II	1 mL

Fonte: VAN DE GRAAF *et al.*, 1996.

Tabela 7 – Componentes da Solução Traço I.

Componentes	Quantidades – q.s.p 1000 mL de água ultrapurificada
EDTA	5,0 g
FeSO ₄	5,0 g

Fonte: VAN DE GRAAF *et al.*, 1996.

Tabela 8 – Componentes da Solução Traço II.

Componentes	Quantidades – q.s.p 1000 mL de água ultrapurificada
EDTA	15 g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,43 g
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,24 g
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,99 g
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,25 g
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,22 g
NiCl ₂ . 6H ₂ O	0,19 g
Na ₂ SeO ₃	0,09 g
H ₃ BO ₃	0,014 g

Fonte: VAN DE GRAAF *et al.*, 1996.

Em seguida, segue uma listagem com as informações técnicas de cada um dos reagentes envolvidos no preparo desta fonte de nutrientes bacteriana (Tabela 9).

Tabela 9 – Reagentes usados no preparo do meio de cultivo.

Reagentes	Fórmula Molecular	Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Porcentagem de pureza	Marca
Cloreto de Níquel	NiCl ₂ . 6H ₂ O	237,7	97%	Dinâmica
Ácido Bórico	H ₃ BO ₃	61,83	99,5%	Vetec
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	287,56	99-103%	Synth
Ácido Etilenodiamino-tetracético (EDTA)	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ . 2H ₂ O	372,24	99-101%	Reagen
Sódio Molibdato	Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	241,95	99,5%	Carlo Erba
Sulfato de Amônio	(NH ₄)SO ₄	132,14	99%	Vetec
Cloreto de Cobalto II	CoCl ₂ . 6H ₂ O	237,93	98-102%	Vetec
Sulfato de Magnésio	MgSO ₄ . 7H ₂ O	246,50	99%	Reagen
Cálcio cloreto Dihidratado	CaCl ₂ . 2H ₂ O	147,02	99-105%	Fmaia
Nitrito de Sódio	NaNO ₂	69	97%	Cinética
Sulfato de Cobre II	CuSO ₄ . 5H ₂ O	249,68	98-102%	Dinâmica
Sulfato férrico	FeSO ₄ . 7H ₂ O	276,02	99%	Labsynth
Cloreto de Manganês hidratado	MnCl ₂ . 4H ₂ O	197,91	99%	Merck
Bicarbonato de Potássio	KHCO ₃	100,12	99%	Carlo Erba
Fosfato dibásico de potássio	KH ₂ PO ₄	136,09	97%	May & Baker
Selenito de Sódio	Na ₂ SeO ₃	172,94	98%	Fluka-Garantie

4.8 Análises Realizadas

4.8.1 Análises Físico-Químicas

A metodologia empregada para as análises físico-químicas deste trabalho foi baseada nos procedimentos do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA/AWWA/WEF, 1998), sendo que as amostras de efluente bruto foram retiradas do

tanque de armazenamento e, as amostras de efluente tratado, da parte superior do reator (acima do meio suporte). Assim, as análises realizadas são mostradas na Tabela 10.

Tabela 10 – Parâmetros analisados e métodos utilizados no experimento.

Análises Físico-Químicas	Metodologia	
	Nome	Código
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Colorimétrico	5220 D
Nitrogênio Amoniacal	Método da Destilação Preliminar	4500-NH ₃ B
Nitrito	Colorimétrico	4500-NO ₂ C
Nitrato	Espec. Ultravioleta	4500-NO ₃ B
OD	Método do Eletrodo de Membrana	4500-O

Além das mencionadas na Tabela 10, foram realizadas análises termogravimétricas (TG) e observações microscópicas.

4.8.2 Análises Termogravimétricas

Com o intuito de quantificar a porcentagem de material orgânico agregado aos pedriscos foram feitas análises termogravimétricas com uma termo-microbalança (Figura 11), operando em uma faixa de temperatura de 0° a 900°C e com uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. As amostras apresentavam pesos variáveis e próximos a 0,5 mg (uma vez que os pedriscos granulares não tem um diâmetro regular) e foram previamente secas em estufa (50°C durante 48 horas, para a remoção da água) e acondicionadas em um cadinho de alumina em atmosfera inerte de nitrogênio, com um fluxo de 25 mL.min⁻¹. Cada ensaio de TG teve, aproximadamente, 2 horas de duração e foi feito em duplicata. Os gases evaporados nos estudos termogravimétricos foram canalizados, por diferença de temperatura, para uma câmara que faz as medidas de infravermelho simultâneo, a qual tem por finalidade identificar a composição química destes gases.

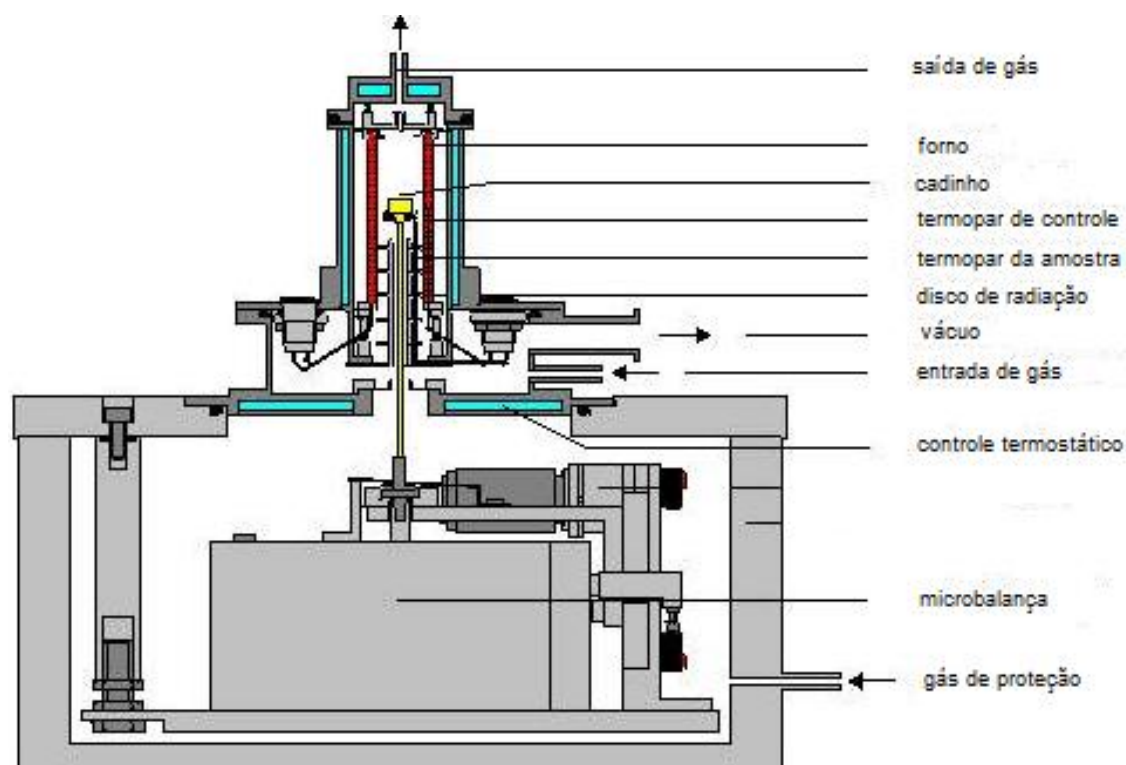


Figura 11 – Analisador termogravimétrico TG 209.

Fonte: <http://www.materiais.ufsc.br/Disciplinas/EMC5733/Apostila.pdf>

4.8.3 Análises Microscópicas

Já com o intuito de identificar o material biológico agregado ao meio, foi feita a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A Figura 12 retrata o MEV utilizado nas análises deste trabalho pertencente ao Laboratório de Dispositivos e Sensores Orgânicos.

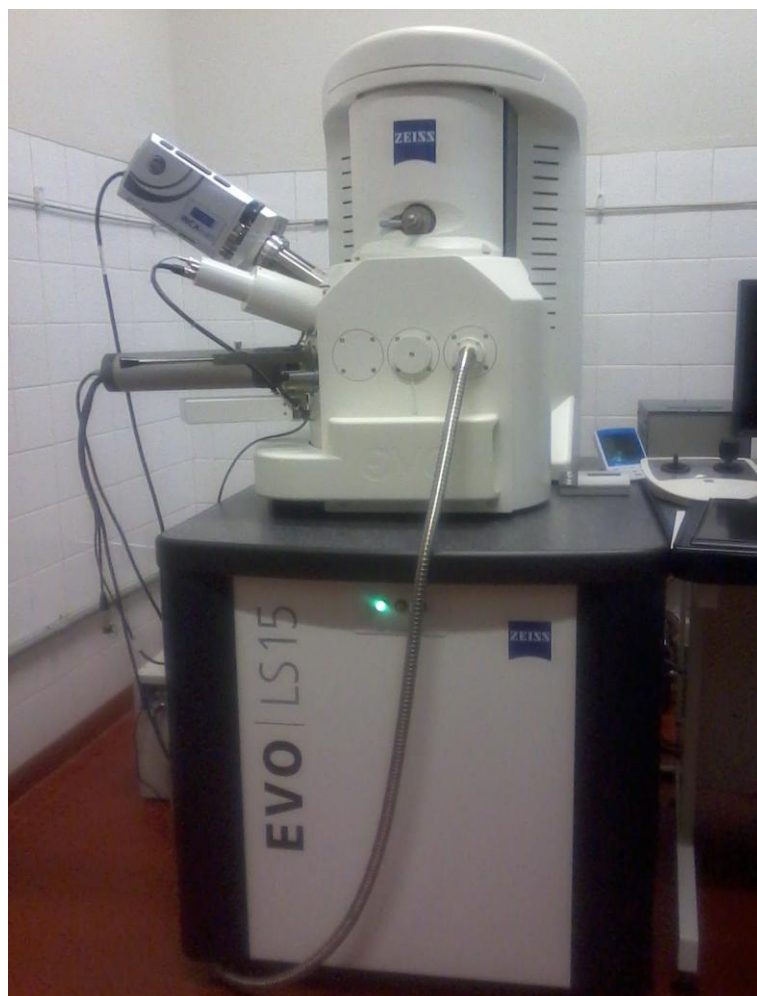


Figura 12 – Fotografia do Microscópio Eletrônico de Varredura

Preparo das amostras: as amostras, antes de serem submetidas à observação microscópica, foram submetidas a um tratamento prévio, composto pelas seguintes etapas: fixação, desidratação e secagem. Este procedimento foi baseado no trabalho desenvolvido por Araújo (1995).

Coletaram-se quatro amostras de material suporte do interior do reator, com o intuito de observar as características do biofilme formado. Utilizou-se também uma amostra de pedrisco “limpo” como comparação. Primeiramente, todas as amostras foram colocadas em pequenos béqueres e assim, foram fixadas em solução glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M (pH = 7,3) por um período de 12 horas e sob a temperatura de 4°C. Em seguida, ambas foram submetidas a três lavagens com tampão fosfato 0,1M gelado, sendo que cada uma destas lavagens durou 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em soluções de etanol em diversas concentrações (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%); permanecendo em cada uma delas por 10 minutos. A desidratação em etanol 100% foi repetida.

Após a desidratação, cada uma das amostras fora secas com hexametildisilazano

(HMDS), o qual foi adicionado em uma quantidade mínima sobre cada pedrisco. Foram realizadas duas lavagens com este composto, sendo que cada uma teve 30 segundos de duração. Então, as amostras foram secas em estufa (50°C durante 2 horas para a completa volatização do HMDS e secagem do material).

Cada uma das amostras foi fixada em suportes de alumínio, com o uso de esmalte incolor para unhas e encaminhadas ao processo de cobertura com ouro (99,99%) em um sputtering. Então, as amostras foram observadas sob microscopia eletrônica de varredura realizada em diversos aumentos.

4.9 Monitoramento do Reator

O sistema foi operado segundo a sequência de fases abaixo:

- Fase de inoculação e partida (Fase 1): Fase de operação com meio de cultivo escoando em regime de bateladas e com vazão fixada em $1,125 \text{ L.h}^{-1}$;
- Fase em regime de fluxo contínuo (Fase 2): Operação sem recirculação de meio de cultivo. A fase foi subdividida em duas, as quais diferenciam-se pelas vazões adotadas, $0,092 \text{ L.h}^{-1}$ e $0,080 \text{ L.h}^{-1}$ respectivamente;
- Fase em regime de fluxo contínuo e com efluente bruto (Fase 3): Fluxo sem recirculação, caracterizado pela substituição do meio de cultivo até então utilizado por efluente de abatedouro bovino.

4.9.1 Fase 1 (Inoculação e Partida)

Após a inoculação do sistema com 225 mL de lodo proveniente da indústria de abate em questão, iniciou-se a operação do reator, sendo que este foi configurado para operar em um ciclo totalmente fechado, com o bombeamento de meio de cultivo logo acima do nível de lodo e sua reintrodução na parte inferior do reator (fase com recirculação), ou seja, em regime de bateladas. Manteve-se, nesta fase, uma vazão de $1,125 \text{ L.h}^{-1}$ de amostra circulando pelo sistema. A Figura 13 representa a estrutura de todo o sistema nesta fase.

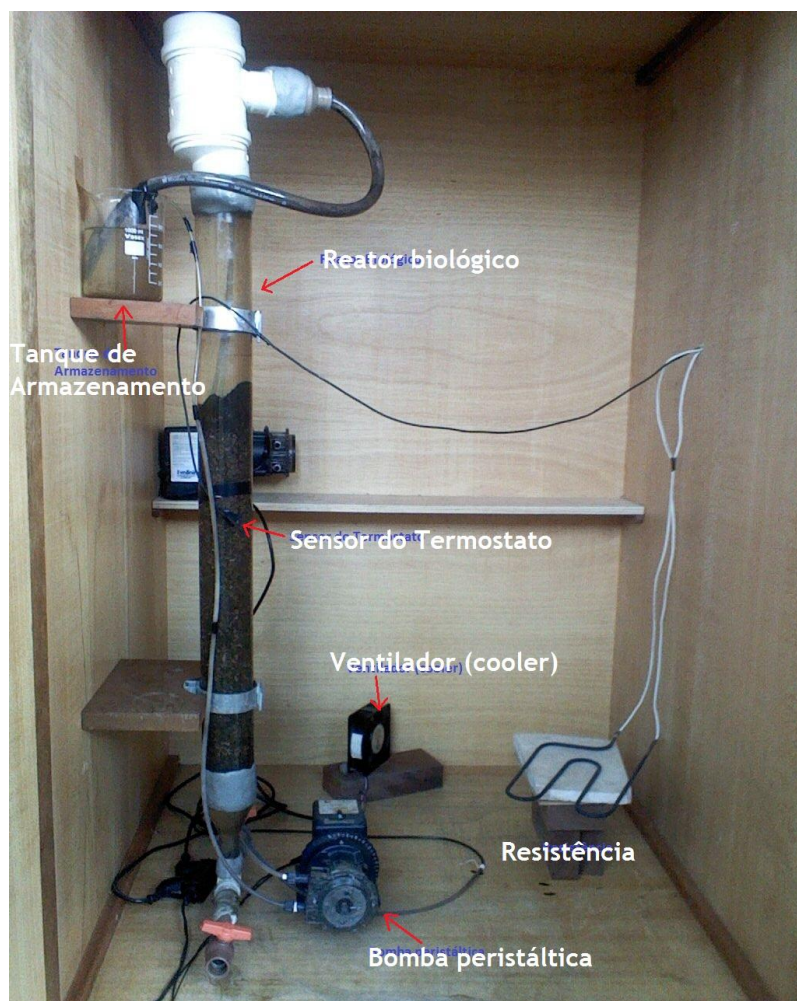


Figura 13 - Fotografia do sistema experimental operando em regime de bateladas.

O tempo de duração das bateladas foi estabelecido de acordo com a eficiência de remoção de N-NH_4^+ , assim, toda vez que era constatada uma concentração de N-NH_4^+ abaixo de 40 mg.L^{-1} , era descartado o líquido para a introdução de um novo meio de cultivo no reator. No entanto, ressalta-se que somente o volume de líquido presente no tanque de armazenamento era substituído; evitando ao máximo prejudicar a retenção de biomassa bacteriana no interior do reator.

A Tabela 11 apresenta informações sobre a duração de cada batelada realizada.

Tabela 11 – Informações sobre as bateladas.

Nº da Batelada	Duração (dias)
1	5
2	6
3	5
4	6
5	6
6	5
7	6
8	5

4.9.2 Fase 2 (Operação em regime de fluxo contínuo)

A partir deste momento, houve uma troca da bomba peristáltica possibilitando um maior controle da vazão. Adequou-se o sistema para operar em um regime de fluxo ascendente contínuo, no qual o líquido entrava no reator, atravessava o meio suporte e era descartado no reservatório de 20 litros (por isso caracterizar a fase como sem recirculação).

A Figura 14 apresenta a nova estruturação adquirida pelo sistema.

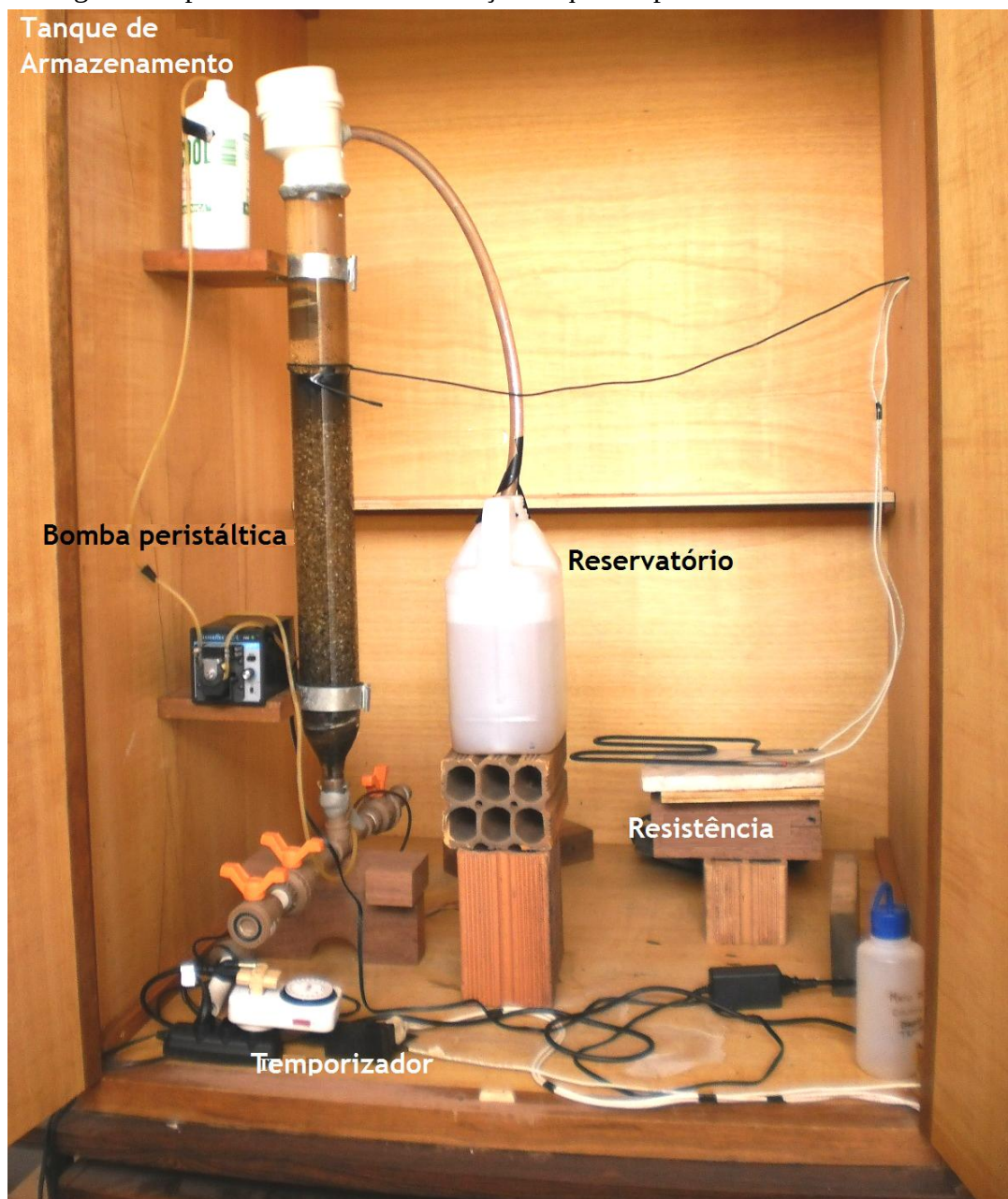


Figura 14 – Nova estruturação do sistema, marcada pela introdução de um reservatório para receber o líquido submetido ao tratamento no reator.

Assim, foi obtida uma vazão de $0,092 \text{ L.h}^{-1}$, o que acarretaria em um consumo diário excessivo de meio de cultivo. Por isso, foi feita uma nova adaptação através do uso de um

temporizador analógico ligado à bomba, o qual foi programado para operar 12 vezes ao dia, com um tempo de duração de 30 minutos em cada vez, fazendo com que a bomba passasse a recalcar $0,552 \text{ L.dia}^{-1}$ de meio de cultivo.

No período entre os dias 100 a 110 de operação reduziu-se ainda mais a vazão de líquido recalcada no reator, devido a mudança da bomba usada até então por outra, cuja vazão característica foi de $0,080 \text{ L.h}^{-1}$. Neste momento, reprogramou-se novamente o temporizador para funcionar durante 30 minutos em 6 vezes por dia, resultando em uma vazão de $0,240 \text{ L.dia}^{-1}$.

4.9.3 Fase 3 (Efluente Bruto)

Nesta fase, a principal modificação realizada foi a adoção do efluente de frigorífico bovino bruto, substituindo o meio sintético que foi utilizado até então. O temporizador foi ligado permitindo que a bomba funcionasse 6 vezes ao dia (1 hora cada vez) e assim, a vazão recalcada passou a ser de $0,480 \text{ L.dia}^{-1}$.

4.10 Cálculo do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH)

O Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) representa o tempo médio de permanência das moléculas de água em uma unidade de tratamento que é alimentada continuamente. Para o cálculo do TDH foram usados os seguintes parâmetros: vazão do reator (Q_R) e volume útil do reator (V_R), de acordo com a Equação 15:

$$\text{TDH} = \frac{V_R}{Q_R} \quad (\text{Eq. 15})$$

$$V_R = V_1 + V_2 \quad (\text{Eq. 16})$$

Vale ressaltar que, no caso da Fase 1, a vazão da bomba coincide com a vazão do reator, uma vez que no regime de bateladas a bomba peristáltica esteve permanentemente ligada; já para as demais fases, a bomba não estava ligada em tempo integral e portanto, as vazões de reator e da bomba são divergentes.

Na Equação 16, tem-se que V_1 representa o volume de líquido na parte cilíndrica do reator e V_2 , o volume de líquido na região cônica (parte inferior do tubo de vidro). Para se obter V_1 , foi levado em consideração o fato de que o meio suporte possuía porosidade igual a 0,4, ou seja, que 60% do volume do reator correspondiam aos pedriscos.

Como a altura de líquido dentro do reator foi fixada em 32 cm acima do nível de lodo, para se obter o tempo de detenção hidráulica, considerou-se que a altura total de líquido no reator (H_R) corresponde a altura de 45 cm preenchida com pedriscos somada aos 32 cm de líquido, ou seja, $H_R = 77$ cm.

4.11 Cálculo da eficiência de remoção

Para o cálculo da eficiência de remoção de N-total empregou-se a Equação 17. A concentração de N-total foi obtida pela soma das concentrações de nitrogênio nas formas de N-amoniacal, N-nitrito e N-nitrato.

$$\text{Ef. Rem. N-TOTAL} = \frac{(\sum \text{N-total}_{\text{AFLUENTE}}) - (\sum \text{N-total}_{\text{EFLUENTE}})}{(\sum \text{N-total}_{\text{AFLUENTE}})} \times 100 \quad (\text{Eq. 17})$$

Sendo:

Ef. Rem. N-TOTAL = eficiência de remoção de nitrogênio total;

$\sum \text{N-total}_{\text{AFLUENTE}}$ = soma da concentração de N-amoniacal, N-nitrito e N-nitrato afluyente;

$\sum \text{N-total}_{\text{EFLUENTE}}$ = soma da concentração de N-amoniacal, N-nitrito e N-nitrato efluente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Tempo de Detenção Hidráulica

Considerando que, após a construção do sistema reator e sua operação de abril a outubro de 2011, a vazão utilizada no reator em questão variou de acordo com o tipo de bomba usada e seu respectivo período de funcionamento. Portanto, obtiveram-se os seguintes tempos de detenção hidráulica (Tabela 12):

Tabela 12 – Vazão e tempo de detenção hidráulica medido nas condições operacionais Fase 1, Fase 2 e Fase 3.

Fase	Duração (dias)	Vazão da bomba (L.h⁻¹)	TDH (dias)
Fase 1 (operação em batelada)	44	1,125	0,086
Fase 2	102	0,092	4,20
		0,080	4,83
Fase 3	26	0,080	4,83

De acordo com tais valores de TDH foi possível estimar o intervalo de coleta entre amostras afluente e efluente e assim organizar o cronograma de análises físico-químicas.

5.2 Variação nas Concentrações de Compostos Nitrogenados

5.2.1 Fase 1

Durante os primeiros dias, foram realizadas apenas análises de pH, oxigênio dissolvido e o monitoramento da temperatura, uma vez que o sistema apresentava constantes problemas hidráulicos e dificuldades na manutenção da faixa de temperatura desejada. A partir do momento em que as condições de operação foram estabilizadas, em todas as bateladas passou-se a monitorar as concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato; com o intuito de avaliar o comportamento do nitrogênio total no sistema. Com o objetivo de analisar a disponibilidade de matéria orgânica no sistema, também monitorou-se o comportamento da DQO durante as bateladas.

A fase de inoculação e partida durou 44 dias. Este período foi caracterizado pela recirculação contínua de meio de cultivo no sistema.

As Figuras 15, 16 e 17 mostram, respectivamente, os resultados obtidos no regime de bateladas, no qual foram realizadas as leituras do meio de cultivo “bruto” (afluente) e do “tratado” (efluente) para concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato.

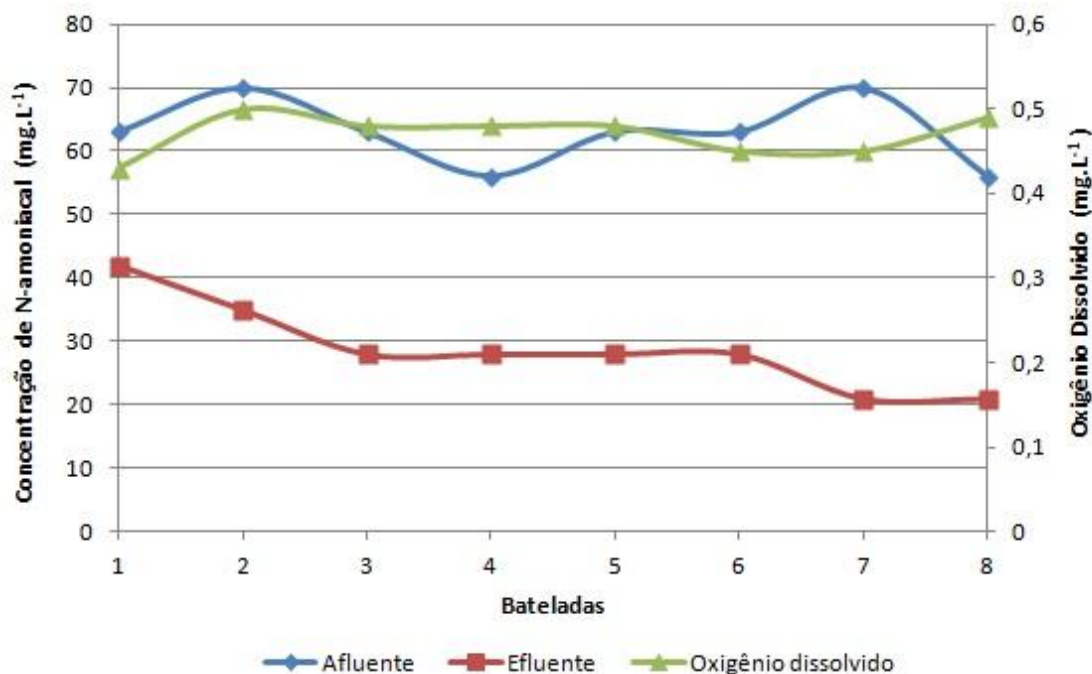


Figura 15 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal durante as oito bateladas realizadas e o comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido.

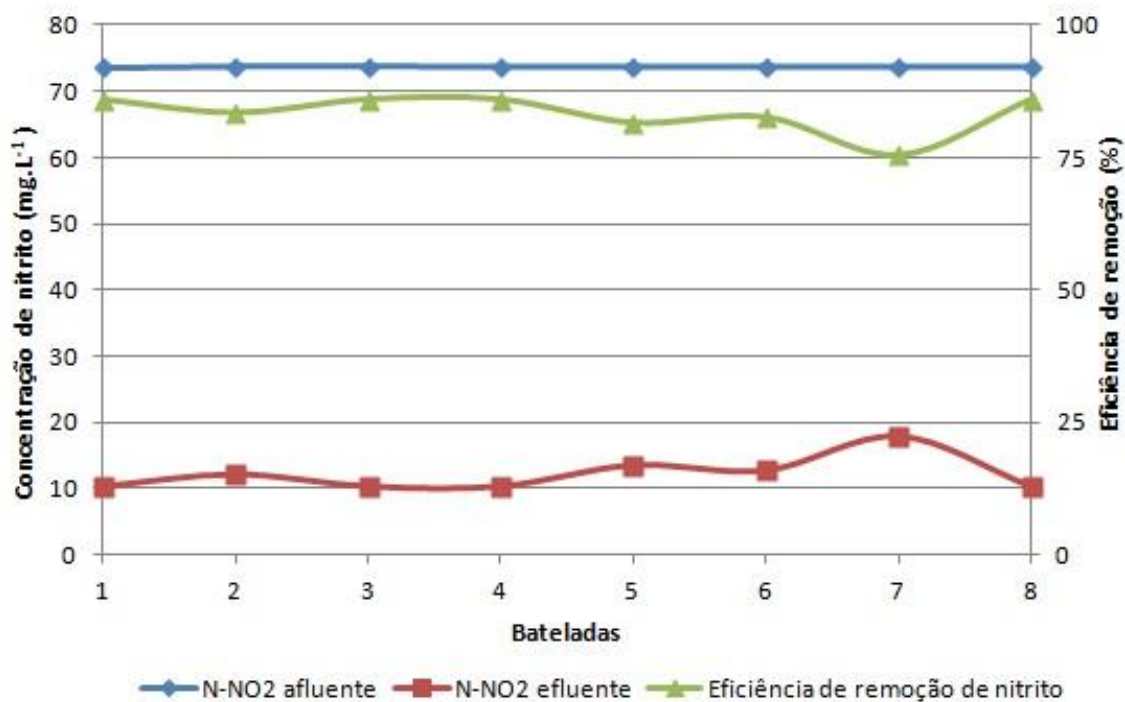


Figura 16 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante as oito bateladas realizadas.

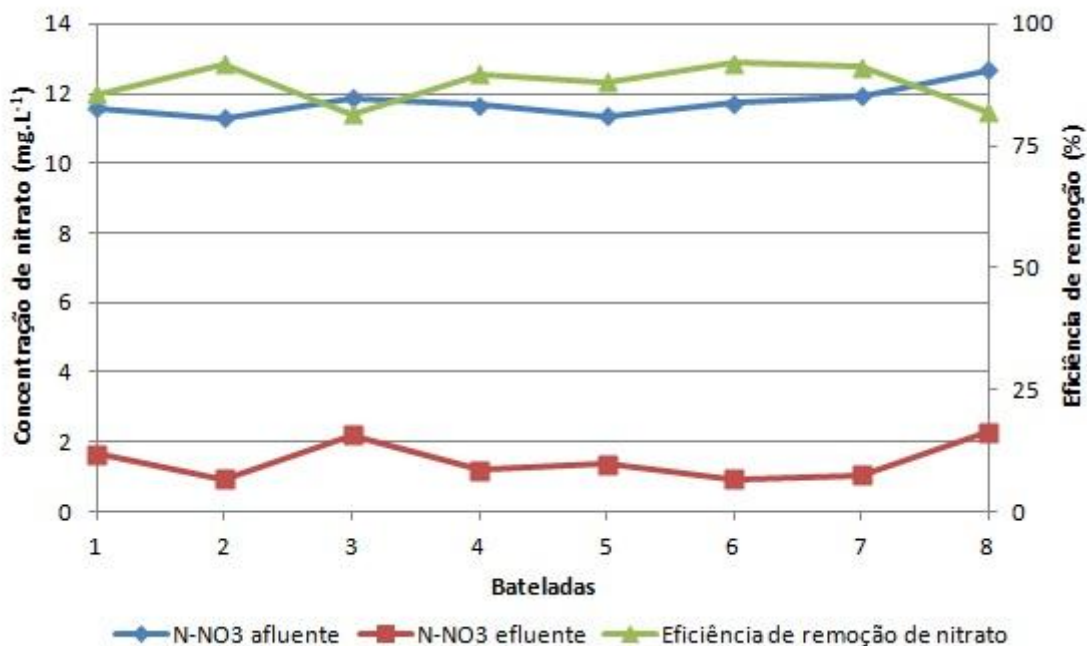


Figura 17 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante as oito bateladas realizadas.

Observando a Figura 15, notou-se que durante todo o tempo de operação do sistema em regime de bateladas houve remoção de nitrogênio amoniacal e esta aconteceu sob condições controladas de oxigênio dissolvido (meio anaeróbico). Na batelada inicial esta remoção foi um pouco menos expressiva (uma média de 33% de remoção), porém a partir da 2ª batelada a remoção deste composto foi superior a 50%, o que possibilitou a mudança para um regime sem recirculação de meio de cultivo após 44 dias de operação.

Pela análise da Figura 16, se vê que ocorreu o consumo homogêneo de nitrito em todas as bateladas realizadas. Já com relação ao nitrato (Figura 17), percebeu-se que o meio de cultivo apresentou altas concentrações afluentes deste composto, uma vez que tinha em sua composição a adição de outros compostos que poderiam ser oxidados facilmente à nitrato. Um fato importante foi que boa parte deste nitrato afluente foi consumido em cada batelada, permitindo que no final a concentração de nitrato no sistema se mantivesse baixa dando assim, indícios de que a remoção de nitrogênio amoniacal durante esta fase seguiu uma via anaeróbia, como pretendia-se.

No entanto, não se pode afirmar que durante esta fase ocorreu o desenvolvimento satisfatório das bactérias *Anammox*, uma vez que estas bactérias têm um desenvolvimento muito lento quando comparado as demais. Araújo *et al.* (2010) detectou atividade *Anammox* (marcada pelo consumo simultâneo de amônia e de nitrito) a partir do 87º dia de operação de seu sistema e, de acordo com a literatura consultada (DAPENA-MORA *et al.*, 2004; THIRD

et al., 2005; CHAMCHOI & NITISORAVUT, 2007), o início da atividade *Anammox* em um reator em bateladas sequenciais (RBS) pode acontecer após 70 a 120 dias de operação.

A figura abaixo demonstra o comportamento do nitrogênio total e sua eficiência de remoção neste período, como explicado no item 4.5.

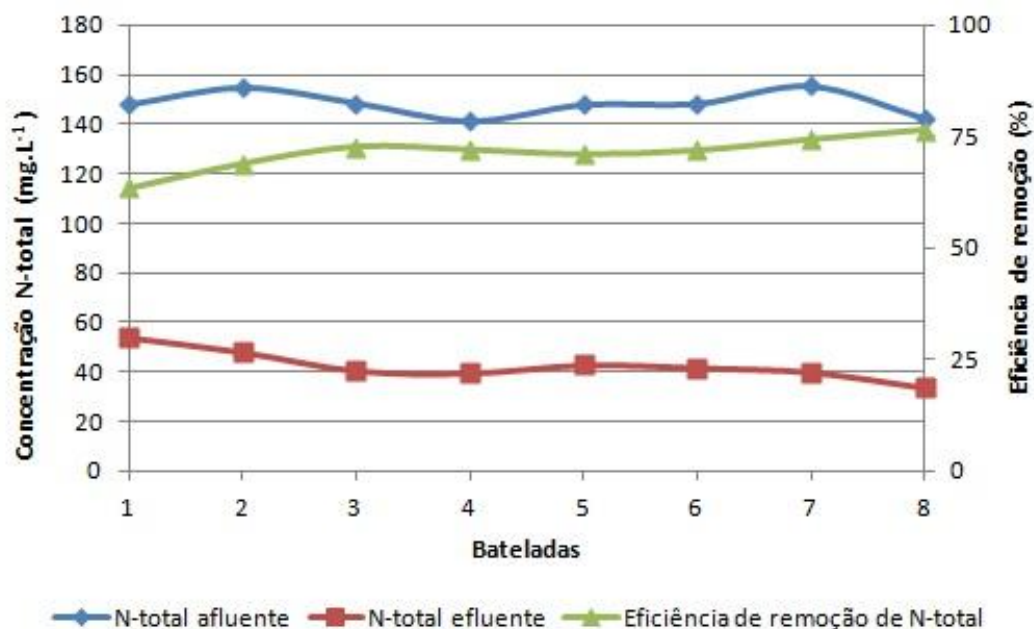


Figura 18 – Perfil do nitrogênio total nas bateladas realizadas.

Como um ambiente anaeróbio foi mantido neste período – perfil do oxigênio dissolvido evidenciado na Figura 15 – foi possível afirmar que estas formas nitrogenadas foram convertidas a $N_{2(g)}$; portanto a diferença de concentração, em $mg.L^{-1}$, entre o N_{total} das amostras afluentes e efluentes correspondeu à concentração de $N_{2(g)}$ produzida em cada batelada. Assim, pode-se dizer que a produção média de gás nitrogênio foi de, aproximadamente, $105 mg.L^{-1}.batelada^{-1}$.

5.2.2 Fase 2

As Figuras 19, 20 e 21 mostram, respectivamente, os resultados obtidos em termos de concentração de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato durante o período de operação sem recirculação de meio de cultivo no reator. Aqui também foram realizadas as leituras do meio de cultivo “bruto” (afluente) e do “tratado” (efluente).

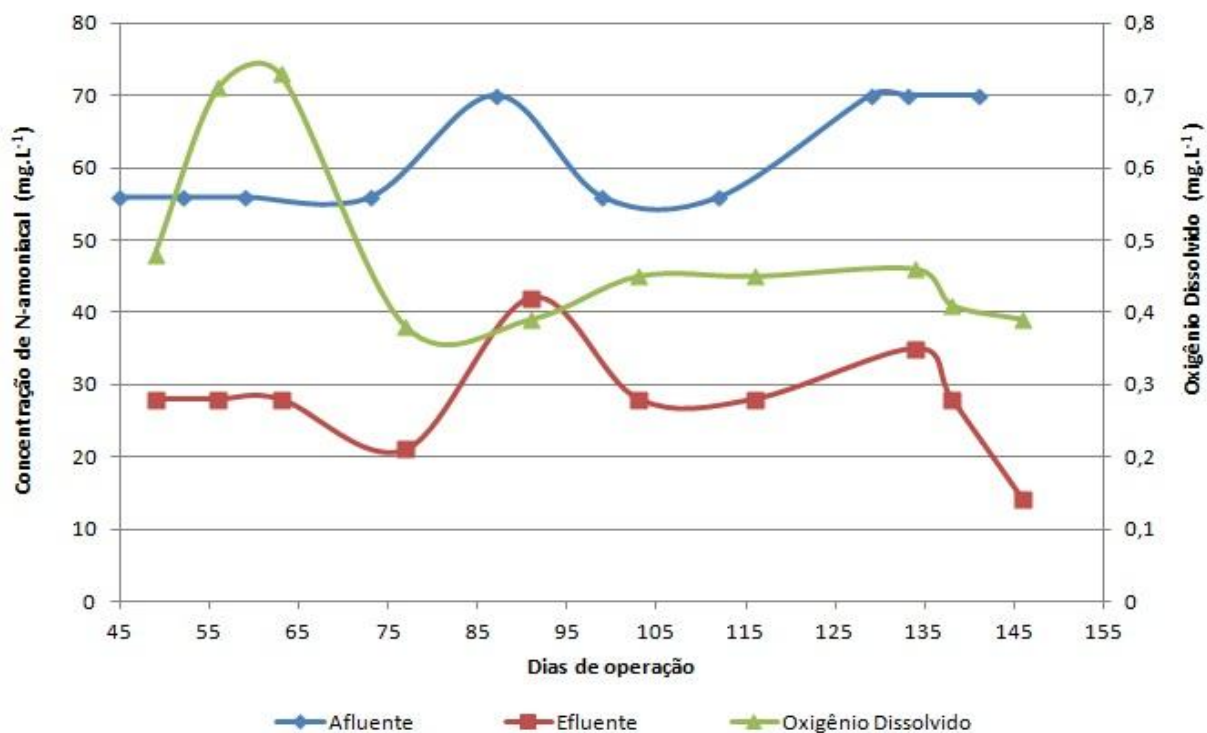


Figura 19 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniaco e o comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.

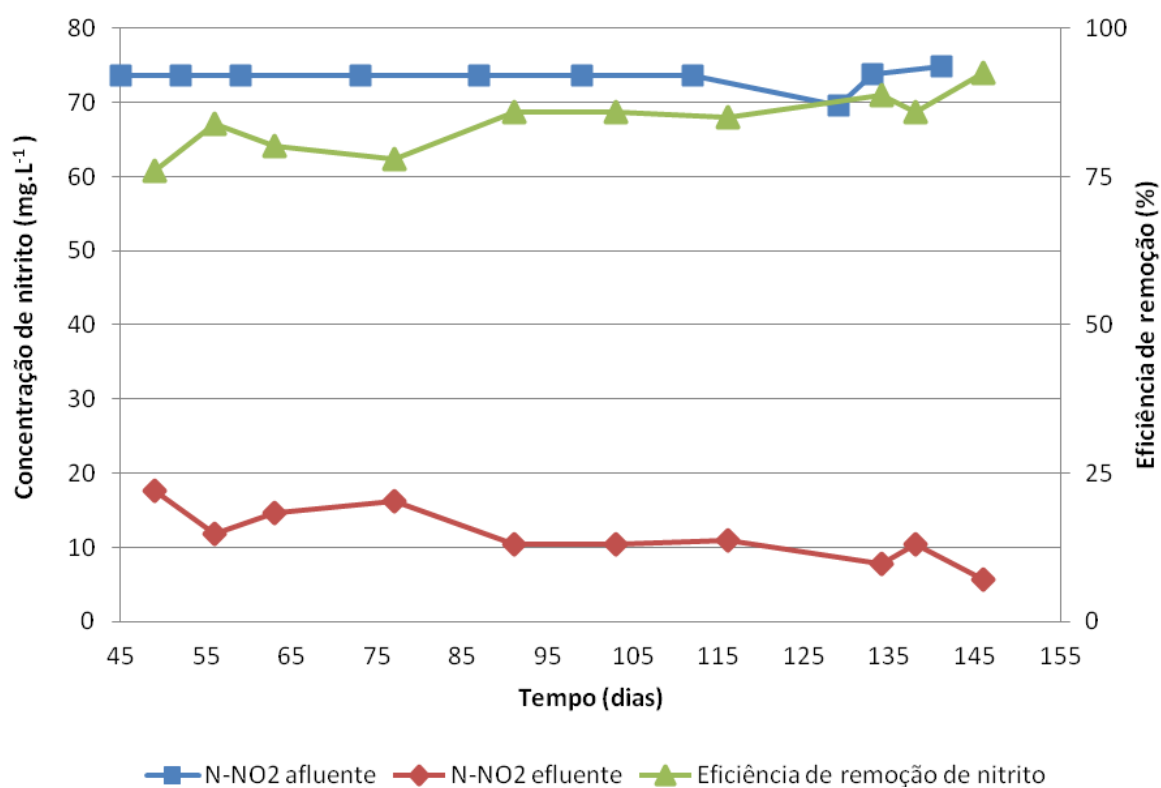


Figura 20 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.

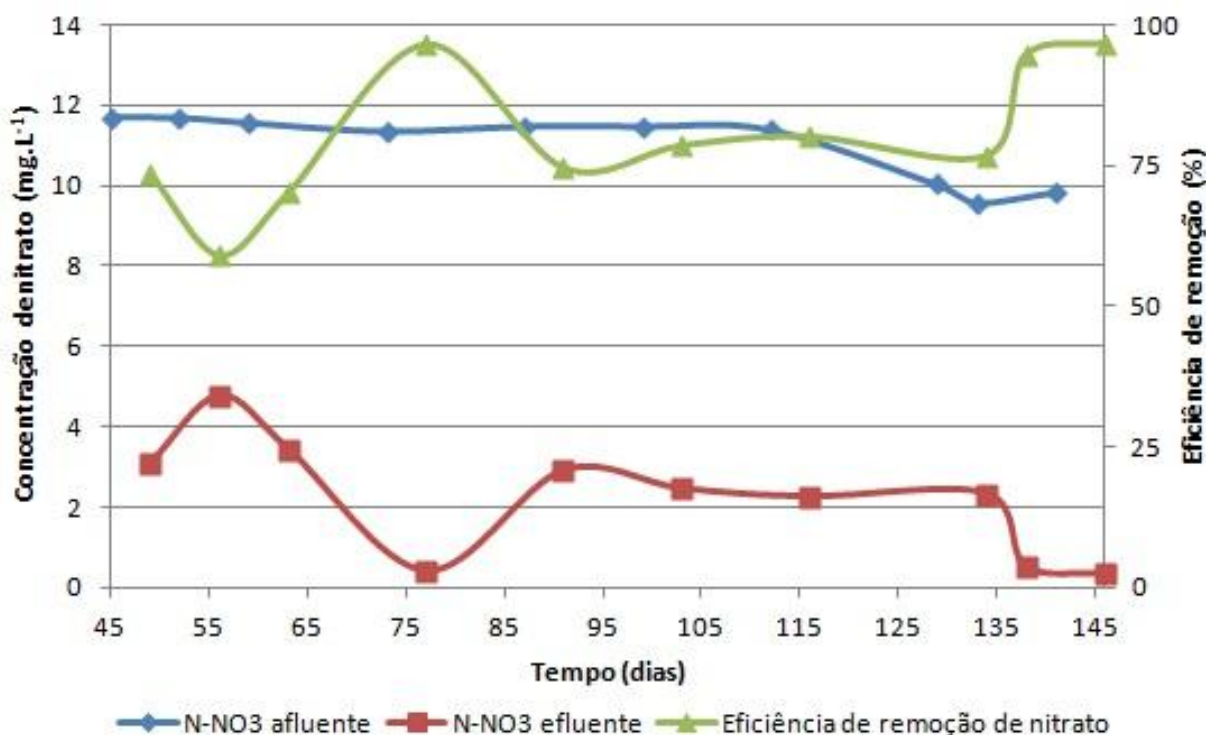


Figura 21 - Variação das concentrações afluyente e efluente de nitrato durante os 102 dias de operação sob regime de fluxo contínuo.

Analisando a Figura 19, notou-se que o perfil do oxigênio dissolvido apresentou-se mais heterogêneo do que na fase anterior, principalmente nos primeiros dias, devido provavelmente ao período de adaptação do sistema à nova bomba programada para recalcar uma vazão inferior (vazão recalçada caiu de 1,125 L.h⁻¹ para 0,552 L.dia⁻¹). No geral, houve a remoção de nitrogênio amoniacal em todo o período em questão; esta só não foi muito expressiva em um momento, logo após a contaminação do ambiente por OD (por volta do 60º dia de operação) que gerou uma queda na eficiência de remoção de N-amoniacal entre os dias 85 e 95. Principalmente a partir do intervalo entre os dias 100-110, período no qual introduziu-se uma menor vazão de bombeamento diário de meio de cultivo no sistema (0,240 L.dia⁻¹), houve uma otimização na remoção de N-NH₄⁺; além disso, notou-se que o perfil de OD aparentou estar, a partir deste ponto, melhor controlado (valores próximos a 0,4 mg.L⁻¹).

Observando a Figura 20, pode-se afirmar que boa parte do nitrito afluyente foi consumido, semelhante ao ocorrido na fase anterior. Assim como no caso da remoção de N-amoniacal, notou-se que o consumo de nitrito também foi otimizado a partir de 100 a 110 dias de funcionamento; apontando um indicativo inicial de ocorrência do processo *Anammox*. A fim de verificar este fato, foi elaborada a Tabela 13, relacionando as proporções removidas de N-NO₂⁻ e N-NH₄⁺.

Com relação ao nitrato (Figura 21), percebe-se um comportamento bem semelhante ao descrito no regime de recirculação. Ou seja, o consumo deste composto associado ao consumo

de nitrito e a manutenção de baixas concentrações de OD, comprovaram a ideia de que conversão de N-amoniaco em $N_{2(g)}$ neste sistema ocorreu por uma via anóxica.

Tabela 13 - Valores de Remoção de nitrogênio nas formas de $N-NH_4^+$ e de $N-NO_2^-$ e proporção de remoção.

Tempo (dias)	Remoção $mg\ N-NH_4^+ \cdot L^{-1}$	Remoção $mg\ N-NO_2^- \cdot L^{-1}$	Proporção $N-NH_4^+ : N-NO_2^-$
49	28	56	1 : 2
56	28	62	1 : 2,21
63	28	59	1 : 2,11
77	35	57	1 : 1,63
91	28	63	1 : 2,25
103	28	63	1 : 2,25
116	28	62	1 : 2,21
134	35	62	1 : 1,77
138	42	63	1 : 1,5
146	56	69	1 : 1,23

Através da Tabela 13, percebeu-se que os valores de proporção de $N-NH_4^+ : N-NO_2^-$ (diferença entre a concentração afluenta e efluente) apresentam uma tendência de proximidade aos coeficientes estequiométricos da reação *Anammox* – Equação 5 – postulada por van de Graaf *et al.* (1996) e esta proximidade fica mais evidente a medida que o tempo de operação do reator é maior. Martins (2007) obteve resultados de proporção de remoção $N-NH_4^+ : N-NO_2^-$ igual a 1:1,13 após 276 dias de operação de um quimiostato enriquecido com bactérias *Anammox*.

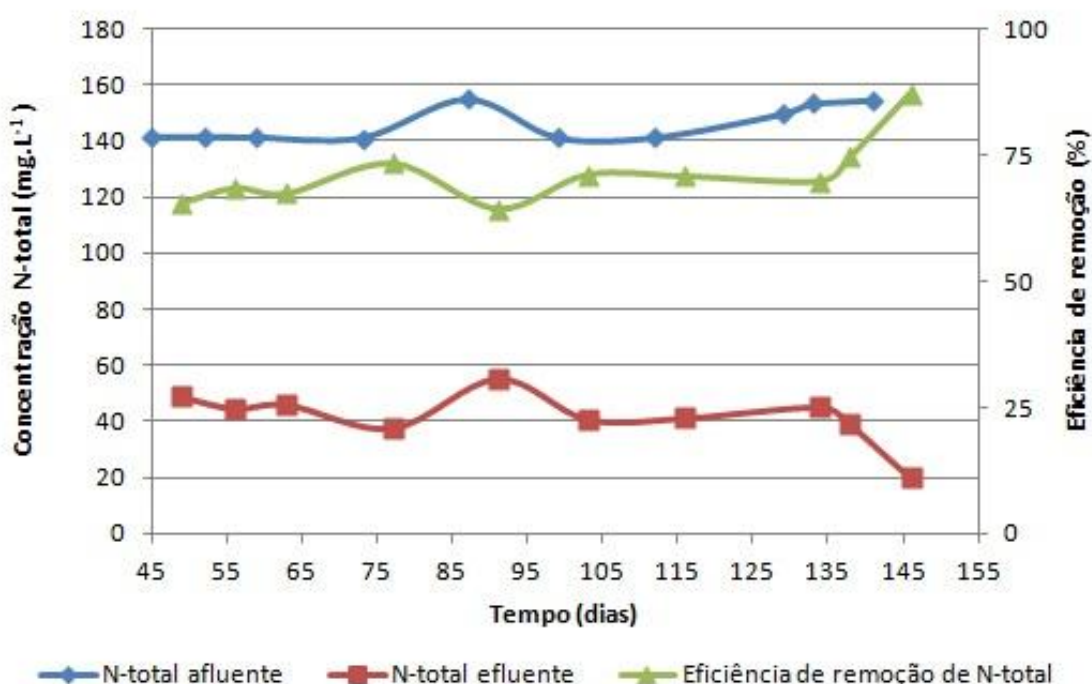


Figura 22 – Perfil do nitrogênio total na fase sem recirculação.

Analizando a perda de nitrogênio total em relação ao tempo (Figura 22), foi possível verificar que até o período de 100 a 110 dias de operação a formação de $N_{2(g)}$ foi regular; porém a partir desse ponto, obteve-se uma maior eficiência em termos de remoção de compostos nitrogenados; indicando assim, uma melhoria nas condições operacionais do sistema. Tal fato atrelado a proximidade da relação entre NH_4^+ : $N-NO_2^-$ (obtida principalmente nos últimos dias de operação) com a relação estabelecida pela equação de van de Graaf *et al.* (1996), possibilitaram a mudança para um processo no qual o reator foi submetido à circulação do efluente industrial.

5.2.3 Fase 3

Esta fase compreendeu o período no qual o sistema foi submetido à circulação de efluente de frigorífico bovino bruto. Este tipo de efluente, como já especificado em sua caracterização prévia (Tabela 4), possui elevadas cargas de matéria orgânica (expressas em termos de DQO e DBO), fato que alterou o comportamento que o reator apresentava até então.

As Figuras 23, 24 e 25 expressam o comportamento dos parâmetros nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato na Fase 3.

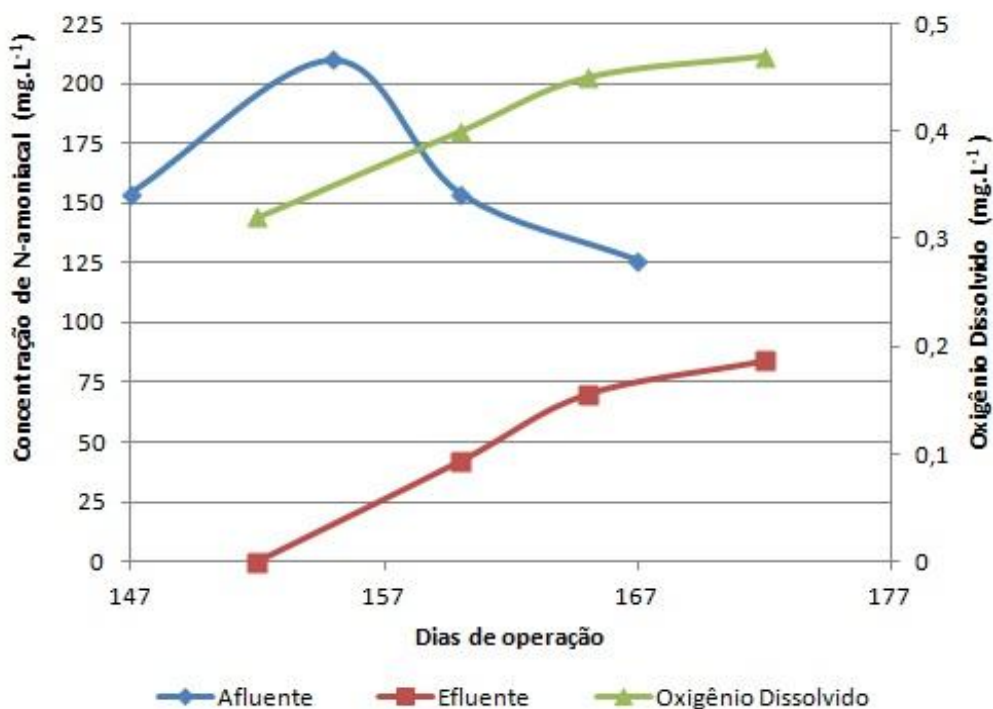


Figura 23 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal e comportamento da taxa de Oxigênio Dissolvido durante os 26 dias de operação com efluente industrial.

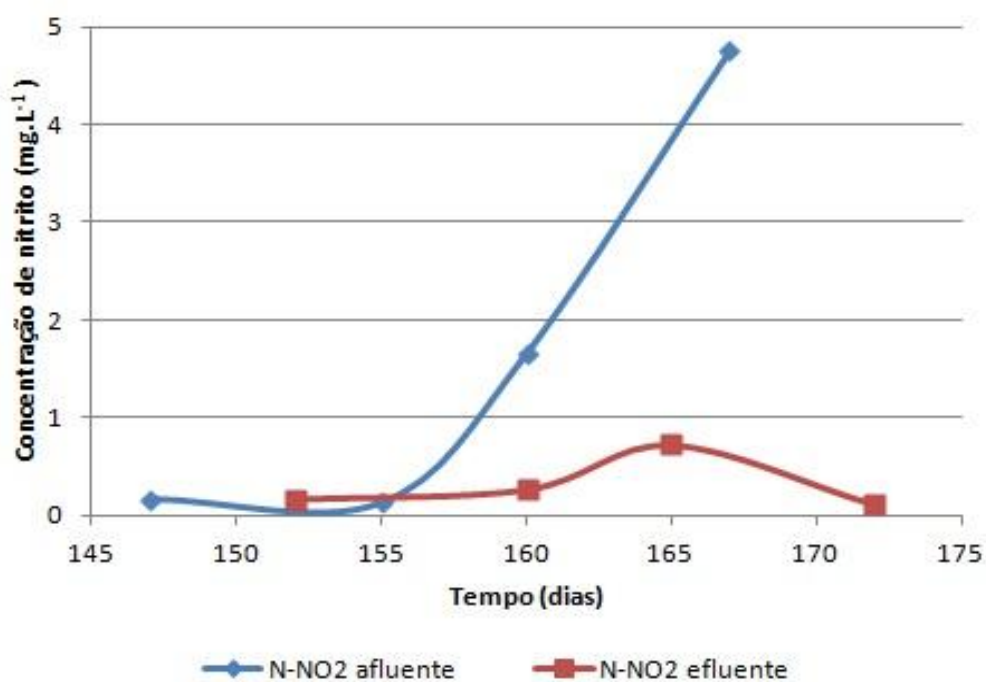


Figura 24 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante os 26 dias de operação com efluente industrial.

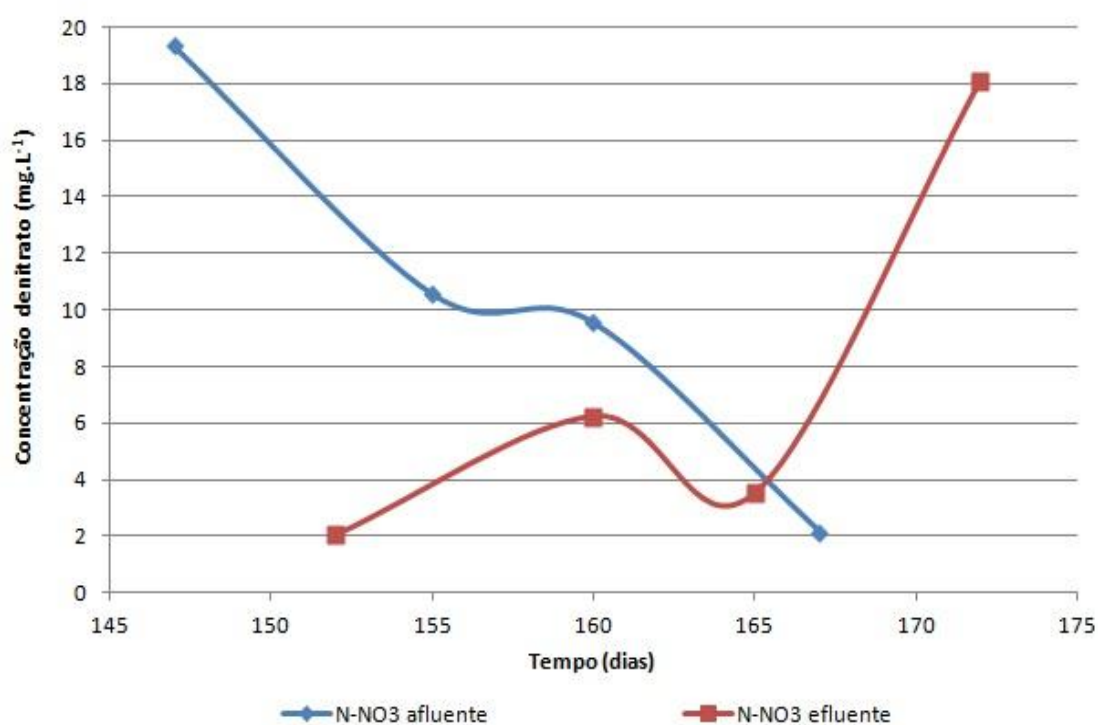


Figura 25 - Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante os 26 dias de operação com efluente industrial.

Pela análise da Figura 23, ficou claro que houve remoção de nitrogênio amoniacal em todo o período no qual o sistema operou com efluente bruto; na média, a eficiência de remoção foi de 67%. Porém observou-se que, pelas concentrações efluentes cada vez maiores, esta remoção se deu de forma muito desigual, diminuindo sua eficiência em termos de porcentagem, a medida que o tempo foi passando. Concomitantemente observou-se uma formação de nitrato no reator (conforme destaca a Figura 25).

Comparando os resultados obtidos com a reação *Anammox* (Equação 5) foi detectado que essa fase apresentou uma tendência à produção de nitrato (Figura 25) e ao consumo de nitrito (Figura 24). Porém, esses fenômenos não aconteceram nas proporções estequiométricas ideais, e isto, associado aos baixos valores de remoção de N-amoniacal nos últimos dias de operação, pode indicar que o sistema estaria entrando numa fase de conversão de N-amoniacal e nitrito a nitrato, e não a total conversão destes em $N_{2(g)}$. Ademais, a menor eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal pode ser justificada pela existência de matéria orgânica em excesso contida no efluente bruto, já que a mesma proporciona a proliferação de outras bactérias que não são direcionadas para remoção de compostos nitrogenados.

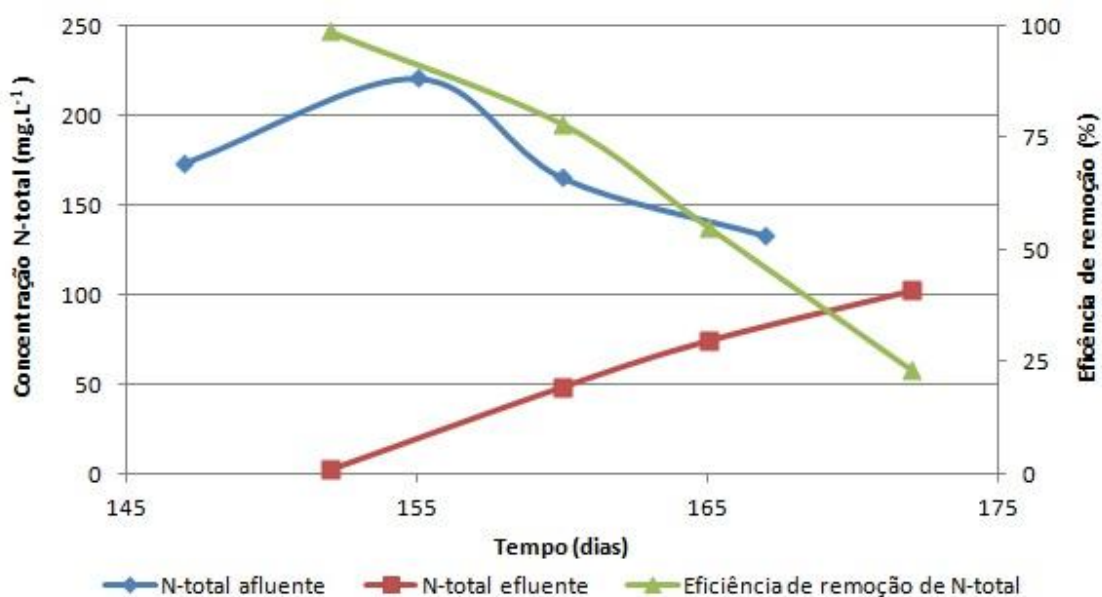


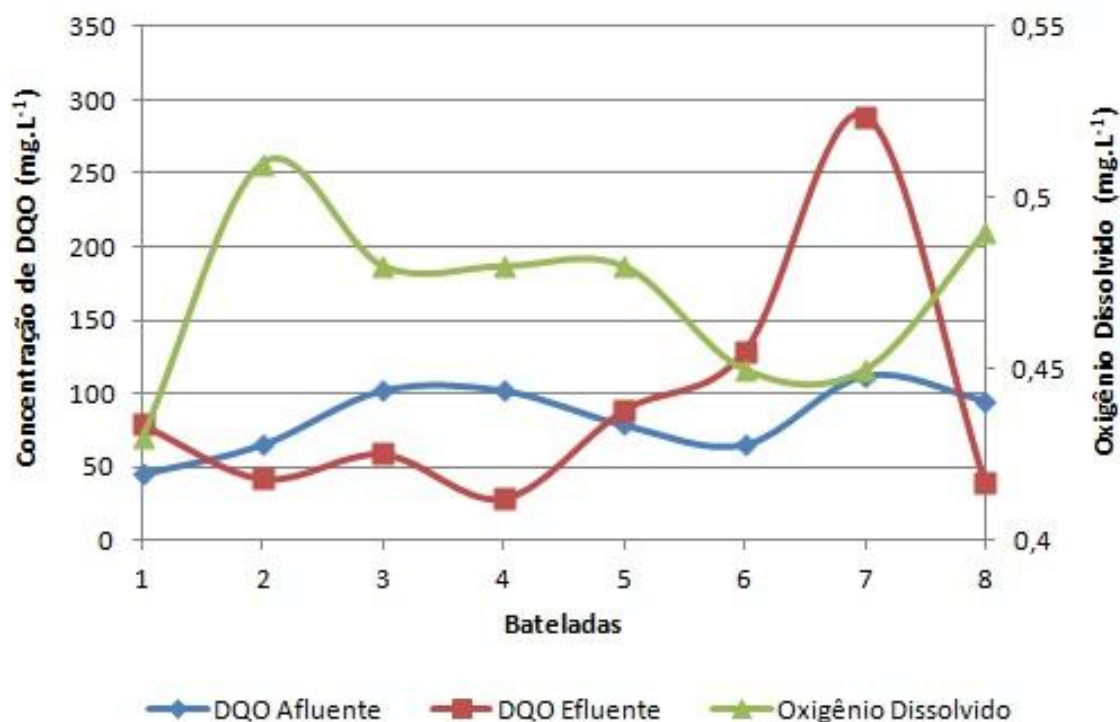
Figura 26 - Perfil do nitrogênio total na fase de operação com efluente industrial.

Como o composto nitrogenado mais predominante no sistema é o N-amoniacal, o nitrogênio total (Figura 26) comportou-se de forma similar, ressaltando a queda de eficiência na remoção de nitrogênio ao longo do período.

5.3 DQO

A DQO é um parâmetro amplamente empregado como indicador do conteúdo orgânico de águas residuais e superficiais, e bastante utilizada no monitoramento de estações de tratamento de efluentes líquidos (Aquino *et al.*, 2006). Além disso, sua vantagem é a rapidez, dura um pouco mais de duas horas, enquanto que a DBO leva 5 dias (VALENTE *et al.*, 2011).

A DQO foi monitorada somente nas fases 1 e 3 deste trabalho. Isso foi feito com o intuito



de avaliar qual a importância da remoção de DQO em cada uma destas fases e assim, estabelecer uma maneira de analisar a influência de microrganismos competidores, especialmente as bactérias aeróbias oxidadoras de nitrogênio. Nas Figuras 27 e 28 encontram-se os comportamentos da DQO nas fases 1 e 3, respectivamente.

Figura 27 – Variação da DQO afluyente, efluente e do oxigênio dissolvido durante a Fase 1.

O comportamento da DQO variou bastante comparando-se as fases 1 e 3. No primeiro caso (Figura 27), o meio de cultivo sintético adotado apresentava baixas cargas afluentes de DQO e este fator, juntamente com o controle da concentração de OD no reator, permitiram que houvesse ausência de remoção de DQO em várias bateladas (principalmente após a 5ª). Isto é muito interessante para o desenvolvimento das bactérias Anammox, pois indica que as bactérias oxidadoras aeróbias não têm uma fonte de carbono presente, ou seja, não há de onde elas obterem a energia para sua atividade biológica; abrindo espaço então, para o desenvolvimento das bactérias Anammox.

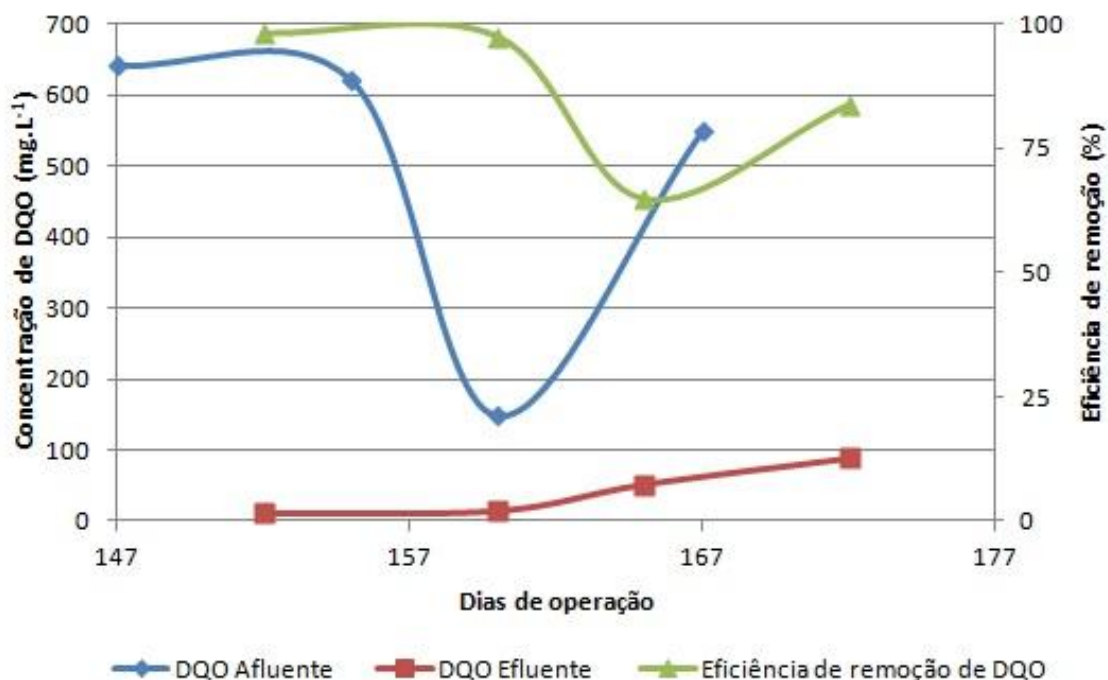


Figura 28 – Variação da concentração de DQO no afluente, efluente e eficiência de remoção de DQO durante a fase 3.

Pela observação da Figura 28, notou-se que, diferentemente da primeira fase, ocorreu uma grande variação das concentrações afluentes de DQO, devido às grandes variações que advêm do cotidiano produtivo da empresa; uma vez que o abate de bovinos só acontece em determinados dias da semana; sendo que nos demais, o efluente é composto basicamente pela água oriunda da lavagem dos setores produtivos e dos instrumentos. Além disso, as cargas afluentes as quais o sistema foi submetido nesta última fase são bem mais elevadas do que nas fases anteriores (como observou-se na Figura 27) e isto fez com que ocorresse uma mudança brusca no perfil do sistema. Na fase anterior, observou-se uma tendência à formação de DQO e nesta, ao contrário, detectou-se a sua remoção, atingindo uma eficiência média de 71%, o que serve como suposição da presença e ativação de microrganismos competidores.

5.4 Oxigênio Dissolvido e pH

O monitoramento do oxigênio dissolvido é um dos mais importantes para a garantia da ocorrência do processo *Anammox*, uma vez que tal microrganismo necessita de condições anaeróbias para executar seu metabolismo. A variação das concentrações de OD em todo o período experimental está representada abaixo (Figura 29).

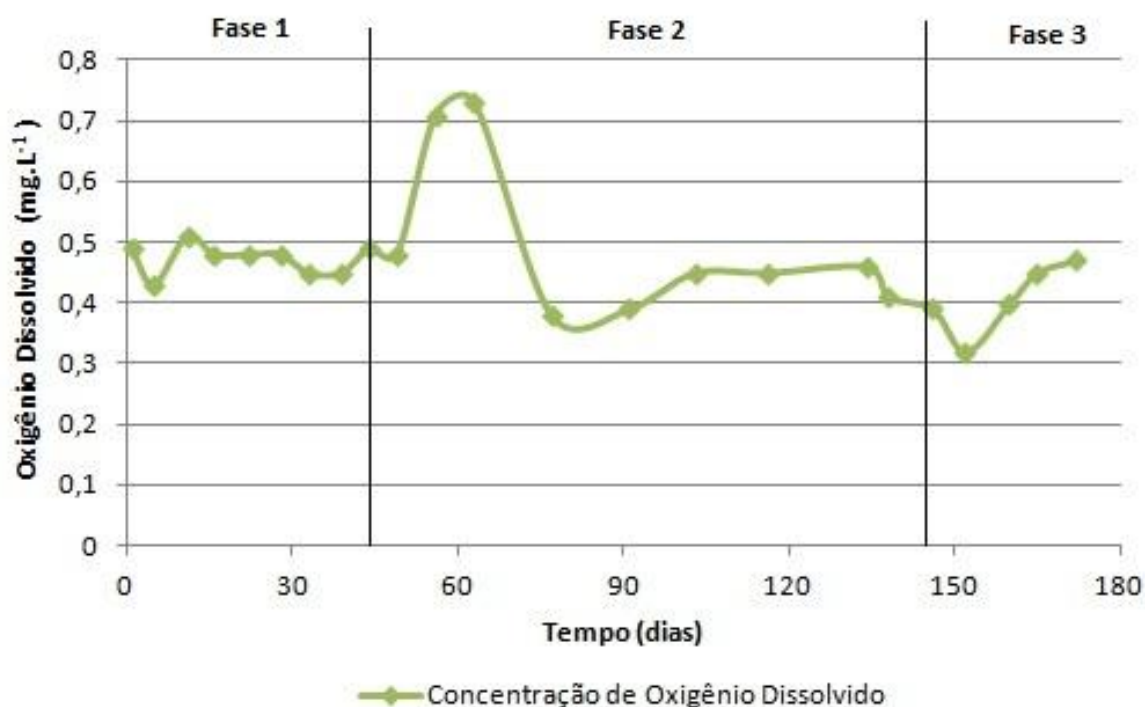


Figura 29 – Perfil das concentrações de OD durante todo o período de operação do reator.

Através desta figura foi observado que durante a Fase 1, as concentrações de OD mantiveram-se abaixo de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, ou seja, as remoções de nitrogênio amoniacal e nítrito ocorreram em um meio anaeróbio, propício à sobrevivência de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia. Entretanto, durante a fase seguinte, houve uma contaminação por OD no líquido afluente e esta, aumentou rapidamente a concentração de OD no interior do reator (em torno do 55º dia de operação). Após este período, verificou-se a manutenção de níveis de OD inferiores a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ até o final do experimento.

O comportamento do pH durante toda a operação do sistema pode ser visualizado na Figura 30.

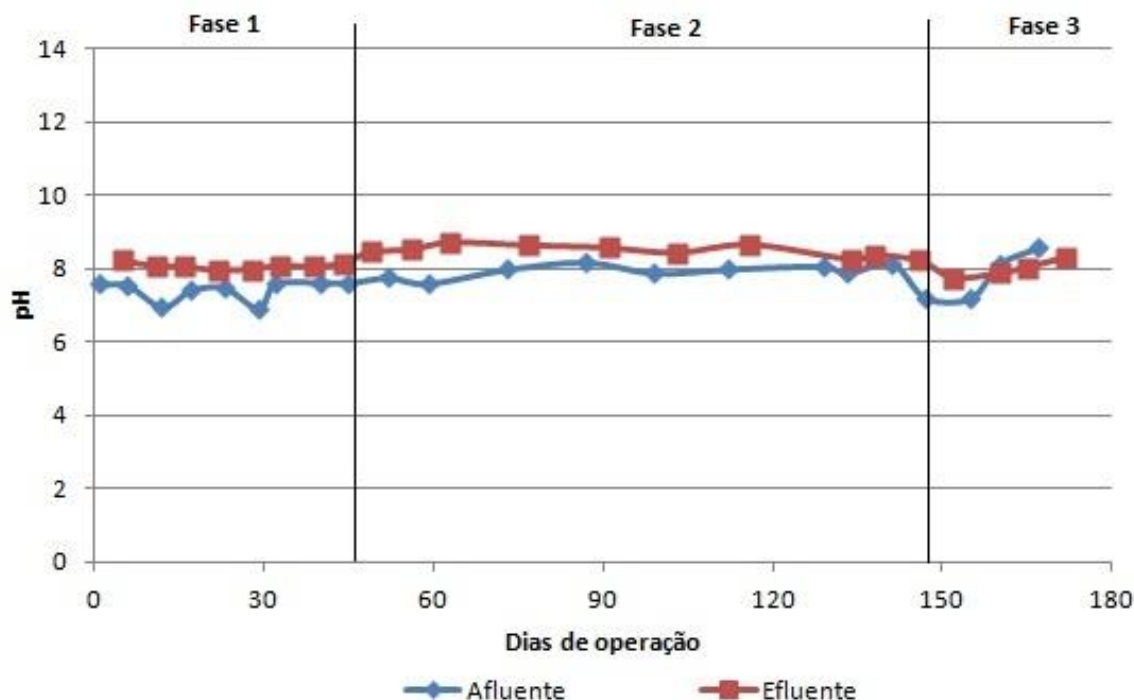


Figura 30 – Variação do pH no afluente e efluente durante todo o período experimental.

Verificou-se uma variação mais ampla de pH entre as amostras afluentes do que as efluentes, uma vez que esse parâmetro também sofreu alterações, sendo que nas fases 1 e 2 o afluente tinha composição distinta do afluente da fase 3. O afluente apresentou um valor médio de pH de 7,69 e o efluente, um pH médio de 8,23 (mais alcalino). Esses valores estão na faixa ótima para o desenvolvimento dos microrganismos quimioautototróficos *Anammox* (SCHIERHOLT NETO, 2007).

5.5 Remoção de Nitrogênio amoniacal – Visão Geral

Seguem abaixo as Figuras 31, 32 e 33 que retratam, respectivamente, os comportamentos do nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato nos 172 dias de operação do reator, tanto sobre o ponto de vista da carga afluente quanto da efluente.

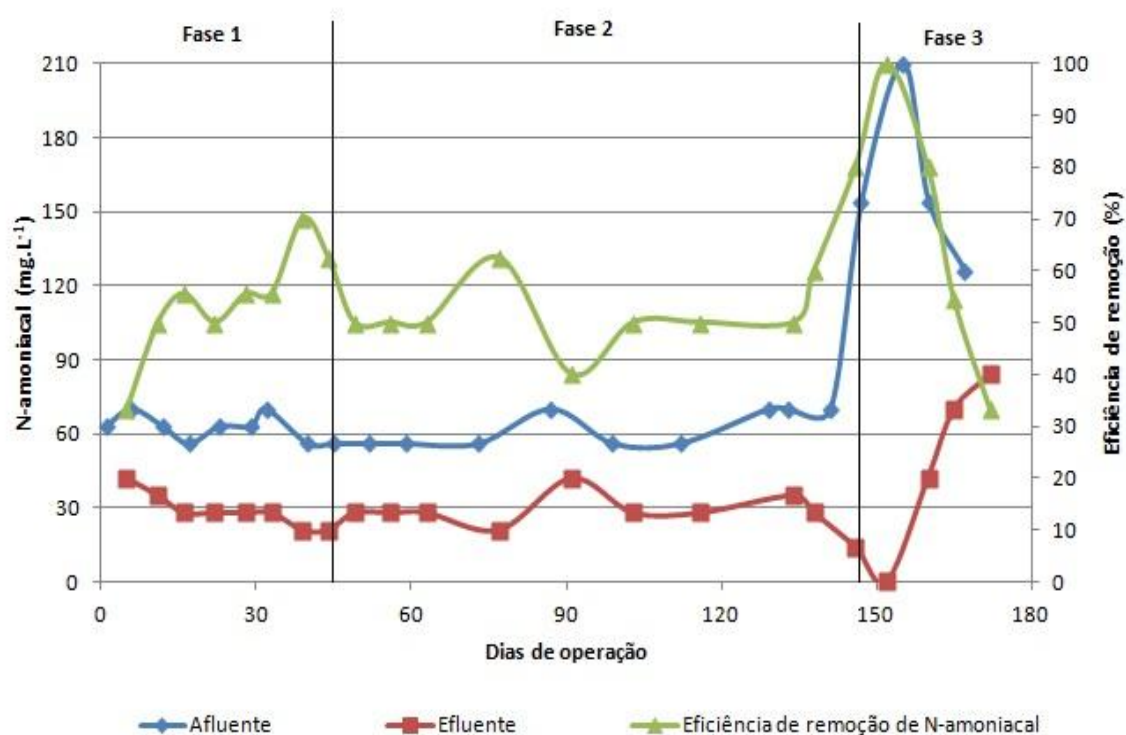


Figura 31 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio amoniacal e da sua eficiência de remoção durante todo o período experimental.

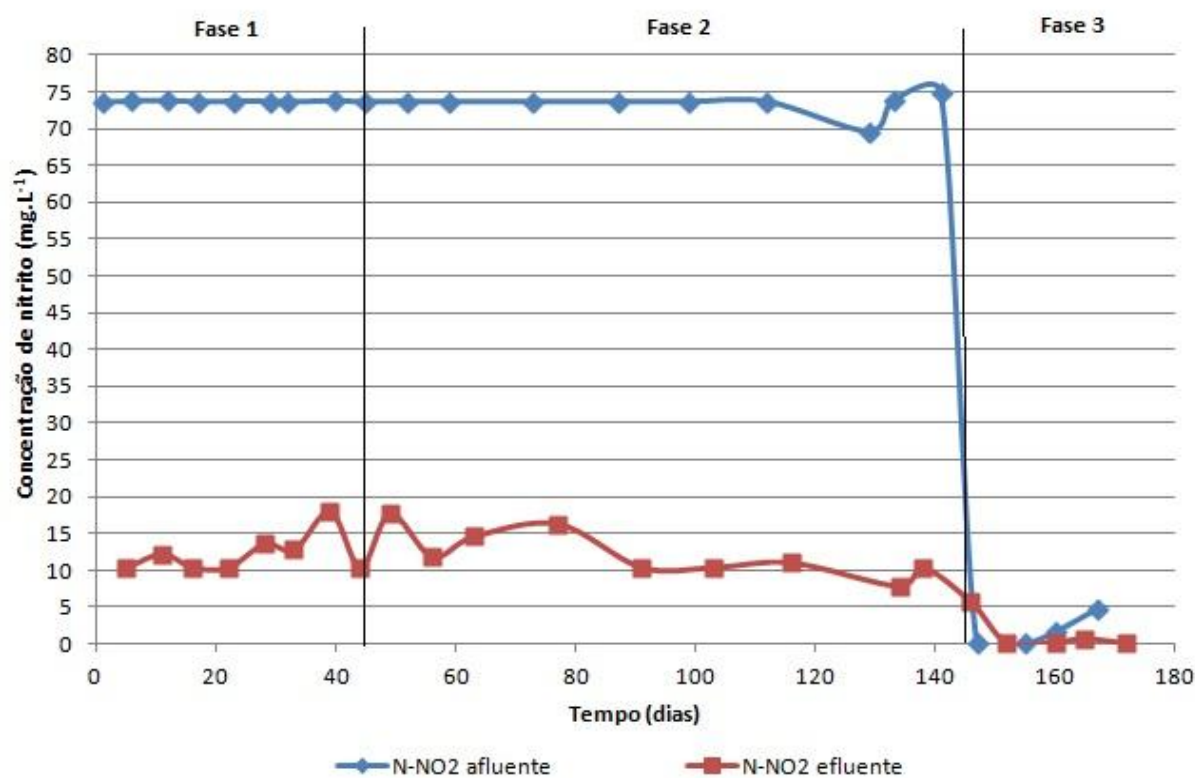


Figura 32 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrito durante todo o período experimental.

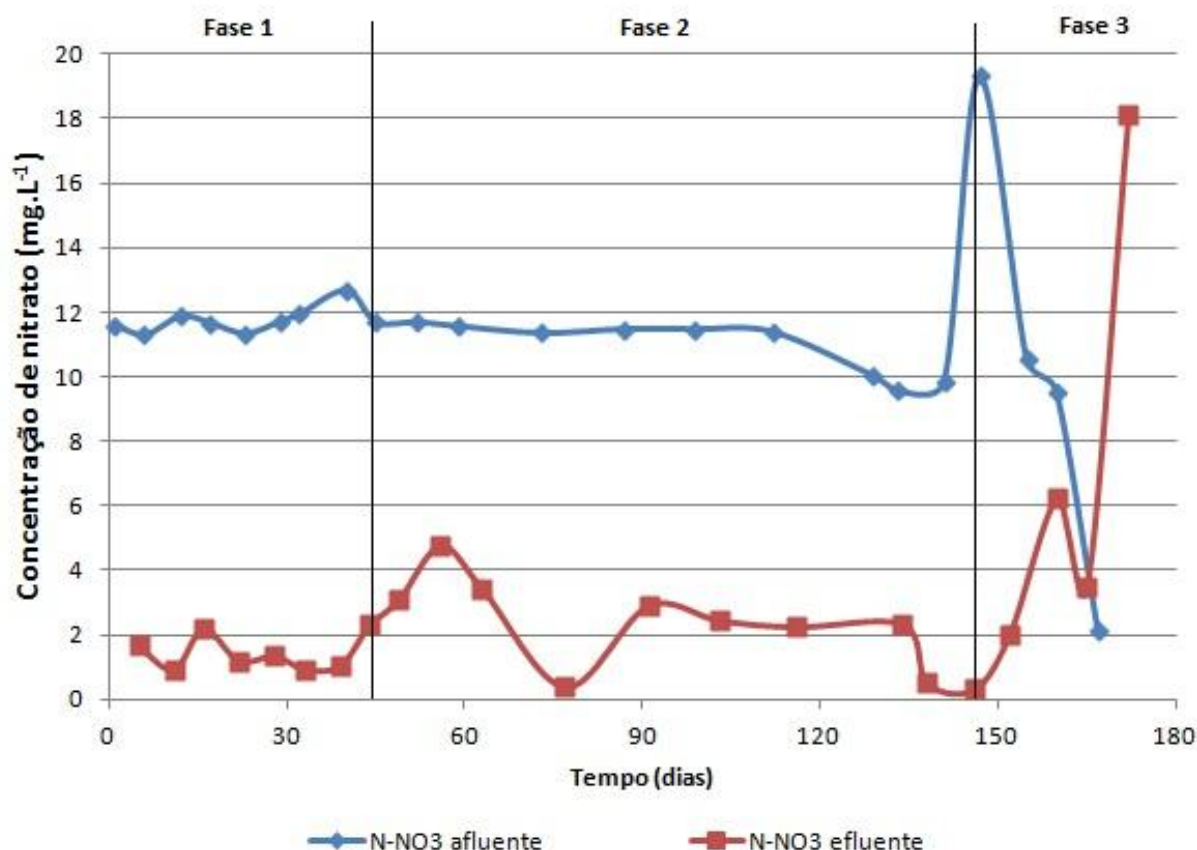


Figura 33 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrato durante todo o período experimental.

Observando tais figuras percebeu-se que, no geral, o desempenho do reator foi satisfatório quanto à remoção de N-amoniaco. Apenas três pontos apresentaram uma eficiência de remoção inferior a 50% e isto foi decorrente do fato que, o primeiro ponto com baixa eficiência refere-se ao início de operação do sistema, no qual já era esperado este comportamento devido aos problemas de adaptação e início das atividades; o segundo, à mudança de vazão recalcada pelo sistema (passou de $0,092 \text{ L.h}^{-1}$ para $0,080 \text{ L.h}^{-1}$) e o último ponto, pelo acúmulo de matéria orgânica no reator, impulsionando a atuação de outras bactérias em detrimento das bactérias removedoras de nitrogênio.

Como foi identificada a presença simultânea de nitrogênio amoniacal e nitrito nas amostras afluentes das fases 1 e 2, uma rota alternativa de conversão destes compostos a $\text{N}_{2(g)}$ pode ter surgido no meio (além do processo *Anammox*), pois segundo Cervantes *et al.* (2001) em ambiente anaeróbico, o nitrogênio amoniacal pode atuar como doador de elétrons auxiliar, formando NO_2^- e este promover a desnitrificação com baixíssimas concentrações de produtos intermediários; este processo é conhecido como desnitrificação curta.

No entanto, como o objetivo deste trabalho foi o de estabelecer condições para o enriquecimento da cultura *Anammox*, elaborou-se a Tabela 14, a qual relaciona as cargas de N-NH_4^+ e N-NO_2^- removidas durante o experimento e suas respectivas proporções, servindo

então como base para a comparação à estequiometria *Anammox* descrita por Van de Graaf *et al.* (1996):

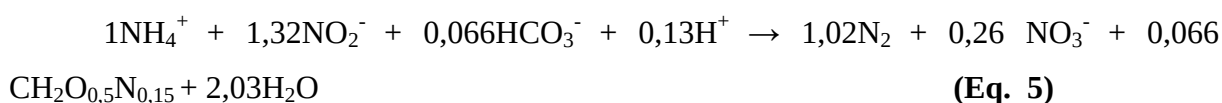


Tabela 14 - Valores de Remoção de nitrogênio nas formas de N-NH₄⁺ e de N-NO₂⁻ e proporção de remoção.

Fase	Tempo (dias)	Remoção		Proporção N-NH ₄ ⁺ : N-NO ₂ ⁻
		mg N-NH ₄ ⁺ . L ⁻¹	mg N-NO ₂ ⁻ . L ⁻¹	
FASE 1	5	21	63	1 : 3
	11	35	61	1 : 1,74
	16	35	63	1 : 1,8
	22	28	63	1 : 2,25
	28	35	60	1 : 1,71
	33	35	61	1 : 1,74
	39	49	56	1 : 1,14
	44	35	63	1 : 1,8
FASE 2	49	28	56	1 : 2
	56	28	62	1 : 2,21
	63	28	59	1 : 2,11
	77	35	57	1 : 1,63
	91	28	63	1 : 2,25
	103	28	63	1 : 2,25
	116	28	62	1 : 2,21
	134	35	62	1 : 1,77
	138	42	63	1 : 1,5
	146	56	69	1 : 1,23
FASE 3	152	154	0	*n.a.
	160	168	0	*n.a.
	165	84	1	1 : 0,012
	172	42	5	1 : 0,12

*n.a = valores não aplicáveis

Uma análise inicial desta tabela permite deduzir que as Fase 1 e 2 apresentaram resultados de remoção de N-amoniaco e nitrito satisfatórios, como já foi citado nos itens anteriores deste trabalho. Além disso, notou-se que na Fase 3 houve valores não aplicáveis (n.a.), porque as concentrações efluentes de nitrito foram maiores do que as concentrações afluentes, fazendo com que não houvesse a remoção desse composto nas duas análises iniciais.

Assim, observou-se que entre o 116º e o 146º dia de operação (final da Fase 2), o reator apresentou uma tendência de proximidade com a proporção N-NH₄⁺ : N-NO₂⁻ esperada, (como já foi citado no item 5.2.2) servindo com indicativo da remoção via *Anammox*, uma vez que houve o consumo simultâneo de nitrito e N-amoniaco. Araújo *et al.*

(2010) detectaram o aparecimento da atividade *Anammox* a partir do 87º dia de operação de um reator em batelada sequencial, o qual apresentou eficiências de remoção de N-NH_4^+ e N-NO_2^- próximas a 90%, caracterizando assim, uma relação de 1: 1,26 ($\text{N-NH}_4^+ : \text{N-NO}_2^-$).

Porém, quando o sistema passou a operar com a água residuária proveniente do frigorífico bovino, a carga de nitrito afluente diminui bastante, ao passo que a de N-amoniacal triplicou; causando um total desequilíbrio nas atividades metabólicas das bactérias que até então eram adaptadas ao sistema. O efeito instantâneo desta mudança brusca foi refletido na eficiência de remoção de N-amoniacal e, pelos resultados obtidos, pôde-se concluir que o início de via *Anammox* foi inibido.

A Figura 34 retrata de maneira ampla o comportamento do N-total nas amostras afluentes e efluentes, uma vez que relaciona os resultados obtidos durante todo o período experimental. Assim, pode-se comprovar a influência dos organismos competidores no reator, pois durante as fases de operação com meio de cultura sintético, o qual apresentava uma concentração baixa de DQO afluente, a remoção de compostos nitrogenados como um todo manteve-se com uma eficiência média, em termos de porcentagem, de 60%. Já na Fase 3, caracterizada pela operação com efluente industrial rico em matéria orgânica (expressa em função da DQO e da DBO), ficou evidente a queda brusca na eficiência de remoção de compostos nitrogenados devido à presença de microrganismos competidores, os quais impulsionaram a remoção de DQO (como foi discutido no item 5.3) em detrimento da remoção de N-total.

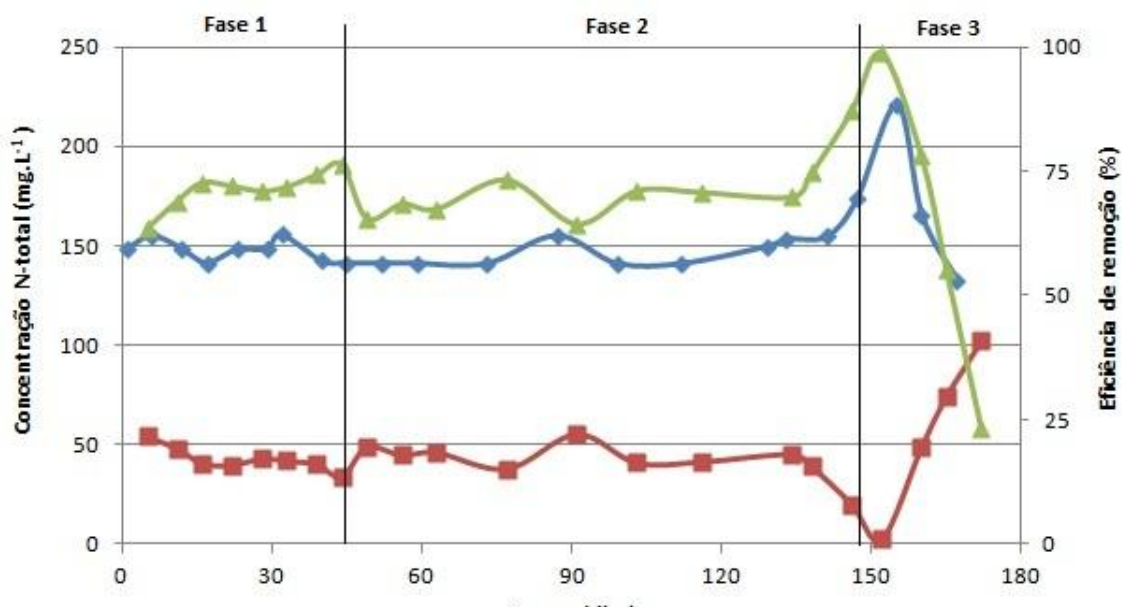


Figura 34 – Variação das concentrações afluente e efluente de nitrogênio total e da sua eficiência de remoção durante todo o período experimental

5.6 Análises Térmicas

Primeiramente, analisaram-se os pedriscos limpos, ou seja, aqueles que foram inicialmente introduzidos no sistema reator, com o intuito de criar um parâmetro de comparação para as demais amostras retiradas do sistema no decorrer do projeto e que teoricamente, devem apresentar uma quantidade de material biológico agregado com o passar do tempo. Os gráficos representados abaixo trazem as informações de perda de massa dos ensaios em duplicata.

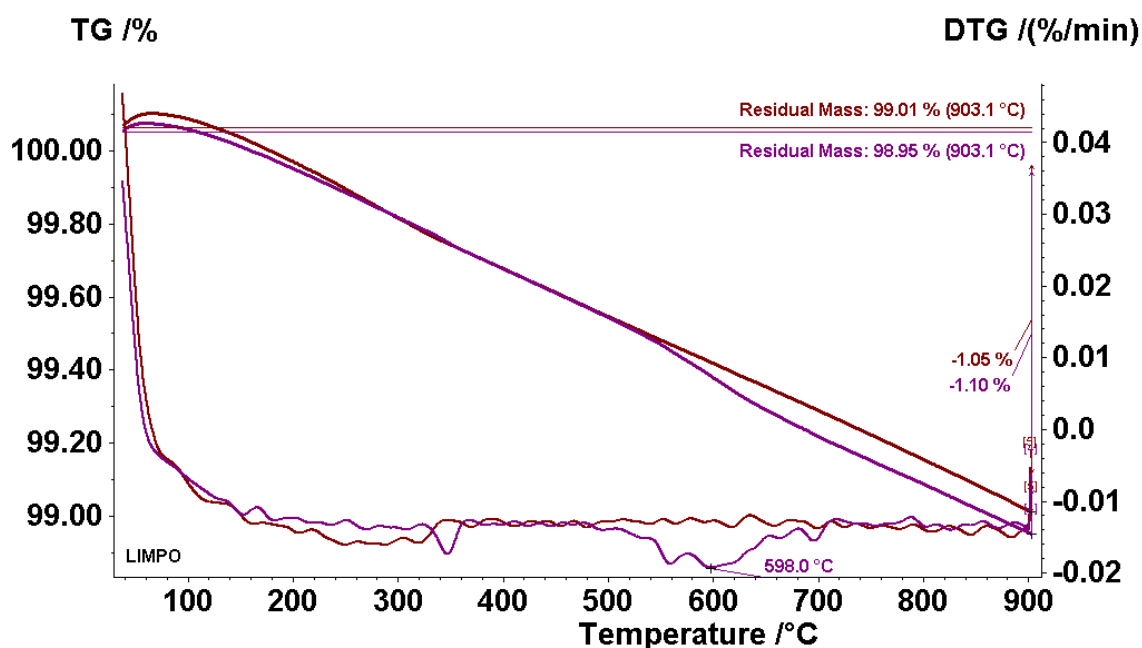


Figura 35 – Análise de tratamento térmico com o pedrisco limpo.

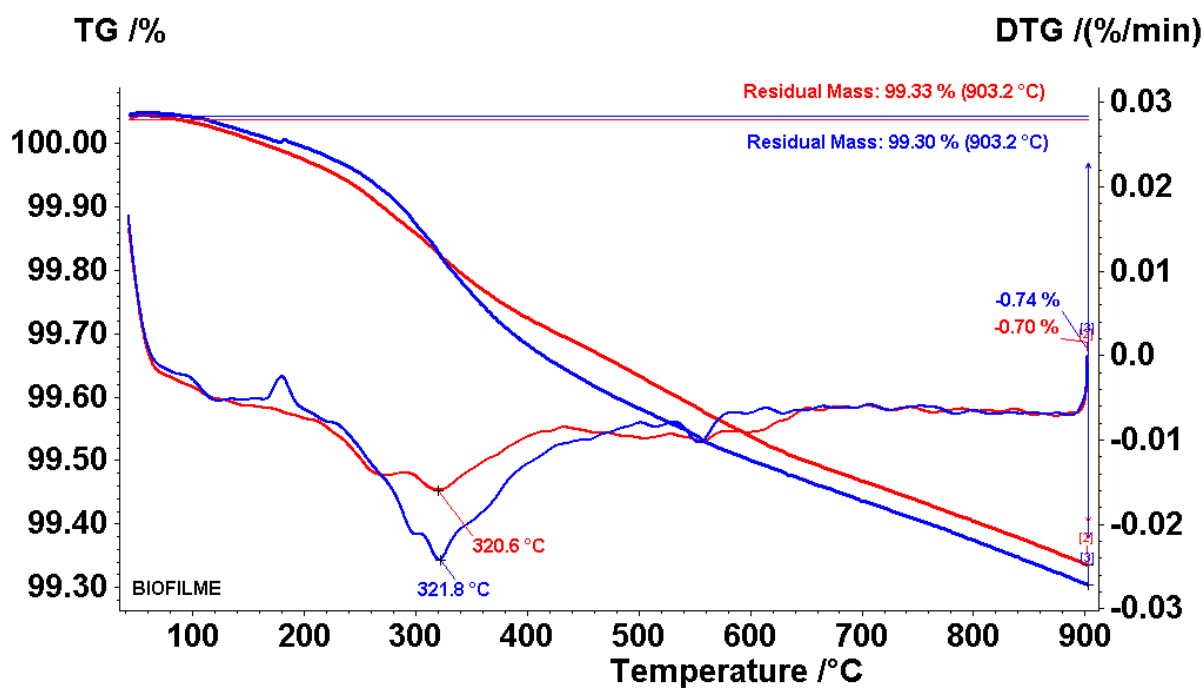


Figura 36 – Análise do tratamento térmico com o pedrisco retirado do reator enquanto este operava na Fase 1.

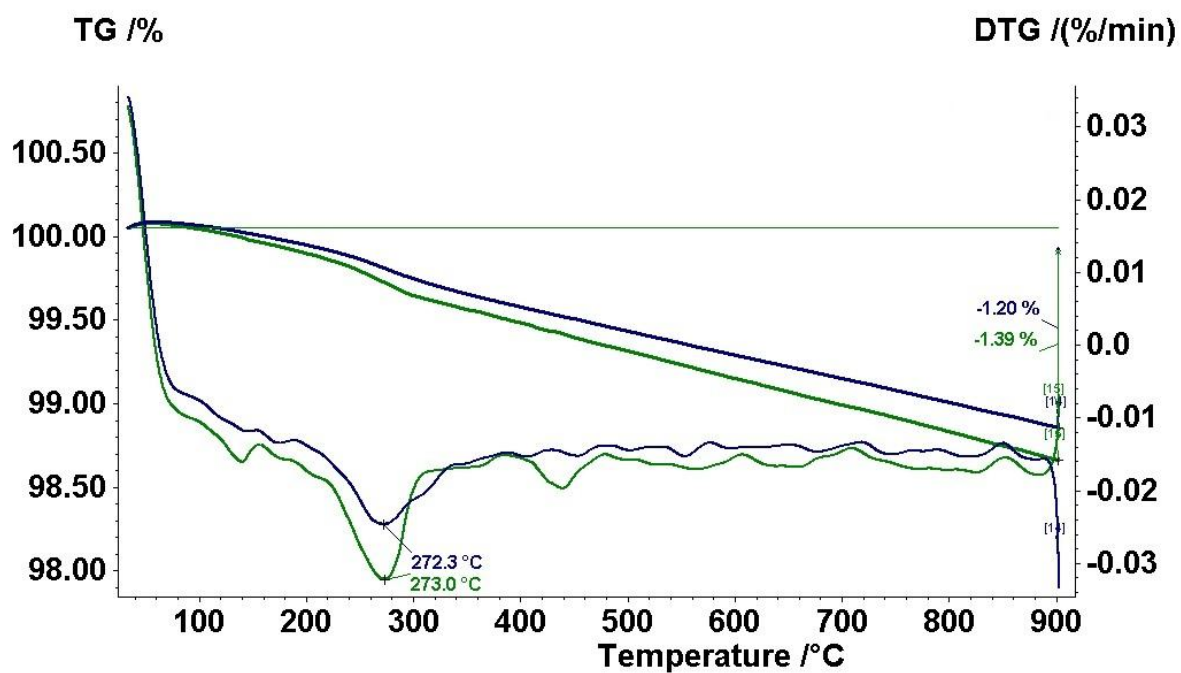


Figura 37 - Análise do tratamento térmico com o pedrisco retirado do reator enquanto este operava a Fase 2.

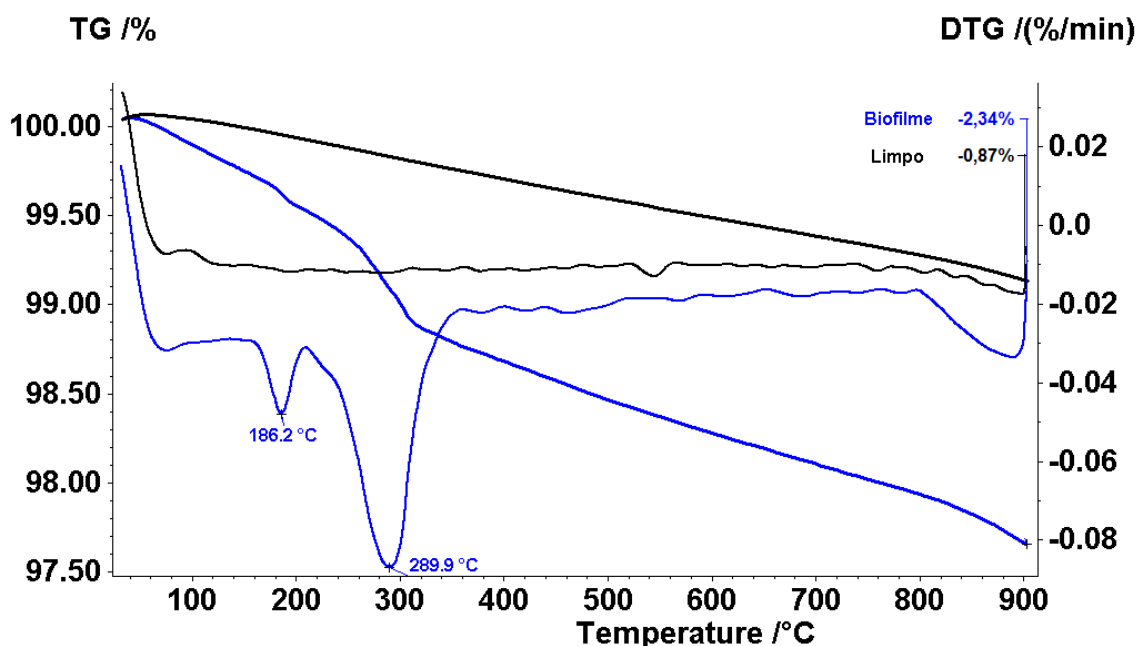


Figura 38 - Análise do tratamento térmico com pedrisco retirado do reator ao final da Fase 3.

Observando-se a Figura 35, pôde-se notar que o pedrisco limpo, nos dois ensaios, não apresentou uma perda de massa significativa (1,05% e 1,10%) e que a mesma, por meio da observação das curvas das derivadas, aconteceu de forma contínua à medida que a temperatura no interior do aparelho aumentava.

No caso da amostra retirada no dia 10 de fevereiro (Figura 36), observou-se uma perda de massa um pouco menor do que a perda do pedrisco limpo (correspondente, de acordo com o ensaio em duplicata, a 0,74% e 0,70%). Porém, pela existência de pontos de mínimos bem evidentes nas curvas das derivadas deduzindo que havia vestígios de matéria orgânica agregados ao meio suporte na época, no entanto, esta matéria orgânica ainda não havia atingido um peso significativo para influenciar na percentagem total de perda de massa.

A análise da Figura 37 mostra uma perda de massa mais significativa do que no caso da amostra anterior (relativa a 1,20% e 1,39%), comprovando que está ocorrendo uma formação lenta, porém progressiva de biofilme sobre o material suporte utilizado no reator. Cabe lembrar, que do mesmo modo que na amostra retirada em 10 de fevereiro, a perda de massa ficou concentrada na região característica da queima de material orgânico (bacteriano), ou seja, próxima aos 300°C.

Além disso, não se pode deixar de considerar a possibilidade de que, durante a retirada do material para as análises térmicas, tenha ocorrido a colisão deste com os demais grãos e até mesmo com as paredes do sistema, ocasionando um desprendimento de biofilme. De acordo

com Gjaltema *et al.* (1997), o desenvolvimento do biofilme é determinado pelo equilíbrio entre crescimento e desprendimento de biomassa; a alteração deste equilíbrio interfere na espessura do biofilme. O desprendimento do biofilme pode ser provocado por colisões do meio suporte com as paredes entre si, por tensões de cisalhamento e por borbulhamento de gás.

Já numa análise final, a Figura 38 mostra a variação de perda de massa do biofilme na fase 3, comparando uma nova amostra de pedrisco limpo com uma amostra de biofilme no término das atividades. O resultado obtido nessa amostra é bem mais significativo do que nas amostras referentes às fases anteriores, com uma perda de 2,34%. Além disso, houve picos de perda mais representativos nas temperaturas próximas de 300°C e 190°C, confirmando novamente a região característica de queima de material orgânico (bacteriano) e acentuando uma nova região de perda de massa, porém não é maior do que a de 300°C.

5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma ferramenta muito utilizada para analisar as microestruturas presentes em um material. Sua aplicabilidade pode ser feita em vários tipos de amostras, inclusive as biológicas, podendo identificar os microrganismos existentes. Então, por meio da MEV foi possível verificar se havia material aderido ao meio suporte (pedriscos) retirado do reator, após 170 dias de operação. Foram analisadas cinco amostras, sendo que uma dessas amostras era limpa.

Na Figura 39, apresentou-se a amostra de pedrisco limpa, ou seja, apenas a sua superfície mineral ausente de material orgânico, servindo como parâmetro de comparação para posteriores amostras, pois se pôde perceber que a superfície do pedrisco limpo é mais uniforme e não apresenta rugosidade.

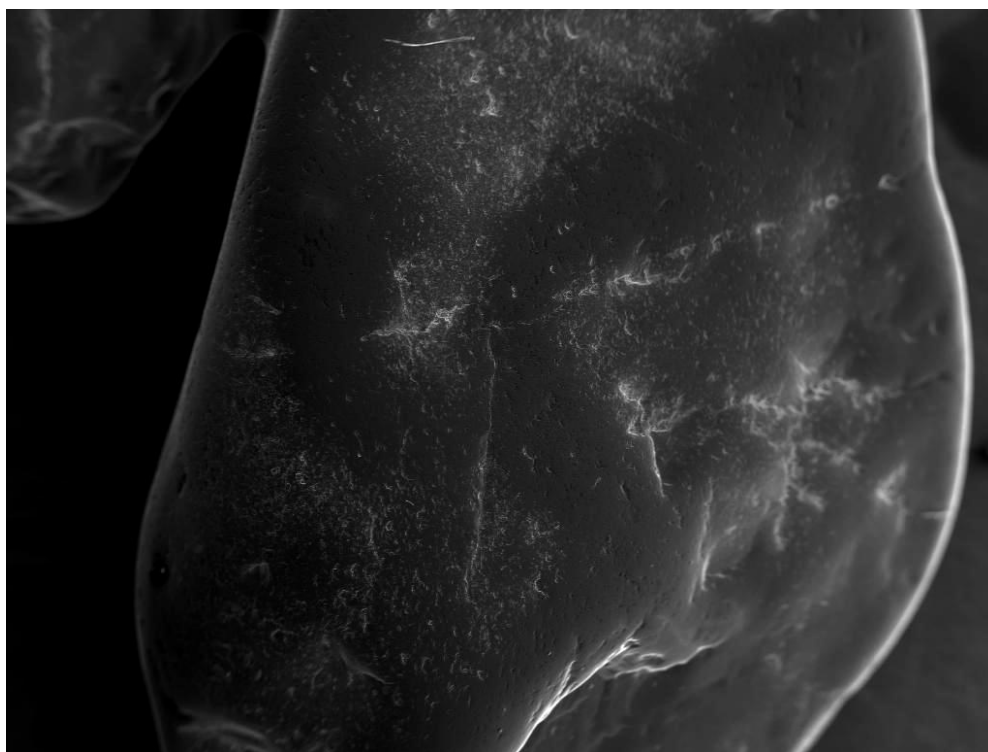


Figura 39 – Micrografia eletrônica de pedrisco limpo. Aumento: 50x.

Já nas Figuras 40, 41, 42 e 43, observou-se que todas têm a presença de biofilme, sendo bem visível a diferença entre material aderido e pedrisco na Figura 40 com um aumento de 2000 vezes – na parte direita da figura apresenta o biofilme e na parte esquerda o mineral.

Um detalhe desse mesmo biofilme é visualizado na Figura 41 (aumento de 5000 vezes), permitindo caracterizar visivelmente esse material como uma superfície bem disforme, e evidenciando assim, uma diferença com o pedrisco.

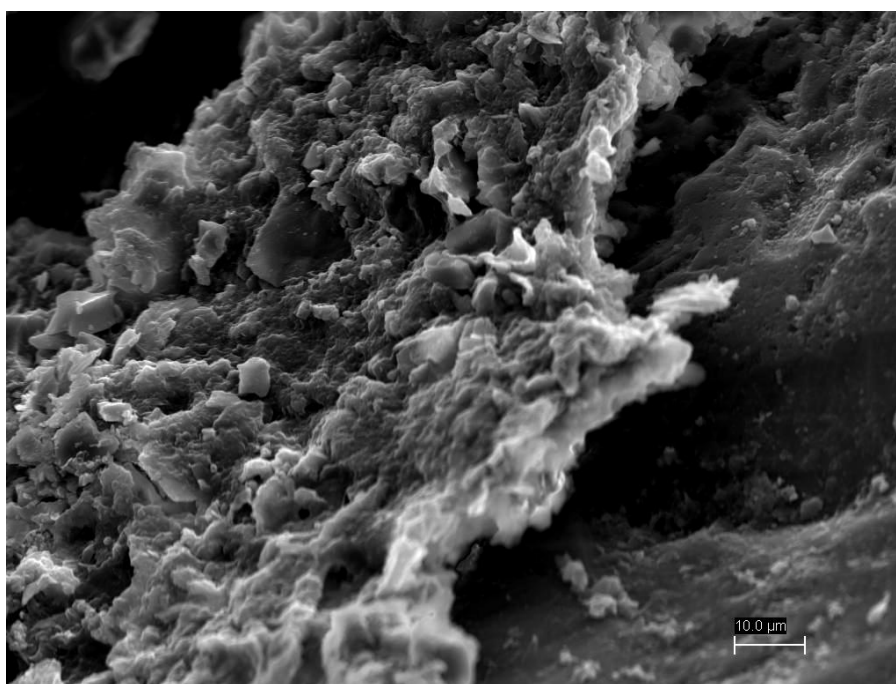


Figura 40 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco. Aumento: 2000x.

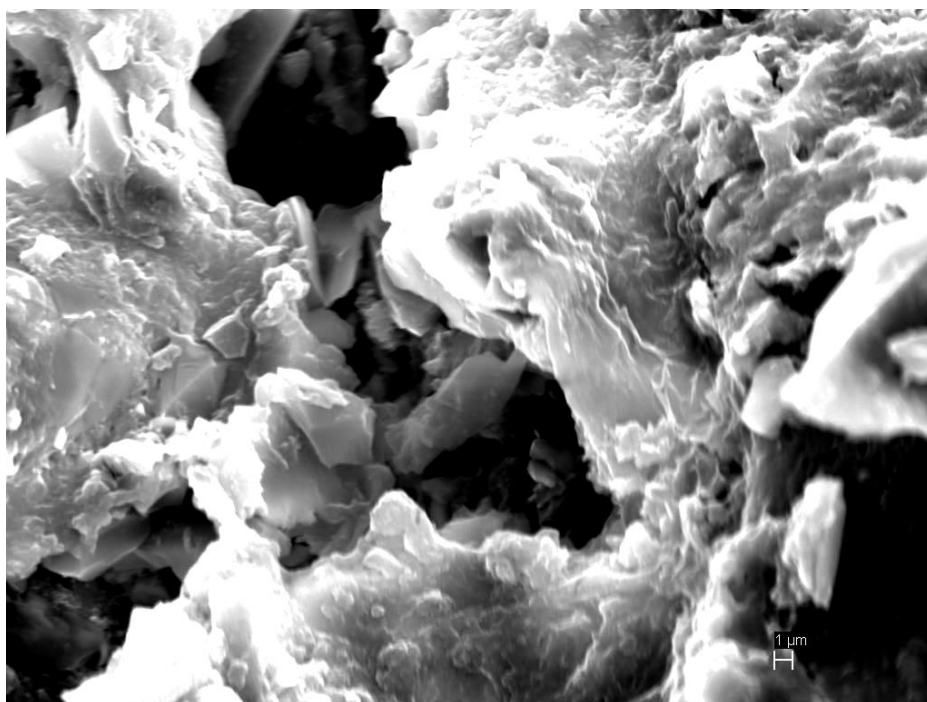


Figura 41 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco. Aumento: 5000x.

As Figuras 42 e 43 retrataram uma mesma região, com um aumento de 5000 vezes (Figura 42) e com aumento de 10000 vezes (Figura 43).

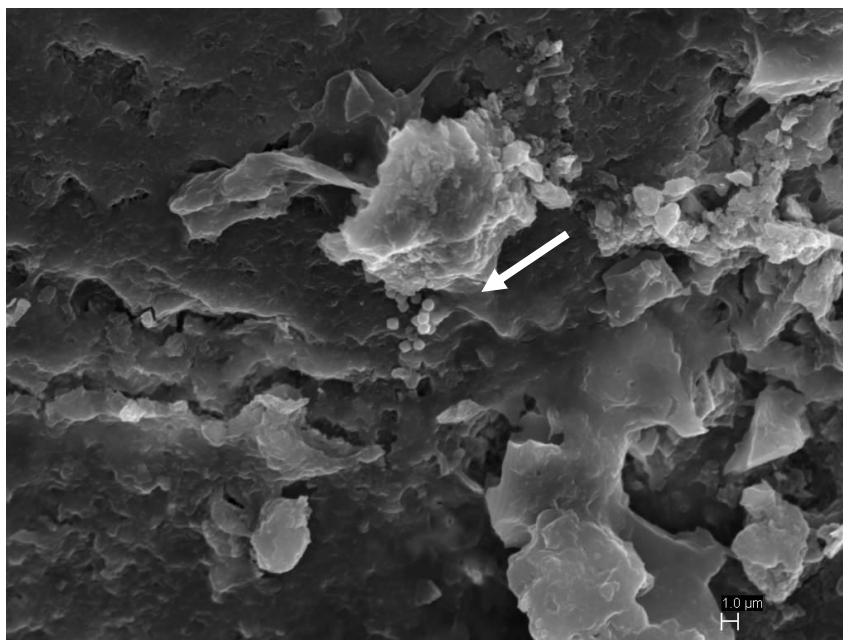


Figura 42 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco com possível presença de cocos. Aumento: 5000x.

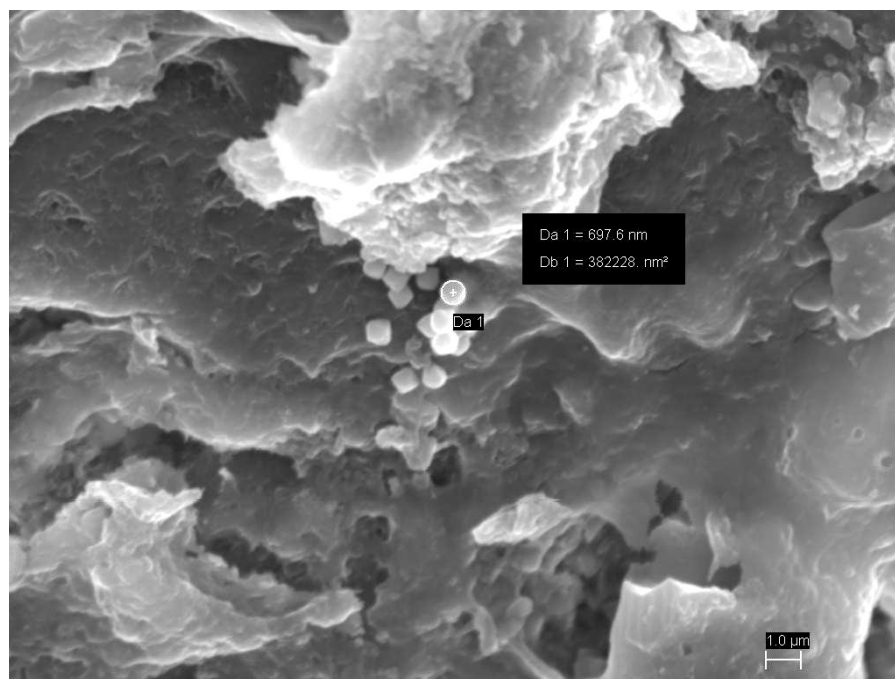


Figura 43 – Micrografia eletrônica de biofilme aderido ao pedrisco com possível presença de cocos. Aumento: 10000x.

Foi possível identificar estruturas semelhantes a bactérias *Anammox* isoladas tipo cocos. A Figura 43 traz a informação de que as células encontradas têm aproximadamente 0,7 micrômetros de diâmetro, compatível ao diâmetro médio das células *Anammox* descrito nos estudos de Van Niftrik *et al.* (2004).

A julgar pela pequena quantidade de células tipo cocos visualizada, comprovou-se um baixo desenvolvimento das bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia, o que pode ser explicado pelo lento crescimento destas. Segundo Jetten *et al.* (1999) e Toh *et al.* (2002) pode-se levar de três meses a mais de um ano para se obter uma cultura enriquecida e estabilizada. Portanto, as micrografias descritas acima confirmaram a presença de biofilme e de bactérias no reator em questão, porém não comprovaram que a remoção de nitrogênio amoniacal identificada neste trabalho foi realizada por organismos *Anammox*, mas sim por um consórcio bacteriano mais diversificado.

6. CONCLUSÕES

Diante a todas as informações obtidas na execução deste trabalho, concluiu-se que:

- Através da análise dos resultados obtidos durante os 172 dias de operação contínua do reator biológico, ainda não pode ser confirmada a remoção anaeróbia de nitrogênio amoniacal por meio de bactérias *Anammox*. Porém, em maior parte do período, detectaram-se taxas de remoção de N-amoniacal superiores a 50%, as quais associadas à manutenção de um ambiente anóxico, proporcionaram a otimização do tratamento no reator; sendo o melhor desempenho identificado nos últimos dias da fase sem recirculação de meio de cultivo (Fase 2).
- Na Fase 2, obteve-se valores de proporção de remoção de $\text{N-NH}_4^+ : \text{N-NO}_2^-$, em média de 1:1,69, apresentando assim, uma tendência de proximidade aos coeficientes estequiométricos estabelecidos na equação *Anammox* de Strous *et al.* (1998), com estequiometria de 1:1,32.
- Pelas análises térmicas realizadas no decorrer do experimento, comprovou-se a retenção de material biológico (biofilme) agregado ao meio suporte, devido à queima da maior parte da massa próximo de 300°C.
- Através da análise de MEV, foi possível identificar bactérias com morfologia semelhante a cocos, encontradas nas principais literaturas sobre bactérias *Anammox*.
- No final deste trabalho (Fase 3), foi adotado como afluente o efluente de um frigorífico bovino que apresentou altas concentrações de matéria orgânica. Desse modo, não se obteve resultados satisfatórios quanto à remoção de nitrogênio amoniacal, uma vez que o sistema passou a priorizar a remoção de DQO do que a de compostos nitrogenados. Portanto, concluiu-se que efluentes com essas características não são adequados ao sistema de tratamento em questão.
- Recomendações para continuidade da pesquisa: para melhor identificação das bactérias presentes pode ser realizada a coloração de GRAM, análises bioquímicas, como citrato ou indol; já em relação à operação do reator, utilizar um maior tempo de detenção hidráulica para estabilizar a circulação e otimizar a eficiência; e na terceira fase desse experimento, conseguir um efluente com uma DQO menor, assim, influenciando menos nos resultados esperados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMASRI, M. Nitrate contamination of groundwater: A conceptual management frame work. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 27, n.3, p. 220-242, 2007.

AMORIN, D.G.; DADAMO, L.F. **Estudo do Desempenho de Reator Sequencial Aeróbio de Leito Fluidificado no pós-tratamento das águas residuárias de um frigorífico**. 2008. 101 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente.

ANDRADE NETO, C. O.; GUIMARÃES, P.; PEREIRA, M. G.; MELO, H. N. S. Decanto-Digestor Seguido de Filtros Anaeróbios de Fluxo Ascendente e Descendente Afogados. In: 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999, p. 37-46.

APHA. **Standart Methods – For the examination of water and wastewater**, 21 th ed. Washington, DC, USA, 1998.

AQUINO, S.F.; SILVA, S.Q.; CHERNICHARO, C.A.L. Considerações práticas sobre o teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO) Aplicado a Análise de Efluentes Anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n° 4, p. 295-304, 2006.

ARAÚJO, J. C. **Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbio de leito fluidificado com esgoto sanitário sintético**. 1995. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

ARAÚJO, J.C.; CAMPOS, A.P.; CORREA, M.M.S.; SILVA, E.C.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C.A.L. Enriquecimento de bactérias oxidadoras de amônia – Anammox. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, n.2, p. 205-212, abr/jun 2010.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**. New York: Willey-liss, 1994. 478 p.

BORGES, A.C.; **Influência da Estratégia de Alimentação no Desempenho do Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial contendo Biomassa Imobilizada**. 2003. 170 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

BRASIL. Lei federal nº 9.433, de 08 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, Cria o Sistema Nacional de Gerenciamento dos Recursos Hídricos,

regulamenta o inciso XIX do artigo 21 da CF, e altera o artigo 1 da Lei 8.001 de 13.03.1990 que modificou a Lei 7.990, de 28.12.1989. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 jan.1997. Disponível em: <www.mma.gov.br>. Acesso em: 06 jan. 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Resoluções CONAMA**, Brasília, DF, mar/abr. 2005. Disponível em:< www.mma.gov.br>. Acesso em: 20 mar. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. **Resoluções CONAMA**, Brasília, DF, mai/jun. 2011. Disponível em:< www.mma.gov.br>. Acesso em: 20 jul. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de maio de 2004. **Diário oficial da União (DOU)**, 26 mai. 2004. Disponível em: <www.portal.saude.gov.br>. Acesso em: 20 mar. 2010.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais**. 18 ed. São Paulo: CETESB, 1993.

BROCK, T.D.; MANDIGAN, M.T. **Biology of microorganisms**, 6 ed. Prentice Hall, 1991.

CALIJURI, M. C.; ALVES, M.S.A.; SANTOS, A.C.A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: RIMA, 2006. 118 p.

CERVANTES, F.J.; DE LA ROSA, D.; GÓMEZ, J. Nitrogen removal from wastewaters at low C/N ratios with ammonium and acetate as electron donors. **Bioresource Technology**, v. 79, n. 2, p. 165-170, set. 2001.

CHAMCHOI N.; NITISORAVUT S. Anammox enrichment from different conventional sludges. **Chemosphere**, v. 66, n. 11, p. 2225-2232, fev. 2007.

CHAZAL, P. M & LENS, P. Interactions between the sulfur and nitrogen cycle: microbiology and process technology. In: LENS, P. N. L. & HULSHOFF POL, L. **Environmental technologies to treat sulfur pollution – principles and engineering**. London: International Water Association, 2000. p. 415-447.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (UFMG). Belo Horizonte, 1997. 246p.

CYBIS, L. F.; PICKBRENNER, K. **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. Coletânea de Trabalhos Técnicos. Belo Horizonte, v. 2. p. 193-202, 2001.

COOD, G.A.; MORRISON, L.F.; METCALF, J.S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 203, n. 2, p. 264-272, 2005.

DAPENA-MORA, A.; VAN HULLE, S.W.H.; CAMPOS, J.L.; MÉNDEZ, R.; VANROLLEGHEM, P.A.; JETTEN, M. Enrichment of anammox biomass from municipal activated sludge: experimental and modeling results. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 79, p. 1421-1428, out. 2004.

DUARTE, L. C.; JUCHEM, P. L.; PULZ, G. M.; BRUM, T. M. M.; CHODUR, N.; LICCARDI, A.; FISCHER, A. C.; ACAUAN, R. B. Aplicações de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e sistema de energia dispersiva (EDS) no estudo de gemas: exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**, v. 30, n. 2, p. 3-15, 2003.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Process design manual for nitrogen control**. Washington - U.S.A., 1975.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Nitrogen control**. Washington (DC): US EPA, 1993.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Development Document for the Proposed Effluent Limitations Guidelines and Standards for the Meat and Poultry Products Industry Point Source Category**. Office of Water Mail Code 4303 T. Washington, DC, Jan., 2002.

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

GERARDI, M.H. **Nitrification and denitrification in the activated sludge process**. New York: John Wiley and Sons, 2002, 193 p.

GJALTEMA, A; VINKE, J.L.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Abrasion of suspended biofilm pellets in airlift reactors: Importance of shape, structure and particle concentrations. **Biotechnology Bioengineering**, v. 53, n.1, p. 88 – 99, 1997.

GUVEN, D.; DAPENA, A.; KARTAL, B.; SCHMID, M.C.; MAAS, B.; VAN DE PASSCHOONEN, K.; SOZEN, S.; MENDEZ, R.; OP DEN CAMP, H.J.M.; JETTEN,

M.S.M.; STROUS M.; SCHMIDT, I. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anerobic ammonium-oxidizing bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n.2, p. 1066-1071, fev. 2005.

HAGOPIAN, D.S., RILEY, J.G. A closer look at the bacteriology of nitrification. **Aquacultural Engineering**, v.18, p.223-244, 1998.

HELLINGA, C.; SCHELLEA, A. A. J. C.; MULDER, J. W.; LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich wastewater. **Water Science Technology**, v. 9, p. 135-142, 1998.

HU, B.L.; ZHENG, P.; MAHMOOD, Q.; QIAN, H.F.; WU, D.L. Cultivation, granulation and characteristics of anaerobic ammonium-oxidizing sludge in sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**. v. 6, n. 6, p. 71-79, 2006.

HUNIK, J. H., MEIJER, H. J. G., TRAMPER, J. Kinetics of *Nitrobacter agilis* at extreme substrate, product and salt concentrations. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 40(2-3):442-448, 1993.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária**, 2010. Disponível em: <www.ibge.org.br>. Acesso em: 21 jan. 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisas Trimestrais do Abate de animais, do leite, do couro e da Produção de ovos de galinha**, 2011. Disponível em: <www.ibge.org.br>. Acesso em: 08 ago. 2011.

JETTEN, M.S.M.; HORN, S.J.; VAN LOOSDRECHT, C.M. Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system. **Water Science & Tecnology**, v.35, n. 9, p. 171-180, 1997.

KARTAL, B.; KUYPERS, M. M.M.; LAVIK, G.; SCHALK, J.; DEN CAMP, H.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: Nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. **Environmental Microbiology**, v. 9, n.3, p. 635-642, mar. 2007a.

KARTAL, B.; RATTRAY, J.; VAN NIFTRIK, L.A.; VAN DE VOSSENBERG, J.; SCHMID, M.C.; WEBB, R.I.; SCHOUTEN, S.; FUERST, J.A.; DAMSTE, J.S.S.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. Candidatus “*Anammoxoglobus propionicus*” a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 39-49, 2007b.

KARTAL, B., VAN NIFTRIK, L., RATTRAY, J., DE VOSSENBERG, J.L.C.M.V., SCHMID, M.C., DAMSTE, J.S.S., JETTEN, M.S.M., STROUS, M. Candidatus “*Brocadia fulgida*”: an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 63, n. 1, p. 46 -55, jan. 2008.

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

KHIN, H.; ANNACHHATRE, A.P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v.22, n.7, p.519-532, set. 2004.

KUIPER-GOODMAN, T.; FALCONER, I.; FITZGERALD, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management**. World Health Organization, p. 113-154, 1999.

LAANBROEK, H. J.; GERARDS, S. Competition for limiting amounts of oxygen between *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* grown in mixed continuous cultures. **Archives of Microbiology**, v. 159, p. 453-459, 1993.

MADIGAN, T. M.; MARTINKI, J. M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 8 ed. Nova York: Prentice Hall, 1997.

MARTINS, T. H. **Enriquecimento de Consórcios Microbianos em Quimiostatos sob Condições Anammox**. 2007. 60 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MARTINS, T.H. **Conversão de compostos nitrogenados em reatores biológicos: Operação, caracterização microbiológica e filogenética**. 2010. 115 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, disposal and reuse**. 4 ed. Nova York: McGraw Hill, 2003, 1819 p.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecol. e Desenvol. Rur. Sustent.** Porto Alegre, v. 3, n. 4, p. 33-38, out/dez. 2002.

MOURA, R. B.; GARCIA, G. C. P. **Otimização do rendimento de um reator seqüencial por batelada para o tratamento de efluentes de indústria de refrigerantes**. 2008. Trabalho

de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente.

MOURA, R. B. **Desempenho de um reator vertical de fluxo contínuo e leito estruturado com recirculação do efluente, submetido à aeração intermitente, na remoção de carbono e nitrogênio de um efluente sintético.** 2011. 122 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MULDER, A., VAN DE GRAAF, A.A. ROBERTSON, L.A., KUENEN, J.G. Anaerobic ammonium discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 16. n. 3, p. 177-184, 1995.

MULDER, J.W.; VAN KEMPEN, R. R-removal by SHARON. **Water Quality International**, v.2, p. 30-31, 1997.

NOCKO, L.M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido à aeração intermitente.** 2008. 118 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PHILIPS, A. M. L. **Utilização de Reator de Biodiscos para Tratamento de Efluentes com Altas Concentrações de Nitrogênio.** 2008. 177 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química: Área de concentração Processos Biotecnológicos). Universidade Federal de Santa Catarina.

PHILIPS, S.; LAANBROEK, H.J.; VERSTRAETE, W. **Origin, cause and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments.** Reviews in Environmental Science and Biotechnology. N. 01, p. 115 – 141, 2002.

QUAN, Z.X.; RHEE S.K.; ZUO, J.E.; YANG, Y.; BAE, J.W.; PARK, J.R.; LEE, S.T.; PARK, Y.H. Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) reactor. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 3130-3139, mai. 2008.

ROSTRON, W.M.; STUCKEY, D.C.; YOUNG, A.A. Nitrification of high strength ammonia wastewaters: comparative study of immobilisation media. **Water Research**. v. 35. p. 1169-1178, abr. 2001.

SÃO PAULO. Decreto nº 8468, de 8 de setembro de 1976. Aprova o Regulamento da Lei n. 997, de 31 de maio de 1976, que dispõe sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente. **Diário Oficial do estado de São Paulo**, out. 1976. Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 20 fev 2011.

SCHIANETZ, BOJAN. **Passivos Ambientais:** levantamento histórico, avaliação da periculosidade e ações de recuperação. 1 ed. Curitiba. SENAI/ABES, 1999. 95 f.

SCHIERHOLT NETO, G. F. **Desenvolvimento de Uma Flora de Microrganismos Oxidadores Anaeróbios de Amônia Utilizando Inóculos Provenientes de Dejetos de Suíno.** 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; BOCK, E.; FUERST, J.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology reviews**, n. 27, p.481-492, 2003.

SIEGRIST, H.; SALZGEBER, Z.; EUGSTER, J.; JOSS, A. Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N-removal. **Water Science & Technology**, v. 57, n. 3, p. 383-388, 2008.

SILVA, D.D. **Remoção Biológica do Nitrogênio pela via curta de Lixiviado de Aterro Sanitário Operando um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS).** 2009. 163 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Sanitária). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVA FILHO, H. A. **Nitrificação em Sistemas de Lodo Ativado.** 2009. 135f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

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

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

TEIXEIRA, R. M. **Remoção de Nitrogênio de Efluentes da Indústria Frigorífica através da Aplicação dos Processos de Nitrificação e Desnitrificação em Biorreatores Utilizados em um Sistema de Lagoas de Tratamento.** 2006. 148 f. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

THIRD, K.A.; PAXMAN, J.; SCHMID, M.; STROUS, M.; JETTEN, M.; CORD-RUWISH, R. Enrichment of anammox from activated sludge and its application in the CANON Process. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 2, p. 236-244, fev. 2005.

VALENTE, J. P. S.; PADILHA, P. M.; SILVA, A. M. M. Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu - SP. **Eclet. Quím.**, São Paulo, 2011.

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

VAN DONGEN, U.; JETTEN, M.S.; VAN LOOSDRECHT, M.C. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 153-160, 2001.

VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodos ativados - Teoria e aplicações para projetos e operação**. Universidade Federal da Paraíba, 1999. 488 p.

VAN NIFTRIK, L.A.; FUERST, J.A.; DAMSTÉ, J.S.S.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in Anammox bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, n. 1, p. 7-13, jan. 2004.

VAN KEMPEN, R.; MULDER, J.W.; UIJTERLLNDE, C.A.; LOOSDRECHT, M.C.M. Overview: Full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 145-152, 2001.

VANPARYS B.; BODELIER P.; DE VOS, P. Validation of the correct start codon of norX/nxrX and universality of the norAXB/nxrAXB gene cluster in Nitrobacter species. **Current Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 255-257, set. 2006.

VILLAVERDE, S.; FDZ-POLANCOM, F. GARCIA, P. A. Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters: start-up influence. **Water Resource**, v. 34, n.2, p. 602-610, 2000.

VERSTRAETE, W.; PHILIPS, S. (1998). Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. **Environmental Pollution**, v.102, p.717-26.

VON SPERLING, M. **Lodos Ativados** 3 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 2002, v.4.

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

WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. (1991). Orris E. Albertson (Chairman). **Nutrient Control**. Manual of practice No. FD-7. Prepared by task force on nutrient control.

YOO, H.; AHN, K. H.; LEE, K. H.; KWAK, Y. L.; SONG, K. G. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification(NDS) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Resource**, v. 33, n. 1, p. 145-154, 1999.