

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO *Stricto sensu*  
MESTRADO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL

THAIS DA SILVA

REMOÇÃO DE NITRATOS DE ÁGUA DE DRENAGEM AGRÍCOLA EM  
BIORREATOR COM SUPORTE DE SABUGO DE MILHO E ESPUMA DE  
POLIURETANO

PONTA GROSSA  
2021

THAIS DA SILVA

REMOÇÃO DE NITRATOS DE ÁGUA DE DRENAGEM AGRÍCOLA EM  
BIORREATOR COM SUPORTE DE SABUGO DE MILHO E ESPUMA DE  
POLIURETANO

Dissertação apresentada à banca examinadora como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Sanitária e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Barana

PONTA GROSSA

2021

S586 Silva, Thais  
Remoção de nitratos de água de drenagem agrícola em biorreator com suporte de sabugo de milho e espuma de poliuretano / Thais Silva. Ponta Grossa, 2021.  
59 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental - Área de Concentração: Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Barana.

1. Remoção de nitrato. 2. Sabugo de milho. 3. Espuma de poliuretano. 4. Desnitrificação. I. Barana, Ana Cláudia. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos. III.T.

CDD: 664.2

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL****CERTIFICADO DE APROVAÇÃO - DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Título da Dissertação: “**REMOÇÃO DE NITRATOS DE ÁGUA DE DRENAGEM AGRÍCOLA EM BIORREATOR COM SUPORTE DE SABUGO DE MILHO E ESPUMA DE POLIURETANO**”.

Nome: **THAÍS DA SILVA**

Orientadora: Prof. Dr. Ana Cláudia Barana

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Ana Cláudia Barana  
UEPG/Ponta Grossa - PR

Prof. Dr. Deize Dias Lopes  
UEL/Londrina - PR

Prof. Dr. Jeanette Beber de Souza  
UNICENTRO/Irati - PR

Ponta Grossa, 3 de setembro de 2021



Documento assinado eletronicamente por **Jeanette Beber de Souza, Usuário Externo**, em 03/09/2021, às 20:47, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Deize Dias Lopes, Usuário Externo**, em 09/09/2021, às 13:26, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Claudia Barana, Professor(a)**, em 07/10/2021, às 15:35, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador 0600155 e o código CRC 621E0C12.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela proteção, motivação e força nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Amauri e Rosária, que estiveram comigo em todos os momentos, me incentivando, dando apoio e força. Agradeço especialmente ao meu pai, que viveu comigo a rotina do mestrado, que me ajudou a realizar as coletas de água e que me levou e buscou no mestrado durante a pandemia. Nada teria sido possível sem vocês!

À minha orientadora Ana Cláudia Barana, pela oportunidade, orientação, paciência, pelos ensinamentos e todo suporte que necessitei.

Às alunas companheiras de laboratório, Jéssica, Priscila, em especial a Thayse, obrigada por toda ajuda, pela companhia durante todo o mestrado.

À laboratorista Denise, obrigada por toda a ajuda durante as análises.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao Departamento de Engenharia de Alimentos, ao Departamento de Engenharia Civil e ao Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental pela oportunidade.

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da remoção de nitratos em biorreatores de leito fixo composto por sabugo de milho e espuma de poliuretano (Mini Biobobs®). Foram utilizados dois reatores em escala de bancada: biorreator 1, preenchido com pedaços de sabugo de milho, e biorreator 2, com pedaços de sabugo e Mini Biobobs®. Os reatores foram alimentados com água de drenagem agrícola enriquecida com nitrato de sódio na concentração de 20 mg L<sup>-1</sup>. Foi avaliada a remoção de nitrato em diferentes tempos de detenção hidráulica (TDH), de 4 a 0,67 dias, e foi realizada uma estimativa utilizando o método do Número Mais Provável (NMP) de bactérias desnitrificantes presentes nos reatores no maior e menor TDH. A remoção do nitrato foi observada em todas os ensaios estudados nos dois reatores. As melhores médias de remoção de nitratos ocorreram nos ensaios com TDHs mais altos. No reator 1, ensaio 1 com TDH de 1 dia, a eficiência de remoção de nitrato foi de 81,99%, a média de nitrato e nitrito no efluente foi de 3,95 mg L<sup>-1</sup> e 0,02 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, no reator 2, no ensaio 2 com TDH de 2 dias a média de nitrato e nitrito no efluente foi de 1,66 mg L<sup>-1</sup> e 0,02 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, e a eficiência de remoção de nitrato foi de 92,32%. As taxas de remoção mais baixas ocorreram no ensaio 6, com remoção de nitrato foi 42,90% no reator 1 e 48,90% no reator 2. Os valores de temperatura, pH e alcalinidade se mantiveram dentro dos padrões ótimos para desenvolvimento das bactérias desnitrificantes. Na análise do NMP de bactérias desnitrificantes obteve-se resultados que mostraram que houve a presença destas bactérias na biomassa dos dois reatores, comprovando que ocorreu desnitrificação neste sistema. No sistema de desnitrificação estudado foram obtidas taxas de remoção de nitrato acima de 70%, em ambos os reatores, podendo-se concluir que este processo pode ser utilizado na remoção de nitrato de águas de drenagem agrícola.

**Palavras-chave:** remoção de nitrato, sabugo de milho, espuma de poliuretano desnitrificação, reator de leito fixo

## ABSTRACT

This work aimed to evaluate the efficiency of nitrate removal in fixed bed bioreactors composed of corn cob and polyurethane foam (Mini Biobobs®). Two bench scale reactors were used: bioreactor 1, filled with pieces of corn cob, and bioreactor 2, with pieces of corn cob and Mini Biobobs®. The reactors were fed with agricultural drainage water enriched with sodium nitrate at a concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>. The removal of nitrate was evaluated at different hydraulic retention time (HRT), from 4 to 0.67 days, and an estimate was made using the Most Probable Number (MPN) method of denitrifying bacteria present in the reactors at the highest and lowest HRT. The removal of nitrate was observed in all tests studied in the two reactors. The best nitrate removal averages occurred in the trials with the highest HRTs. In reactor 1, in the trial of 1 day HRT, the nitrate removal efficiency was 81.99%, the average of nitrate and nitrite in the influent was 3.95 mg L<sup>-1</sup> and 0.02 mg L<sup>-1</sup> respectively, in the reactor 2 in trial 2 (2 day HRT) the average of nitrate and nitrite was 1.66 mg L<sup>-1</sup> and 0.02 mg L<sup>-1</sup> respectively, and the nitrate removal efficiency was 92.32%. The lowest removal rates occurred in trial 6, for reactor 1 the nitrate removal was 42.90%, and for reactor 2 it was 48.90%. The temperature, pH and alkalinity values remained within the optimal standards for the development of denitrifying bacteria. In the analysis of the MPN of denitrifying bacteria, results showed that there was the presence of these bacteria in the biomass of the two reactors, proving that denitrification occurred in this system. In the denitrification system studied, nitrate removal rates above 70% were obtained in both reactors. It can be concluded that the studied denitrification system can effectively remove nitrate from drainage water.

**Keywords:** nitrate removal, corn cob, polyurethane foam denitrification, fixed bed reactor

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ciclo do nitrogênio.....	17
Figura 2 -	Via do nitrogênio para desnitrificação heterotrófica.....	19
Figura 3 -	Biobob.....	30
Figura 4 -	Foto do tubo coletor de água de drenagem.....	31
Figura 5 -	Fotos dos reatores de acrílico em escala de bancada, vazios e preenchidos com meio suporte.....	33
Figura 6 -	Esquema dos Reatores 1 e 2 em operação.....	33
Figura 7 -	Fotos dos pedaços de sabugo de milho cortados.....	34
Figura 8 -	Fotos dos MiniBiobos® utilizados.....	34
Figura 9 -	Preparação das amostras do meio suporte Mini Biobobs®.....	38
Figura 10 -	Preparação das amostras do meio suporte sabugo.....	39
Figura 11 -	Coloração do NMP.....	40
Figura 12 -	Concentrações de nitrato, afluente e efluente, de ambos os reatores ao longo do tempo, nos diferentes ensaios, com diferentes TDHs (dias).....	43
Quadro 1 -	Eficiência de remoção de nitrato em biorreatores utilizando diferentes fontes de carbono.....	27



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Data das coletas, quantidades coletadas, caracterização e cultivar plantado no local da coleta.....	32
Tabela 2 -	Características dos suportes utilizados.....	35
Tabela 3 -	Período de realização, tempo de duração e TDH utilizado em cada ensaio.....	36
Tabela 4 -	Parâmetros e Métodos de Análises.....	37
Tabela 5 -	Características da água de drenagem agrícola.....	42
Tabela 6 -	Concentrações médias de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> no afluente e efluente e eficiência de remoção de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em ambos os reatores.....	44
Tabela 7 -	Concentrações médias de N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> nos efluentes dos diferentes ensaios em ambos os reatores.....	46
Tabela 8 -	Médias de pH do afluente e efluente.....	47
Tabela 9 -	Médias de alcalinidade medida no afluente e efluente.....	48
Tabela 10 -	Concentração média de sólidos no afluente e efluente dos reatores 1 e 2.....	49
Tabela 11 -	Resultados do NMP de bactérias desnitrificantes presentes nos suportes dos ensaios 5 e 6.....	50

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>13</b>
3.1	CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS COM NITRATOS.....	13
3.1.1	Impactos relacionados ao excesso de nitrato nas águas.....	14
3.2	PROCESSOS UTILIZADOS PARA REMOÇÃO DE NITRATO.....	15
3.2.1	Processos Físico-Químicos.....	15
3.2.2	Processos Biológicos.....	16
3.3	REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PROCESSOS CONVENCIONAIS – NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO.....	16
3.3.1	Nitrificação.....	17
3.3.2	Desnitrificação.....	18
3.3.3	Desnitrificação heterotrófica em fase sólida.....	21
3.3.4	Fatores que influenciam na desnitrificação.....	22
3.4	BIORREATORES DESNITRIFICANTES COM MEIO SUPORTE DE LASCAS DE MADEIRA ( <i>Woodchip Denitrification Bioreactors</i> ).....	24
3.5	SUBSTRATOS UTILIZADOS COMO SUPORTE EM BIORREATORES DESNITRIFICANTES.....	29
3.5.1	Sabugo de Milho – resíduo agrícola.....	29
3.5.2	Mini Biobob®.....	29
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>31</b>
4.1	MATERIAL.....	31
4.1.1	Água de drenagem agrícola.....	31
4.1.2	Configuração dos reatores.....	32
4.1.3	Material Suporte.....	34
4.2	PARTIDA DOS REATORES.....	35

4.3	CONDIÇÕES OPERACIONAIS DOS REATORES.....	35
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	36
4.5	CÁLCULO DE EFICIÊNCIA DOS REATORES.....	37
4.6	DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE BACTÉRIAS DESNITRIFICANTES HETEROTRÓFICAS.....	37
4.6.1	Preparo das amostras para determinação do NMP das bactérias desnitrificantes.....	38
4.6.2	Quantificação de Bactérias Desnitrificantes.....	39
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	41
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE.....	42
5.2	RESULTADOS DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE NITRATO.....	43
5.3	NITRITO.....	45
5.4	TEMPERATURA.....	47
5.5	pH.....	47
5.6	ALCALINIDADE.....	48
5.7	RESULTADOS DE TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS, VOLÁTEIS E FIXOS.....	49
5.8	ANÁLISE DE NMP.....	50
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>52</b>
	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A presença de poluentes nas águas e no solo se deve, muitas vezes, às práticas agrícolas que fazem o uso excessivo de fertilizantes, defensivos agrícolas e dejetos de animais. Um dos principais poluentes estudado em águas no mundo todo é o nitrato. O interesse pela sua remoção se deve aos danos que ele pode causar tanto no ambiente quanto no ser humano.

A alta concentração de nitrato em águas de superfície e subterrâneas pode causar a eutrofização dos ambientes aquáticos, com consequente depleção da concentração de oxigênio dissolvido, proliferação de algas e diminuição de biodiversidade. A presença do nitrato em águas de consumo humano pode trazer riscos à saúde, pois pode causar a metahemoglobinemia infantil (síndrome do bebê azul) e formar compostos cancerígenos.

Segundo a Agência de Proteção do Ambiente dos EUA, o limite máximo de concentração admissível de  $\text{N-NO}_3^-$  é de 10 mg L<sup>-1</sup>. No Brasil os limites são os mesmos, segundo a Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021, do Ministério da Saúde, as concentrações de nitrato em água de consumo não devem ultrapassar 10 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{N-NO}_3^-$  (OVEZ, 2006; BRASIL, 2021).

Tendo em vista os problemas que o excesso de nitrato pode causar, se torna importante o desenvolvimento de tecnologias limpas para remoção desse poluente das águas de abastecimento e residuárias. A desnitrificação biológica tem se destacado nesse requisito, é um processo econômico e ambientalmente limpo. A remoção do nitrogênio dos ambientes acontece pela desnitrificação heterotrófica, onde ocorre a conversão do nitrato em nitrogênio gasoso. Para que esse processo ocorra é necessária a presença de uma fonte de carbono como doador de elétrons.

Pesquisas têm utilizado biorreatores que utilizam lascas de madeira como fonte de carbono para remover nitrato de águas de drenagem agrícola e águas residuárias. A utilização de outros materiais como palhas de trigo, sabugo de milho, algodão, cascas de arroz e até mesmo plásticos têm mostrado potencial para serem utilizados como material suporte e fonte de carbono para remoção do nitrato.

O tratamento de resíduos utilizando tecnologias limpas, como biorreatores, tem potencial para contribuir com a remoção de compostos poluentes e manutenção do

meio ambiente. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da remoção de nitratos em biorreatores de leito fixo composto por sabugo de milho e espuma de poliuretano (Mini Biobobs®).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a remoção de nitratos de água de drenagem agrícola em biorreatores de leito fixo, usando como suporte sabugo de milho e Mini Biobobs®.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho teve como objetivos específicos:

- Avaliar o teor de nitratos na água de drenagem agrícola;
- Avaliar a eficiência da remoção de nitratos em reator com leito fixo composto por sabugo de milho em diferentes TDHs;
- Avaliar a eficiência da remoção de nitratos em reator com leito fixo composto por sabugo de milho e Mini Biobobs® em diferentes TDHs;
- Quantificar o NMP de bactérias heterotróficas desnitrificantes nas condições de maior e menor TDH de cada um dos biorreatores.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS COM NITRATOS

A agricultura é um dos agentes responsáveis pela alteração da qualidade das águas. A contaminação dos corpos hídricos pode ocorrer devido à presença de substâncias orgânicas ou inorgânicas, naturais ou sintéticas e de agentes biológicos. As principais atividades relacionadas à perda de qualidade da água nas áreas rurais são a agricultura intensiva, devido ao uso excessivo de defensivos e fertilizantes, associado ao uso de resíduos derivados da criação de animais (RESENDE, 2002; LOCKHART; KING; HARTER, 2013; WONGSANIT et al., 2015).

As águas subterrâneas encontram-se mais protegidas da contaminação. Porém, a presença de poluentes pode ocorrer por processos de lixiviação, onde a água da chuva ou de irrigação percola o solo, levando consigo substâncias dissolvidas que poderão atingir o lençol freático e, conseqüentemente, as águas superficiais, pois são esses lençóis freáticos que possibilitam a recarga destas (RESENDE, 2002; HUA et al., 2016; JADOSKI et al., 2010).

A presença de nutrientes na água faz parte dos ciclos normais da natureza. Os problemas de contaminação ocorrem quando há a presença destes nutrientes em excesso. Os contaminantes mais comuns são nitrogênio (N) e fósforo (P) (RESENDE, 2002). O nitrogênio é um dos nutrientes mais utilizados pelas plantas e, nos sistemas agrícolas, tem a necessidade de ser repostado (MENDES et al., 2015). O nitrogênio que excede as necessidades das plantas e, então, não é absorvido, pode lixiviar para águas subterrâneas pouco profundas, ou chegar nas águas superficiais por descargas pontuais ou difusas (SCHIPPER et al., 2010).

Das formas de nitrogênio presentes na natureza, a amônia ( $\text{NH}_3$ ) e o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) são os principais causadores de diminuição na qualidade da água. A presença da amônia em altas concentrações pode ser letal aos peixes, pois é tóxica a estes organismos. Já a amônia presente no solo ou proveniente de fertilizantes, é convertida rapidamente ao íon amônio,  $\text{NH}_4^+$ , e esse convertido em nitrato através da ação de bactérias nitrificantes (RESENDE, 2002; MENDES et al., 2015).

O nitrato é a principal forma de nitrogênio associada à contaminação das águas por atividades agropecuárias. O ânion nitrato é fracamente retido nas cargas positivas

dos colóides do solo e, por isso, tende a permanecer mais em solução, principalmente nas camadas superficiais, onde a matéria orgânica intensifica o caráter eletronegativo da fase sólida repelindo o nitrato. Os fosfatos aplicados na adubação ocupam as cargas positivas. Assim, na solução do solo, o nitrato fica favorável ao processo de lixiviação e, conseqüentemente, ao longo do tempo, pode ocorrer aumento nos teores de nitrato nas águas subterrâneas (RESENDE, 2002; MENDES et al., 2015). A intensidade da contaminação depende de fatores como a quantidade de nitrato presente ou adicionada no solo, permeabilidade do solo, pluviosidade, irrigação e profundidade do lençol freático (RESENDE, 2002; MENDES et al., 2015).

### 3.1.1 Impactos relacionados ao excesso de nitrato nas águas

O excesso de nitrato nos ambientes aquáticos pode ocasionar o fenômeno da eutrofização, o qual favorece a proliferação de algas e plantas aquáticas, que podem dificultar penetração de luz na água, ocasionando alterações no ambiente subaquático (RESENDE, 2002).

Se consumido em excesso, o nitrato também pode trazer prejuízo à saúde de seres humanos e alguns animais. Os ruminantes, por exemplo, apresentam bactérias no trato digestivo que são capazes de converter nitrato em nitrito, podendo ocasionar envenenamento (RESENDE, 2002). Já bebês menores de seis meses de idade correm o risco de adquirir a síndrome do bebê azul, ou metahemoglobinemia, devido à ingestão excessiva de nitratos presentes na água de preparo do leite infantil. Nessa síndrome, bactérias presentes no trato digestivo convertem o nitrato a nitrito, que reage com hemoglobina e forma um composto chamado metahemoglobina, o qual diminui a capacidade do sangue de transportar oxigênio até os órgãos, causando asfixia nos bebês, que ficam com o tom de pele azulado (RESENDE, 2002; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016; JADOSKI et al., 2010; LOCKHART; KING; HARTER, 2013; WONGSANIT et al., 2015).

Altas concentrações de nitrato também têm sido relacionadas à ocorrência de câncer de estômago e esôfago, devido a formação de N-nitrosaminas, um agente carcinogênico proveniente da interação do nitrito com aminas secundárias (LOCKHART; KING; HARTER, 2013; RESENDE, 2002)

Tendo em vista o risco da presença do nitrato na água, a Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021, do Ministério da Saúde, apresenta na tabela de padrão de



potabilidade para substâncias químicas que representam riscos à saúde, o valor máximo permissível de 10 mg L<sup>-1</sup> de N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (BRASIL, 2021).

### 3.2 PROCESSOS UTILIZADOS PARA REMOÇÃO DE NITRATO

Diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas para a remoção de nitratos de águas. Devido à sua alta solubilidade e estabilidade, este composto possui baixa tendência para precipitação, dificultando sua remoção. A preocupação em diminuir as concentrações de nitrato até níveis aceitáveis, resultou no desenvolvimento de tecnologias avançadas para sua remoção da água. Estas tecnologias incluem processos biológicos, como desnitrificação, processos físico-químicos como troca iônica, processos que utilizam membranas como osmose reversa, ultrafiltração e eletrodialise, e processos de adsorção (WANG; CHU, 2016; COSTA; KEMPKA; SKORONSKI, 2016).

A seguir são apresentados alguns dos principais processos utilizados na remoção de nitrato.

#### 3.2.1 Processos Físico-Químicos

O processo de Troca-Iônica consiste na troca de íons entre uma fase sólida e insolúvel, a resina de troca-iônica, e uma solução.

Neste processo a água contaminada passa por uma coluna preenchida com resina, que possui grupos funcionais neutralizados por ânions de bases fortes, os quais são trocados pelo contaminante até completa exaustão da resina (JUNIOR; CORREA; ESPINOSA; TENÓRIO, 2018; COSTA; KEMPKA; SKORONSKI, 2016).

A tecnologia de membranas ocorre a passagem forçada da água contaminada, pela aplicação de força superior à osmótica, por uma membrana semipermeável, que retém os íons. Este processo não é seletivo e acaba removendo outros íons além do nitrato. O processo é sensível à componentes orgânicos, partículas coloidais, mudanças no pH, exposição ao cloro e a grandes quantidades de sólidos totais dissolvidos, sendo necessário um pré-tratamento da água. Além disso, devido à produção de salmoura durante o processo, é necessário um pós-tratamento antes da descarga do material retido (COSTA; KEMPKA; SKORONSKI, 2016).

A adsorção é um processo de transferência de massa que ocorre em um sistema fluido-sólido, onde o elemento que fica retido na parte sólida é chamado de

adsorbato e a parte sólida, que mantém o adsorbato, é chamada de adsorvente. Para haver eficiência no processo, o material adsorvente deve ser de alta seletividade, longa vida e estar acessível em grandes quantidades e a um baixo custo (COSTA; KEMPKA; SKORONSKI, 2016).

### 3.2.2 Processos Biológicos

O processo de desnitrificação biológica tem sido considerado, economicamente e ambientalmente, mais viável quando comparado a outros (XU et al., 2009).

A desnitrificação biológica é realizada por microrganismos desnitrificantes que usam nitrato como receptor final de elétrons, substâncias orgânicas e inorgânicas como doadores de elétrons e fonte de energia para sustentar o crescimento microbiológico. Existem dois tipos de desnitrificação biológica, heterotrófica e autotrófica. Na desnitrificação autotrófica são utilizados compostos de hidrogênio, como ferro ou enxofre, como fonte de energia e compostos de carbono inorgânico, como dióxido de carbono e bicarbonato, como fonte de carbono. Na desnitrificação heterotrófica os microrganismos utilizam compostos de carbono como fonte de energia, reduzindo o nitrato a nitrogênio gasoso, que é, então, liberado para a atmosfera (WANG; CHU, 2016).

A desnitrificação em fase sólida, que envolve a utilização de materiais naturais derivados de vegetais e polímeros sintéticos biodegradáveis, os quais servem como fonte de carbono para desnitrificação e formadores de biofilme, tem se mostrado uma alternativa promissora para remover nitrato de água e efluentes (WANG; CHU, 2016; SI et al., 2018).

Nos próximos itens serão aprofundados os fundamentos do processo biológico de remoção de nitrogênio.

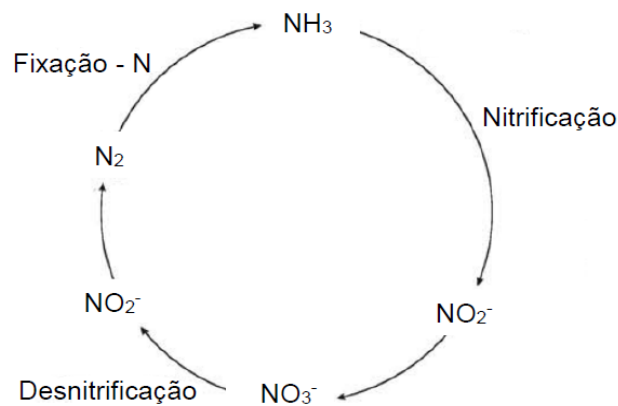
## 3.3 REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PROCESSOS CONVENCIONAIS: NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO

No ciclo do nitrogênio, este elemento alterna-se de várias formas e estados de oxidação através de processos bioquímicos e biológicos. Nas águas, o nitrogênio pode ser encontrado nas formas de nitrogênio molecular ( $N_2$ ), nitrogênio orgânico, amônia livre ( $NH_3$ ) e ionizada ( $NH_4^+$ ), nitrito ( $NO_2^-$ ) e nitrato ( $NO_3^-$ ) (VON SPERLING, 1996).

No solo, o nitrogênio na forma de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) ou amônia ( $\text{NH}_3$ ) é rapidamente oxidado a nitrito através das bactérias dos gêneros *Nitrossomonas* e *Nitrosococcus*. O nitrito, por sua vez, é rapidamente oxidado a nitrato pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. O nitrato é reduzido a nitrito e deste a gás nitrogênio no processo de desnitrificação realizado pelas bactérias do gênero *Pseudomonas* (METCALF; EDDY, 2003).

Nos processos convencionais de remoção de nitrogênio, o processo biológico (Figura 1) envolve uma etapa aeróbia de nitrificação, onde a amônia é oxidada a nitrito e nitrato e, em seguida, uma etapa anóxica de desnitrificação, onde estes compostos são convertidos a nitrogênio gasoso.

Figura 1 - Ciclo do Nitrogênio.



Fonte: AHN (2006).

### 3.3.1 Nitrificação

A nitrificação ocorre devido à atividade de bactérias autotróficas, as quais são organismos de vida livre, encontrados no solo e na água, estas realizam um processo onde a amônia ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) é oxidada a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Primeiramente ocorre a oxidação da amônia a nitrito, processo chamado de nitrificação, realizado por bactérias dos gêneros *Nitrossomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio*. Estas oxidam compostos inorgânicos ( $\text{NH}_4^+$ ) (Equação 1) para obter energia para seu crescimento. Como fonte de carbono utilizam carbono inorgânico ( $\text{CO}_2$ ) na forma de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e oxigênio ( $\text{O}_2$ ) como aceptor de elétrons, formando nitrito. Depois, na etapa de nitratação (Equação 2), este nitrito é oxidado por bactérias do

gênero Nitrobacter, formando o nitrato (CHANG et al., 2011; RODRIGUES, 2016; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016). As reações estequiométricas são mostradas nas equações 1,2 e 3 (METCALF; EDDY, 2003).

Oxidação da amônia a nitrito (nitritação):



Oxidação do nitrito a nitrato (nitratação):



Reação Global



Para cada grama de amônio oxidado (em termos de N), 4,57 g de oxigênio são utilizados (75% na etapa de nitritação e 25% na etapa de nitratação), 0,16 g de novas células são formadas, 7,14 g de alcalinidade (como CaCO<sub>3</sub>) são consumidas (100% na etapa de nitritação) e 0,08 g de carbono inorgânico são requeridos para formação de novas células (METCALF & EDDY, 2016)

A nitrificação pode ser afetada por alguns fatores, a geração de H<sup>+</sup> pelas bactérias provoca a diminuição do pH do meio sendo, então necessária a adição de agentes alcalinizantes como fonte de carbono para os microrganismos e para equilibrar o pH (LI; IRVIN, 2007).

### 3.3.2 Desnitrificação

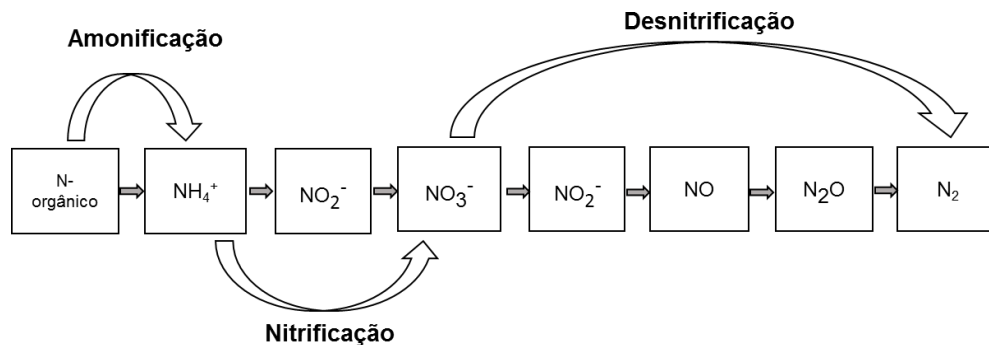
Este processo pode ser alcançado por vias heterotróficas e autotróficas, depende da energia que será utilizada pelos microrganismos, se é de fontes orgânicas ou inorgânicas (ASHOK; HAIT, 2015). Os microrganismos desnitrificantes são comuns na natureza, estão presentes nas águas superficiais e subterrâneas, no solo e em grandes profundidades abaixo do nível do solo (ASHOK; HAIT, 2015).

Bactérias desnitrificantes são, principalmente, heterotróficas anaeróbias facultativas e obtêm sua energia a partir da oxidação de substâncias orgânicas, as quais, em ambiente anóxico, reduzem nitrito e/ ou nitrato a gás nitrogênio. Estes microrganismos utilizam os óxidos de nitrogênio como receptor de elétrons e a matéria orgânica como fonte de carbono e energia (WOSIACK, 2014; ZOPPAS;

BERNARDES; MENEGUZZI, 2016; ASHOK; HAIT, 2015). As bactérias que atuam no processo de desnitrificação heterotrófica pertencem aos gêneros *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* e *Vibrio* (METCALF; EDDY, 2003).

Na desnitrificação heterotrófica, as formas oxidadas do nitrogênio (nitrito e nitrato) formadas nas reações de amonificação e nitrificação, são reduzidas a nitrogênio molecular (Figura 2).

Figura 2 - Via do nitrogênio para desnitrificação heterotrófica.



Fonte: Adaptado de ASHOK; HAIT (2015).

Neste processo há a formação do óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), gases intermediários relacionados ao efeito estufa, formação de chuva ácida e formação de camada de ozônio ao nível do solo, causando grande preocupação ambiental (METCALF; EDDY, 2016; ASHOK; HAIT, 2015).

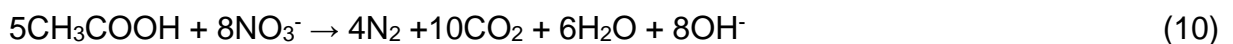
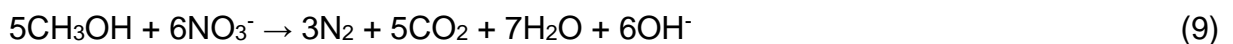
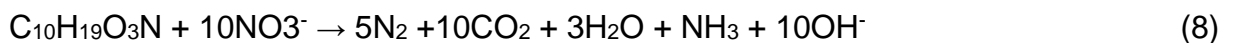
As enzimas envolvidas no processo de desnitrificação são a nitrato redutase, a nitrito redutase, a óxido nítrico redutase e a óxido nitroso redutase, as reações catalisadas por elas estão exemplificadas nas equações 4, 5, 6 e 7 (METCALF & EDDY, 2016).





Cada etapa do processo de desnitrificação é catalisada por um sistema enzimático separado. Estudos com *Paracoccus denitrificans* indicam que a produção de nitrato redutase e nitrito redutase é induzida por seus respectivos substratos. A atividade de nitrito redutase foi fortemente inibida pela presença de oxigênio, enquanto a nitrato redutase não foi inibida pelo oxigênio ou por nitrito a 0,1 milimolar (mM). O nitrato é preferencialmente usado em comparação ao nitrito, mesmo que ambas as enzimas estejam presentes. Durante os ciclos aeróbio e anaeróbio, há uma fase de latência associada ao início da desnitrificação, após essa fase o nitrato é utilizado rapidamente e o nitrito tende a se acumular. Após o nitrito acumular até uma concentração suficiente, a atividade da nitrito redutase aumenta e o processo de desnitrificação continua. A duração da fase de latência depende do grau de aclimação e das condições de reação, como pH e disponibilidade de nutrientes (GAYLE et al., 1989).

A estequiometria da reação de desnitrificação depende diretamente da fonte de carbono utilizada. A fórmula  $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}$  é frequentemente utilizada para representar a matéria biodegradável do esgoto doméstico. As equações a seguir apresentam as reações de desnitrificação utilizando esgoto doméstico (Equação 8), metanol (Equação 9) e ácido acético (Equação 10) como doadores de elétrons (METCALF; EDDY, 2003).



Em todas essas reações de desnitrificação, um equivalente de alcalinidade é produzido por um equivalente de nitrato reduzido, isto corresponde a geração de 3,57 g de alcalinidade (em termos de  $\text{CaCO}_3$ ) por grama de nitrogênio reduzido. A mesma quantidade de alcalinidade é produzida na redução de nitrito (METCALF & EDDY, 2016).

### 3.3.3 Desnitrificação heterotrófica em fase sólida

O termo “desnitrificação em fase sólida” está relacionado ao uso de substratos sólidos como uma fonte constante de carbono que, ao mesmo tempo, fornecem uma base para o desenvolvimento da biomassa microbiana. Bactérias heterotróficas derivam sua energia de substâncias de carbono orgânico, como células mortas e lisadas, matéria em decomposição, lascas de madeira e metanol (ASHOK; HAIT,2015).

A eficiência da desnitrificação heterotrófica é afetada pelas fontes de carbono e a falta delas pode levar à baixa remoção de nitratos. Como alternativa para obter maiores taxas de desnitrificação, tem-se utilizado a desnitrificação de fase sólida (SI et al., 2018). Para o tratamento de águas contaminadas por nitratos, a desnitrificação biológica tem atraído atenção como uma tecnologia promissora, ambientalmente correta e eficiente (ZHAO et al., 2018).

Vários materiais orgânicos vêm sendo utilizados para desnitrificação. A madeira é bastante usada devido ao seu baixo custo, disponibilidade e alta proporção de carbono para nitrogênio. A palha de trigo e a serragem também têm sido utilizadas como fonte de carbono em tratamento de águas residuais (ASHOK; HAIT,2015).

O metanol e o etanol não fazem parte da desnitrificação em fase sólida, pois não fornecem uma superfície sólida para a proliferação de microrganismos, porém são fontes de carbono mais comuns devido à eficiência econômica e disponibilidade. É necessária uma adição adequada destes, pois podem prejudicar a qualidade do efluente em uma extensão maior (ASHOK; HAIT,2015).

Existem desvantagens associadas à desnitrificação heterotrófica em fase sólida, como a liberação de fontes de carbono no efluente, alto crescimento bacteriano, alta produção de biomassa, acúmulo de nitrito e custo do substrato. Alguns meios de carbono orgânico, como madeira e palha, podem levar à lixiviação de certas substâncias indesejadas no efluente, como a liberação de fósforo, que pode levar à eutrofização, e gases de efeito estufa, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O (ASHOK; HAIT,2015).

### 3.3.4 Fatores que influenciam na desnitrificação

- Temperatura

A temperatura é um fator importante no controle da desnitrificação em fase sólida, por afetar a atividade das enzimas envolvidas na hidrólise do substrato sólido e na redução do nitrato. Em baixas temperaturas a eficiência da hidrólise da fonte de carbono e a atividade das bactérias desnitrificantes diminuem, resultando em uma diminuição na taxa de desnitrificação (WANG; CHU,2016).

A temperatura para atividade ótima microbiana varia entre 25 a 35°C (METCALF; EDDY, 2003). Wang e Chu (2016) observaram em um estudo que a taxa de desnitrificação diminuiu drasticamente quando a temperatura esteve abaixo do ideal, verificaram que eficiência média de remoção de nitrato diminuiu de 92,5% quando estava em 25 ° C para 68,7% quando a temperatura foi baixada para 15 ° C.

- Oxigênio Dissolvido

A maioria das bactérias desnitrificantes heterotróficas são anaeróbias facultativas, utilizam o nitrato como um aceptor de elétrons final na ausência de oxigênio, mas quando o meio se encontra com concentrações suficientes de O<sub>2</sub>, este é utilizado pelas bactérias pois é mais eficiente energeticamente (WANG; CHU,2016; WENDLING, 2017).

Pesquisas mostraram que a desnitrificação pode ocorrer quando a concentração de OD varia de 4,0–5,0 mg L<sup>-1</sup>, embora a taxa de desnitrificação diminua com o aumento dos níveis de OD. O acúmulo de nitrito pode ocorrer pois o oxigênio dissolvido pode inibir a atividade das enzimas envolvidas na redução do nitrato. Portanto, limitar a concentração de oxigênio dissolvido no reator de desnitrificação pode tornar o processo mais eficiente (WANG; CHU,2016).

- Tempo de Detenção Hidráulica (TDH)

É importante determinar um TDH adequado para um reator de desnitrificação pois está diretamente associado à eficiência de remoção de nitrato. A redução do TDH para certos valores pode levar a um aumento nas concentrações de nitrato no efluente e no acúmulo de nitrito. Estudos mostraram que a eficiência de remoção de nitrato foi superior a 96% em um TDH de 6,6 dias, enquanto diminuiu para 66% em um TDH de 1,6 dias. Um aumento no TDH permite que a população bacteriana degrade o



substrato orgânico e leve a uma alta eficiência de remoção de nitrato, mas também é responsável pela alta liberação de DQO e amônio. Durante o projeto de um reator de desnitrificação, o TDH deve ser otimizado para obter um melhor desempenho de desnitrificação. (WANG; CHU,2016).

- ph

Para a remoção biológica de nitrogênio, a faixa ótima de pH para crescimento de bactérias responsáveis pela desnitrificação está entre 6,5 e 8,0, e para o crescimento favorável das bactérias nitrificantes o pH varia de 7,5 a 8,0. Geralmente, o pH na faixa de 6,5 a 8,5 é adequado para desnitrificação em fase sólida. (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016; WANG; CHU,2016).

- Relação C/N

É um fator limitante para a desnitrificação, para que esta ocorra eficientemente a relação C/N deve estar entre 3 e 5, as relações abaixo do ideal podem afetar a desnitrificação pela falta de espécies doadoras de elétrons e provocar acúmulo de nitrito, devido a desnitrificação incompleta pela falta de carbono (WENDLING, 2017; SGORLON et al.,2011).

- Presença de materiais residuais

A presença de materiais como metais pode ser vantajosa e também desvantajosa na eficiência de desnitrificação, isto dependerá de sua interação com outras espécies e concentração. Existem alguns micronutrientes que são necessários para o crescimento microbiano; no entanto, alguns têm efeitos inibitórios. Micronutrientes como B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn, além de C, S e P, são necessários para as bactérias desnitrificantes atingirem seus requisitos metabólicos. As presenças de algumas formas de enxofre, como sulfato, sulfeto e tiosulfato, podem inibir as taxas de desnitrificação, assim como a presença de metais pesados, pesticidas e seus derivados podem inibir os processos de remoção de nitrato (ASHOK; HAIT,2015).

### 3.4 BIORREADORES DESNITRIFICANTES COM MEIO SUPORTE DE LASCAS DE MADEIRA (Woodchip Denitrification Bioreactors) (WDB)

Os biorreatores de desnitrificação com suporte orgânico surgiram como uma importante tecnologia de tratamento em campo para reduzir as emissões de nitratos de drenagens agrícolas (HUA et al., 2016). Populares nas regiões de produção agrícola dos Estados Unidos, têm como principal fonte de carbono as lascas de madeira (SOUPIR et al., 2018). Microrganismos desnitrificantes heterotróficos, como *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Pseudomonas*, que são abundantes no ambiente natural, entram nos biorreatores desnitrificantes através da água de drenagem e colonizam o interior dos biorreatores. Eles consomem componentes carbonáceos da madeira como fonte de carbono (alimento) e fonte de energia (doador de elétrons) e reduzem / convertem o nitrato (aceptor de elétrons) a nitrogênio gasoso (MARDANI et al., 2020; HOOVER et al., 2015; HUA et al., 2016). Além de tratar resíduos agrícolas, os biorreatores também podem ser usados para tratar esgoto doméstico e águas residuais industriais (HANG et al., 2016).

Produtos orgânicos como lascas de madeiras possuem celulose, hemicelulose e lignina em sua composição, os quais podem ser liberados através da decomposição e usados na desnitrificação. Dessa forma, têm sido cada vez mais utilizadas como fontes de elétrons para desnitrificação, devido ao elevado teor de carbono disponível, ao baixo custo e à longevidade do material. Estes WDB não necessitam de reabastecimento, pois a fonte de carbono não é rapidamente esgotada (HANG et al., 2016; NORDSTRÖM; HERBERT, 2018; DAMARAJU et al., 2015).

Fowdar et al. (2015) explicam que a atividade, a abundância e o tipo de bactérias desnitrificantes variam com a qualidade do meio afluente do biorreator, incluindo seu pH, salinidade e composição nutricional. A taxa de desnitrificação estimulada na presença de um substrato particular irá variar dependendo do afluente, como exemplo, um substrato que é eficaz para a desnitrificação de águas cinzas pode não ser tão eficaz para a remediação de águas residuais. A comparação do desempenho relativo de uma ampla gama de substratos de carbono se torna necessária para uma melhor seleção de doadores de elétrons externos para empregar em um biorreator desnitrificante (FOWDAR et al., 2015).

Estudos em biorreatores de desnitrificação em escala de campo, demonstraram capacidade de remoção de nitratos a longo prazo, até por mais de 10 anos, exigindo uma mínima manutenção, e eficiências de remoção de nitratos que variam de 33 a 100%, e taxas de remoção de 2 e 22 g N/m<sup>3</sup>/d-1 (HUA et al., 2016).

Hoover et al. (2015) observaram em biorreatores de desnitrificação de bancada, maior percentagem de remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e redução de carga com lascas de madeira envelhecidas, cerca de 52% em carga de 21,0 g N/m<sup>3</sup>/d-1, mantidas em um TDH de 12 horas. Para lascas de madeira frescas a remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e as reduções de carga foram de 39% e carga de 15,6 g de N/m<sup>3</sup>/d-1, mantidas em um TDH de 10 horas. Devido ao TDH mais alto mantido nas lascas de madeira envelhecidas, a percentagem de remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi maior em comparação às lascas de madeira frescas.

Além da utilização dos biorreatores de lascas de madeira para remoção de nutrientes, eles têm sido utilizados para remoção de outros contaminantes, como para remoção microbiana (*E. coli*, *Salmonella*, coliformes totais e vírus) (SOUPIR et al., 2018; MARDANI et al., 2020).

Gottschalla et al. (2016) utilizaram biorreatores preenchidos com lascas de madeira junto com afluente proveniente de esterco suíno, para avaliar a eficácia de remoção de nitrogênio, fósforo e antibióticos veterinários. Obtiveram eficiências médias de remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> variando de 39% a 63% e taxas médias de remoção variando de 6 a 8 g N m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, para o fósforo as taxas médias foram menores, variando de 0,1 a 0,5 g P m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>. A maioria dos antibióticos presentes não foram detectados no efluente do reator, a remoção dos antibióticos pode ter ocorrido por meio de sorção pelas lascas de madeira.

As características das fontes de carbono utilizadas têm efeitos importantes no processo de desnitrificação, como na taxa de desnitrificação, na demanda de DQO, no rendimento e na composição da biomassa (DAMARAJU et al., 2015). Os tipos de fontes de carbono, além de influenciar a atividade de remoção de nitratos, influencia também na estrutura da comunidade e na arquitetura do biofilme (XU; DAI; CHAI, 2018).

Uma fonte de carbono ideal deve ser barata, amplamente acessível, possuir características de alto teor de carbono, fácil decomposição, liberação lenta e pouca

liberação de nitrogênio ou fósforo (Si et al., 2018). Assim como as lascas de madeira, outras fontes podem ser utilizadas como fonte de carbono, como palha de trigo, algodão, jornal, espigas de milho, bucha vegetal, casca de pinheiro, palha de arroz, palha de milho, macrófitas e polímeros sintéticos biodegradáveis (HANG et al., 2016; Si et al., 2018; WARNEKE et al., 2011; WANG; CHU, 2016).

Cameron e Schipper (2010), testaram quatro diferentes substratos orgânicos e notaram que as taxas de remoção de nitrato seguiram uma ordem decrescente de acordo com os substratos utilizados: espigas de milho > resíduos verdes > palha de trigo > madeira. As fontes de carbono mais lábeis (espigas de milho, resíduos verdes e palha de trigo) suportaram taxas de remoção de nitrato significativamente maiores do que o meio de madeira. Porém, segundo os mesmos autores, a utilização de meios mais lábeis em leitos de desnitrificação operacionais pode exigir a substituição mais frequente do meio.

Cheikh et al. (2013) compararam o desempenho de suportes plásticos provenientes de reciclagem com carvão ativado na remoção de nitrato e nitrito. Obtiveram uma eficiência de remoção de nitrato próxima a 100% para os plásticos, semelhante à eficiência de remoção quando utilizaram carvão. Observaram que a porosidade do carvão ativado e a rugosidade superficial dos plásticos, auxiliam na fixação da biomassa. A composição dos plásticos do tipo polietileno de alta densidade e polietileno de baixa densidade (PEAD e PEBD), é, essencialmente, carbono e hidrogênio, com algum cloreto no caso do policloreto de vinila (PVC). Esta composição química indica que eles não contêm produtos químicos que possam ser liberados e interferir no processo biológico ou contaminar a água tratada.

Fowdar et al. (2015) avaliaram sete diferentes substratos e quatro diferentes afluentes (Quadro 1). Tiveram os melhores resultados quando utilizaram o substrato algodão, o qual foi capaz de desnitrificar a uma taxa correspondente a uma média de 72% da taxa ótima. Esta taxa pode ser relacionada à grande área de superfície específica do algodão que proporcionou fixação e colonização microbiana aprimorada, facilitando assim o contato entre a fonte de carbono orgânico e nitrato e também a taxa de hidrólise de celulose.

Si et al. (2018), avaliaram quatro diferentes fontes de carbono, obtiveram melhores resultados na eficiência de remoção de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e DQO nos estágios de

temperatura alta, e observaram o acúmulo de N-NO<sub>2</sub>- nos estágios de baixa temperatura. A atividade fisiológica dos microrganismos envolvidos na biodegradação e desnitrificação foi afetada pelas mudanças de temperatura, ocasionando uma diminuição da eficiência de remoção de N-NO<sub>3</sub>.

Em um trabalho recente, Zheng et al. (2021), utilizaram pellets de fungos para crescimento das bactérias desnitrificantes. Os pellets fúngicos possuem características estruturais porosas e reticulares proporcionando espaço e nutrientes para o crescimento bacteriano. Obtiveram uma taxa de remoção de nitrato de até 99,73% nas condições de pH 6,62, temperatura 31,85°C e C/N de 2,16.

No Quadro 1 encontram-se alguns dados de pesquisas que utilizaram madeira e outros materiais como fonte de carbono em biorreatores de desnitrificação.

Quadro 1- Eficiência de remoção de nitrato em biorreatores utilizando diferentes fontes de carbono.

(continua)

Afluente utilizado	Fonte de Carbono	Conc. N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> afluente (mg L <sup>-1</sup> )	Eficiência de remoção (%)	TDH (dias)	Fonte
Sintético	<i>Gracilaria verrucosa</i> (alga vermelha)	100	100	13	OVEZ (2006)
	Alçaçuz		100	24	
	Cana Gigante		100	20	
Sintético	Espigas de milho	6	90	0,58	XU <i>et al.</i> , (2009)
Água potável enriquecida	Espigas de milho	141 a 159	95	1,82	CAMERON; SCHIPPER (2010)
	Resíduos verde		98	1,41	
	Palha de trigo		98	2,26	
	Madeira macia		96	1,3 a 1,6	
	Madeira dura		96	1,56	

Quadro 1- Eficiência de remoção de nitrato em biorreatores utilizando diferentes fontes de carbono.

(conclusão)

Afluente utilizado	Fonte de Carbono	Conc.	Eficiência de remoção	TDH	Fonte
Efluente sintético	Lascas de madeira de pinho	19,5 a 32,5	70	8 a 22	HEALY <i>et al.</i> , (2012)
	Papelão		94		
	Agulhas de madeira de pinho		75		
	Solo		-		
Solução nutritiva pura Água cinza clara Água residuária (trat.secundário) Água residuária (trat.terciário)	Resíduo de cervejaria Grãos gastos de cervejaria Milho triturado Cascas de arroz Algodão Madeira macia Madeira dura	60	0,5 a 80	1 a 4	FOWDAR <i>et al.</i> , (2015)
Esterco líquido de suíno	Lascas de madeira	47	33	212	GOTTSCHALLA <i>et al.</i> , (2016)
	Lascas de madeira com alumínio		74		
Água sintética	Lascas de madeira envelhecida	30	96	0,5 a 1	SOUPIR <i>et al.</i> , (2018)
Água sintética	Lascas de madeira	50	96	10 a 110	ZHAO <i>et al.</i> , (2018)
Água sintética	Palha de trigo	43	49 - 98	1	SI <i>et al.</i> , (2018)
	Algodão		53 - 70		
	Poli (succinato de butileno)		18 - 29		
	Jornal		67 - 98		
Água residuária sintética	Serragem	100 a 150	21,9 - 134,7 (mg N L-1)	43 - 88	HU <i>et al.</i> , (2019)
Água de Rio	Sabugo de milho	0,74 - 2,38	30 - 75	25	YU; CHEN; XU; (2019)
Sintético	<i>Pellets</i> de fungos	-	100	0,16 0,25 0,33	ZHENG <i>et al.</i> , (2021)

Fonte: A autora.

## 3.5 SUBSTRATOS UTILIZADOS COMO SUPORTE EM BIORREATORES DESNITRIFICANTES

### 3.5.1 Sabugo de Milho - resíduo agrícola

O milho (*Zea mays*) é cultivado em grande parte do mundo por possuir qualidades nutricionais, é extensivamente empregado como alimento humano ou ração mineral. Em contrapartida, ocorre a geração de resíduos, como os sabugos, os quais correspondem a 13% do peso bruto da espiga. Estimativas apontam que foram gerados, aproximadamente, 4.960 mil toneladas de sabugo no Brasil, somente no ano de 2013. Desse modo, alternativas devem ser buscadas com a finalidade de permitir uma destinação adequada a esse tipo de resíduo (DE SALES et al., 2015).

Resíduos agrícolas, como as espigas de milho, são principalmente compostos por lignina, celulose e hemicelulose. Se destacam por sua liberação duradoura de carbono orgânico e maior superfície específica para o crescimento de microrganismos. Materiais como este poderiam ser usados como fontes externas de carbono para melhorar processos de desnitrificação, no entanto, os estudos existentes ainda são insuficientes para apoiar a demanda de tecnologia em aplicações práticas (YU, CHEN, XU, 2019; SUN et al., 2019).

### 3.5.2 Espuma de Poliuretano - Mini BioBob®

É um suporte para a imobilização celular de biomassa que pode ser utilizado em sistemas biológicos para o tratamento de águas residuária, possibilita o aumento da capacidade de tratamento e a qualidade do efluente tratado. Desenvolvido pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental, o Mini Biobob® é um conjunto formado por uma armação externa de Polietileno de Alta Densidade (PEAD), com 1,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de comprimento, e a parte interna por uma espuma de poliuretano (PU) e possui uma porosidade superior a 92% (Figura 3) (BIOPROJ).

Pesquisas que utilizaram o Mini BioBob® como meio suporte para crescimento bacteriano verificaram sua eficiência nos processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas (BARANA et al., 2013; WOSIACK, et al., 2015; OLIVEIRA, 2016; WENDLING, 2017). Wosiack, et al. (2015) obtiveram taxas de desnitrificação elevadas, acima de 79% nos testes realizados. Barana et al. (2013) atingiram uma eficiência média de remoção de nitrogênio de 62%. Em experimentos realizados por

Wending (2017) a eficiência de desnitrificação chegou a 86%, e observou menores concentrações de acúmulo de nitrito.

Figura 3 - Biobob.



Fonte: BIOPROJ.



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Substrato

O substrato utilizado para alimentar os reatores foi água de drenagem agrícola obtida da drenagem de terraços agrícolas de uma propriedade particular, localizada no município de Carambeí. Os solos dessa região são predominantemente argilosos, com altos teores de matéria orgânica (BOGNOLA et al., 2002).

A água que infiltra no solo passa por um sistema coletor (tubos subterrâneos), que é conduzido até a borda do campo onde foi realizada a coleta, nesta região se formam banhados cobertos por vegetação (Figura 4).

Figura 4: Fotos do tubo coletor de água de drenagem.



Fonte: A Autora.

As amostras foram coletadas em épocas de chuvas e foram armazenadas em recipientes mantidos em temperatura ambiente, no Laboratório de Estudos em Meio Ambiente (LEMA), do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (Tabela 1).

Tabela 1: Datas das coletas, quantidades coletadas, caracterização e cultivar plantado no local da coleta.

<b>Data</b>	<b>Quantidade (L)</b>	<b>pH</b>	<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Cultivar</b>
08/03/2020	50	5,29 ± 0,15	0	Soja
30/08/2020	60	5,35 ± 0,33	0	Trigo
26/01/2021	40	5,53 ± 0,28	0	Milho

Fonte: A autora.

Uma vez que não se detectou a presença de nitrato na água de drenagem, a mesma foi enriquecida com 20 mg L<sup>-1</sup> de N-NaNO<sub>3</sub> (nitrato de sódio), para então ser bombeada para os reatores.

#### 4.1.2 Configuração dos Reatores

Foram utilizados dois reatores de leito fixo construídos em acrílico em escala de bancada, semelhante ao utilizado por Hoover et al. (2015) (Figura 5). Os reatores tinham altura de 25 cm, diâmetro externo de 7,5 cm, interno de 6 cm e volume total de 700 mL. O volume útil do reator 1 era 330 mL e do reator 2 era 340 mL. Os dois reatores foram envoltos com papel alumínio para impedir a entrada de luz e evitar o crescimento de algas (Figura 6).

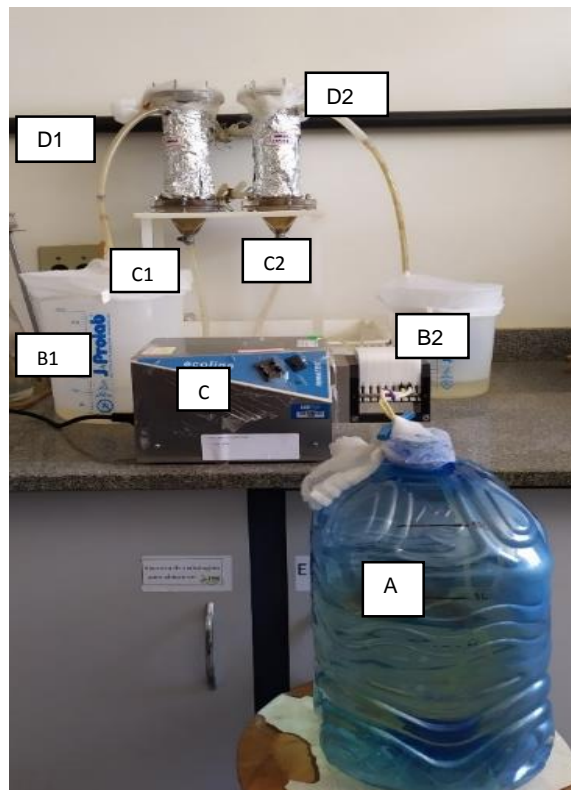
Os reatores foram alimentados em fluxo contínuo, com o auxílio de uma bomba peristáltica (Marca Ismatec, modelo Ecoline ISM1089C) ligada a um temporizador. O afluente entrava pela base dos reatores e saía pela parte superior dos mesmos (Figura 6).

Figura 5 - Foto dos reatores de acrílico em escala de bancada, vazios e preenchidos com meio suporte.



Fonte: A Autora.

Figura 6 - Esquema dos Reatores 1 e 2 em operação.



Fonte: A autora.

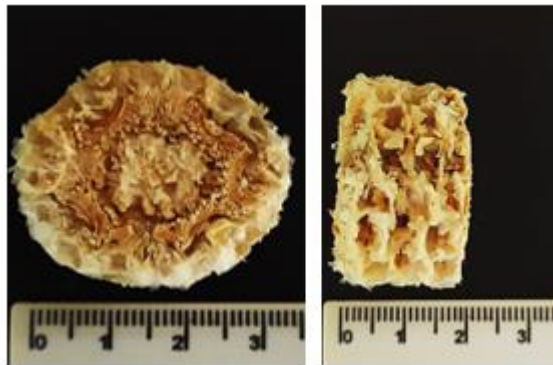
Notas: A: reservatório afluyente; B1 e B2: reservatório de efluente do reator 1 e 2, respectivamente; C: bomba peristáltica de alimentação; C1 e C2: entrada do reator 1 e 2, respectivamente; D1 e D2: saída do reator 1 e 2, respectivamente.

#### 4.1.3 Material suporte

Os meios utilizados como suporte para crescimento dos microrganismos em ambos os reatores foram obtidos com fornecedores externos. Os sabugos foram cortados em pedaços com 3,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura (Figura 7). Antes de serem usados foram lavados com água destilada para remover sujeira e partículas finas e secos ao ar antes do uso, conforme procedimento descrito por Hua *et al.* (2016) e Sun *et al.* (2019).

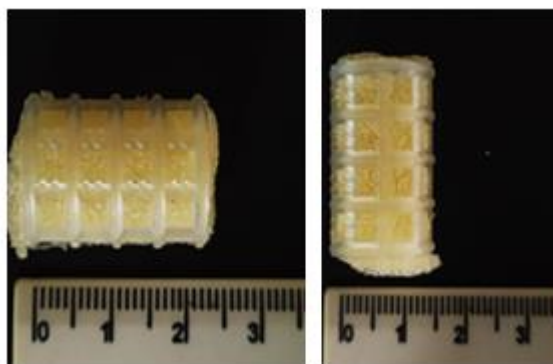
Os Mini Biobobs® foram fabricados e doados pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental. Os Mini Biobobs® são formados por um conjunto com uma armação externa de Polietileno de Alta Densidade (PEAD), com 1,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de comprimento, e a parte interna por uma espuma de poliuretano (PU) (Figura 8).

Figura 7 - Fotos dos pedaços de sabugo de milho cortados.



Fonte: A autora.

Figura 8- Fotos dos Mini Biobobs® utilizados.



Fonte: A autora.

As quantidades e características dos suportes adicionados a cada reator estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Características dos suportes utilizados.

Características dos suportes	Reator 1		Reator 2	
Tipo	Sabugo	Sabugo	Mini Biobobs®	
Quantidade	28	14	30	
Massa adicionada (g)	56,8	30,81	18,72	
Volume adicionado (mL)	370		360	
Volume útil do reator (mL)	330		340	

Fonte: A autora.

#### 4.2. PARTIDA DOS REATORES

Os reatores passaram por um processo de autoinoculação com os microrganismos presentes naturalmente na água de drenagem agrícola, o substrato, que foi coletada diretamente do campo.

A autoinoculação foi feita alimentando-se o reator em batelada uma única vez. Para que houvesse desenvolvimento de bactérias desnitrificantes, a água de drenagem agrícola foi enriquecida com 20 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>. Os reatores foram mantidos durante seis dias nestas condições para promover o crescimento e adaptação das bactérias. No segundo e no sexto dia foi realizada a determinação do nitrato para verificar se havia ocorrido redução da sua concentração. No segundo dia a concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi de 2,27mg L<sup>-1</sup> para o reator 1 e 0 mg L<sup>-1</sup> para o reator 2. No sexto dia a concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos dois reatores foi 0 mg L<sup>-1</sup>, assim deu-se início ao ensaio 1.

#### 4.3 CONDIÇÕES OPERACIONAIS DOS REATORES

A alimentação dos reatores era feita por uma bomba peristáltica ligada a um temporizador analógico para se ter os diferentes TDHs (Tempos de Detenção Hidráulica) necessários para o estudo. Na Tabela 3 estão apresentados os períodos que cada TDH foi mantido.

Os TDHs de 4 e 0,67 dias, o maior e menor TDH utilizados, foram repetidos nos ensaios 5 e 6, respectivamente, para determinação do Número Mais Provável de bactérias desnitrificantes.

Tabela 3. Período de realização, tempo de duração e TDH utilizado em cada ensaio.

Ensaio	TDH (dias)	Carga (mg N L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Período	Duração (dias)	Temperatura média (°C)
1	4	5	12/08-28/08/20	19	18,11 ± 1,69
2	2	10	31/08-10/09/20	17	21,88 ± 1,38
3	1	20	17/09-01/10/20	20	20,30 ± 2,39
4	0,67	29	07/10-18/11/20	43	23,69 ± 2,37
5	4	5	19/11-08/01/21	69	22,40 ± 1,62
6	0,67	29	14/01-22/02/21	40	24,46 ± 1,23

Fonte: A autora.

Entre um ensaio e outro os reatores eram mantidos em funcionamento, mas os reservatórios efluentes esvaziados quando se dava início ao próximo ensaio. A cada 15 dias era realizada a limpeza do reservatório de afluente, das mangueiras de alimentação e de saída de efluente dos reatores, com a finalidade de evitar o entupimento das mesmas e o comprometimento do funcionamento dos reatores.

#### 4.4 ANÁLISES FÍSICO – QUÍMICAS

O monitoramento do funcionamento do reator foi feito através de análises físico-químicas, com objetivo de se avaliar a eficiência do mesmo na remoção de nitrogênio na forma de nitrato. Para avaliar o desempenho dos reatores foram avaliados os parâmetros: pH, Alcalinidade, sólidos totais (ST), sólidos totais fixos (STF), sólidos totais voláteis (STV), nitrito (N-NO<sub>2</sub>-) e nitrato (N-NO<sub>3</sub>-). Todas as análises foram realizadas segundo metodologia descrita em APHA (1998), exceto a análise de alcalinidade a qual foi realizada segundo a metodologia de DiLallo e Albertson (1961) (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros e Métodos de Análises.

Parâmetro	Unidade	Frequência das análises	Método	Referências
pH	-	3 vezes por semana	Potenciométrico	APHA (4500h + B)
Alcalinidade	mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup>	3 vezes por semana	Titulométrico	DiLallo e Albertson (1961)
ST	mg L <sup>-1</sup>	1 vez por semana	Gravimétrico	APHA (2540 G)
STV	mg L <sup>-1</sup>	1 vez por semana	Gravimétrico	APHA (2540 G)
STF	mg L <sup>-1</sup>	1 vez por semana	Gravimétrico	APHA (4500 NH <sub>3</sub> C)
N-NO <sub>2</sub>	mg L <sup>-1</sup>	3 vezes por semana	Colorimétrico	APHA (4500 NO <sub>2</sub> B)
N-NO <sub>3</sub>	Mg L <sup>-1</sup>	3 vezes por semana	Colorimétrico	APHA (4500 NO <sub>3</sub> C)

Fonte: APHA, (1998); DILALLO; ALBERTSON (1961).

#### 4.5 CÁLCULO DE EFICIÊNCIA DO REATOR

O cálculo da eficiência do reator no processo de desnitrificação foi calculado pela equação a seguir:

$$\text{Desnitrificação (\%)} = \frac{N.A - N.E}{N.A} \times 100 \quad (\text{Equação 11})$$

Onde:

N.A = N-NO<sub>3</sub>- afluente

N.E = N-NO<sub>3</sub>- efluente

#### 4.6 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE BACTÉRIAS DESNITRIFICANTES HETEROTRÓFICAS

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de microbiologia do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa. A finalidade destas análises foi caracterizar quantitativamente as bactérias heterotróficas desnitrificantes presentes nos meios suportes. Foram retiradas duas amostras do Mini Biobob® e uma do sabugo de cada reator, nas condições mais e menos eficientes.

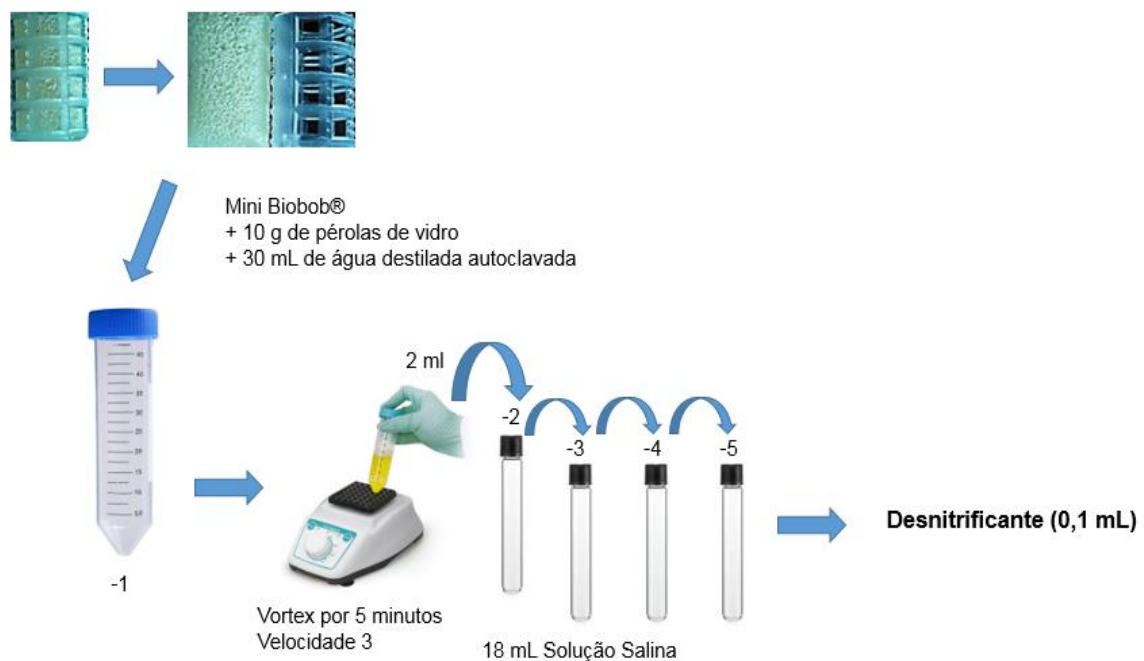
A quantificação dos microrganismos desnitrificantes foi realizada pelo método do número mais provável de bactérias (NMP). Por meio deste obtém-se a estimativa do NMP a partir da combinação dos resultados de tubos positivos com a tabela padrão de probabilidade (APHA, 2005).

#### 4.6.1 Preparo das amostras para determinação do NMP das bactérias desnitrificantes

A preparação das amostras foi adaptada do procedimento realizado por Macieirinha (2017). Os materiais utilizados na análise (sabugo reator 1 e Mini Biobob® e sabugo do reator 2) passaram por uma diluição seriada em solução de NaCl 8,5%. Foram utilizados 12 tubos de ensaio com 18 mL da solução salina, estes foram tampados e esterilizados em autoclave (Phoenix AV 75), por 20 minutos sobre pressão de 1 atm e temperatura de 120°C.

Os materiais foram retirados de dentro dos reatores com o auxílio de uma pinça estéril. As amostras de sabugo foram cortadas com uma faca estéril em partes aleatórias e o do Mini Biobob® foi utilizado apenas a espuma. Assim as amostras cortadas foram inseridas em tubo Falcon de 50 mL com 30 mL de água destilada autoclavada e 10 gramas de pérolas de vidro autoclavadas, na sequência o tubo Falcon foi levado ao Vortex (Ika Vortex 3 S032) na rotação 3 por 5 minutos para ser agitado até total desprendimento da biomassa. O resultado desta agitação foi considerado como a primeira diluição, nas Figuras 8 e 9 estão ilustradas as preparações das amostras e das diluições:

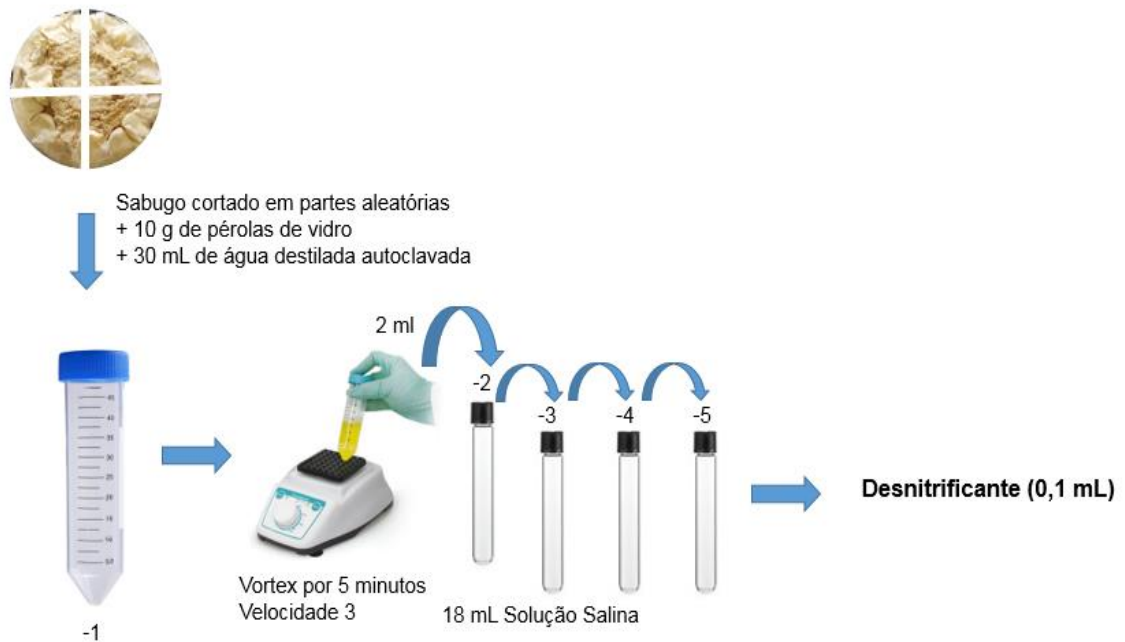
Figura 9 - Preparação das amostras do meio suporte Mini Biobob®.



Fonte: A autora.



Figura 10 - Preparação das amostras do meio suporte sabugo.



Fonte: A autora.

#### 4.6.2 Quantificação de Bactérias Desnitrificantes

A quantificação do Número Mais Provável para bactérias desnitrificantes foi determinada pela metodologia proposta por Tiedje (1984) a qual foi adaptada para amostras líquidas, pois o método foi desenvolvido para amostras de solo.

Meio de Cultura:

Caldo nutriente modificado, para prepara-lo foram dissolvidos em 1L de água destilada 0,62g de extrato de levedura, 1,54g de peptona, 1,54g de Cloreto de Sódio (NaCl) e 0,685g de Nitrato de Sódio (NaNO<sub>3</sub>).

Procedimento:

- Foram colocados 0,9 mL do meio de cultura em cada tubo Eppendorf®, os quais foram autoclavados por 15 minutos sobre pressão de 1 atm e temperatura de 120°C. Foram preparados 5 tubos para cada diluição. Foram utilizados 80 tubos no total (25 tubos para amostra do sabugo do reator 1, 25 tubos para amostra do Mini Biobob e 25 tubos para amostra do sabugo do reator 2) e 5 tubos para o branco.

- Foi adicionado em cada tubo contendo meio de cultura 0,1 mL de amostra diluída (10-1 a 10-5), em ambiente de assepsia.
- Os tubos foram incubados em estufa à 30°C durante 7 dias.

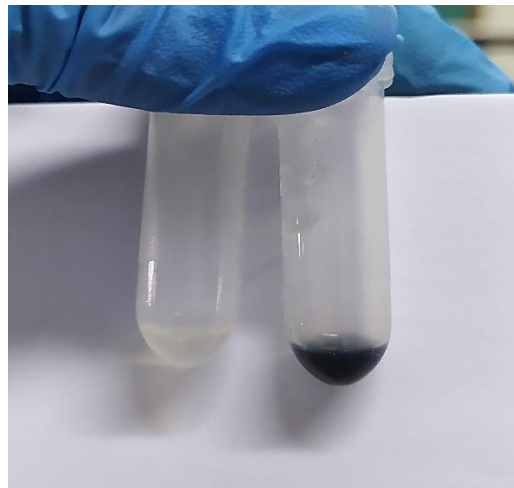
Solução teste:

Foi dissolvido 0,2g de Difenilamina [(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>NH] em 100 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado. A solução foi armazenada em frasco escuro, sob refrigeração.

Resultado:

De cada diluição foram testados os 5 tubos separadamente. Foi retirada uma alíquota de 0,5 ml e colocada em um tubo Eppendorf® e foi adicionado 2 gotas da solução-teste. Ocorreu rapidamente uma reação, onde nos tubos com ausência de cor ou turvação indica consumo de nitrato e possível presença de bactérias desnitrificantes, indicando resultado positivo. A coloração azul indica que há nitrato remanescente, portanto, não houve desnitrificação, indicando resultado negativo.

Figura 11 - Coloração do NMP – Transparente: positivo, Azul: negativo.



Fonte: A autora.

A estimativa do NMP foi feita com a combinação das respostas positivas utilizando a Tabela Padrão de Probabilidade (APHA, 2005).

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para análise dos dados, foi utilizado o software R for Windows, com nível de significância de 0,95 ( $\alpha = 0,05$ ). Para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para dados normalmente distribuídos, foi aplicado o teste paramétrico (Teste t de Student), para dados não normalmente distribuídos, foi utilizado teste não paramétrico (Teste de Wilcoxon).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias dos resultados dos parâmetros analisados nos três lotes de água coletada. As características de águas de drenagem podem variar, pois dependem do processo de lixiviação que ocorre no solo.

Tabela 5 - Características da água de drenagem agrícola.

Parâmetros	Afluente
pH	5,01 ± 1,49
Alcalinidade (mg L <sup>-1</sup> )	13,45 ± 2,02
N-NO <sub>3</sub> adicionado (mg L <sup>-1</sup> )	22,24 ± 1,24
ST	0,26 ± 0,12
N-NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	0
N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	0

Fonte: A autora.

A drenagem subterrânea remove o excesso de água do perfil do solo por meio de uma rede de tubos perfurados subterrâneos ou valas superficiais. Neste sistema junto com a água, pode ocorrer o transporte dos nutrientes utilizados nos campos agrícolas para corpos d'água naturais circundantes (HUA et al., 2016). A mobilização excessiva do nitrato para os mananciais ocorre devido a um desbalanço entre as taxas de suprimento de nitrogênio no solo e a capacidade da vegetação de cobertura absorver e assimilar o nutriente. Assim quando há nitrato no solo em quantidades maiores que determinada cultura pode aproveitar, a chance de lixiviação do íon para camadas profundas não exploradas pelas raízes é maior (RESENDE, 2002).

Segundo Resende (2002), a água que percola o solo leva consigo substâncias dissolvidas que podem ter como destino o lençol freático, esta movimentação de nutrientes está relacionada com os atributos químicos e físicos do solo. O ânion nitrato é fracamente retido nas cargas positivas dos colóides do solo e tende a permanecer em solução nas camadas superficiais. A matéria orgânica presente nas camadas superficiais acentua a eletronegatividade da fase sólida, repelindo o nitrato, e os fosfatos aplicados na adubação ocupam as cargas positivas que ficam disponíveis. O nitrato na solução do solo fica propício à lixiviação e ao longo do tempo pode ocorrer o aumento de nitrato nas águas profundas.

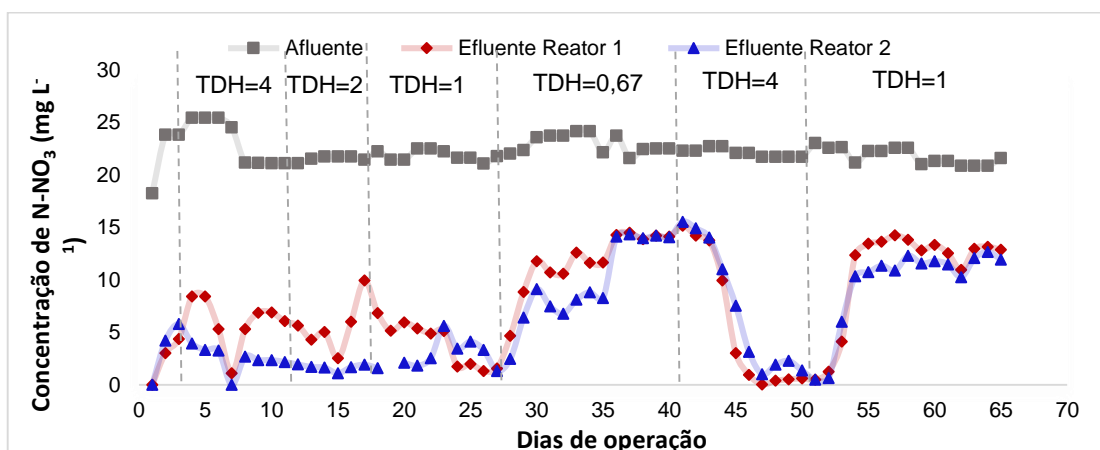
A água de drenagem utilizada no estudo não apresentou contaminação por nitrato, assim como explica Resende (2002), o suprimento de nitrogênio no solo e a assimilação pelas plantas pode estar ocorrendo de forma balanceada no local. Para realizar o ensaio optou-se por fazer o enriquecimento da água de drenagem, assim como Cameron e Schipper (2010) e Hu et al. (2019).

## 5.2 RESULTADOS DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE NITRATO

Na Figura 12 e na Tabela 6 estão apresentados os resultados da eficiência de remoção de nitrato. Os valores apresentados são as médias dos resultados das análises nitrato realizadas nos diferentes ensaios. Para a realização da mudança de condições nos diferentes ensaios, levou-se em consideração a eficiência e estabilidade dos resultados da análise de nitrato. Considerou-se como estável, quando os resultados das análises de nitrato não apresentavam grandes variações entre três análises seguidas. Foi observado que os dois reatores estabilizavam ao mesmo tempo (Tabela 3).

Na Figura 12 pode ser observado o comportamento das concentrações de nitrato afluente e efluente ao longo do tempo. Pode-se observar que a eficiência de remoção de nitrato foi elevada em todos os ensaios estudadas nos dois reatores. No R2, com sabugo e Mini Biobob®, a eficiência de remoção foi ligeiramente maior que no R1, com suporte de sabugo. O que leva a supor que a metade da quantidade de sabugo utilizada no R1 já é suficiente para promover a quantidade de doadores de elétrons necessária para a desnitrificação.

Figura 12 - Concentrações de nitrato, afluente e efluente, de ambos os reatores ao longo do tempo, nos diferentes ensaios, com diferentes TDH (dias).



Fonte: A autora.

Tabela 6 - Concentrações médias de  $\text{N-NO}_3^-$  no afluente e efluente e eficiência de remoção de  $\text{N-NO}_3^-$  em ambos os reatores.

Ensaio	Afluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Efluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )		Eficiência (%)	
		Reator 1	Reator 2	Reator 1	Reator 2
1	23,25± 1,95	5,87± 2,13	2,67 ± 1,95	74,55 ± 9,61	87,63 ± 6,26
2	21,65 ± 0,35	5,76 ± 2,30	1,66 ± 0,28	73,36 ± 10,71	92,32 ± 1,35
3	21,80 ± 0,54	3,95 ± 1,90	3,29 ± 1,31	81,99 ± 8,61	86,81 ± 7,67
4	22,82 ± 0,87	11,53 ± 3,77	10,00 ± 4,55	49,55 ± 16,77	56,10 ± 20,55
5	22,22 ± 0,50	3,10 ± 4,77	4,34 ± 4,81	86,29 ± 20,95	80,61 ± 21,15
6	21,64 ± 0,72	12,33 ± 2,59	11,03 ± 1,68	42,90 ± 12,00	48,90 ± 8,35

Fonte: A autora.

Observa-se na Tabela 6 que as concentrações médias de  $\text{N-NO}_3^-$  no efluente, com exceção dos ensaios 4 e 6, foram todas abaixo de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . A concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3^-$  é o limite máximo aceito pela Resolução CONAMA 396 de 2008 para águas subterrâneas utilizadas para consumo humano. Também é o valor máximo que pode estar presente em rios de água doce Classe 1, segundo Resolução CONAMA 357 de 2005, e é o valor máximo permissível pela Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021, do Ministério da Saúde para água potável (BRASIL, 2008,2005,2021).

Soupir et al. (2018), em um estudo com biorreator de lascas de madeira, verificaram que, com o aumento do TDH, também houve aumento da eficiência de remoção de nitrato. Os autores observaram que, com temperatura de  $21,5^\circ\text{C}$ , a eficiência de remoção de nitrato aumentou de 67% para 96%, quando o TDH foi aumentado de 12 para 24 horas. Assim como Soupir et al. (2018), neste experimento obteve-se o mesmo perfil de eficiência de remoção de nitrato. Por exemplo, no Reator 1, a eficiência aumentou de 49% (Ensaio 4) para 81% (Ensaio 3), quando THD aumentou de 0,67 para 1 dia, respectivamente. Já no Reator 2 a eficiência aumentou de 56% (Ensaio 4) para 86% (Ensaio 3) quando TDH aumentou de 0,67 para 1 dia, respectivamente.

Fowdar et al. (2015), utilizando algodão como substrato, obtiveram uma taxa de desnitrificação média de 72%, que consideraram elevada. Os autores atribuíram a elevada taxa à grande área de superfície específica do algodão, que proporcionou

fixação e colonização microbiana, facilitando o contato entre a fonte de carbono orgânico e nitrato e, também, a taxa de hidrólise de celulose.

Damaraju *et al.* (2015) obtiveram 99% de taxa de desnitrificação em um biorreator com TDH de 8 horas, ao final do ensaio avaliaram com microscópio a superfície das lascas de madeira e observaram a formação de cavidades onde se encontrava grande parte do biofilme formado. Gottschall *et al.* (2016) utilizaram lascas de madeira para remoção de nitrato e antibióticos e obtiveram taxas de remoção de nitrato que variaram de 33% a 74 % e eficiente remoção de antibióticos.

Sun *et al.* (2019), em um estudo utilizando sabugo de milho, obtiveram taxas que variaram de 71% a 100%. Os autores concluíram que a estrutura escamosa da superfície dos sabugos tem impacto significativo na adesão e no crescimento de comunidades de bactérias funcionais, por facilitar a adesão dos microrganismos. Mesmo após 100 dias de operação verificaram que o sabugo de milho ainda manteve uma estrutura física estável, isso pode estar relacionado com a composição da fibra bruta ou lignina, que não é facilmente biodegradada.

Cheikh *et al.* (2013) utilizaram diferentes tipos de plásticos como meio suporte e obtiveram taxa de remoção de nitrato de 100%. Verificaram que a rugosidade e porosidade dos suportes favoreceu a colonização da biomassa.

As taxas de desnitrificação examinadas no presente estudo estão dentro das taxas apresentadas pela literatura. Levando em consideração as colocações de Su *et al.* (2019) e Cheikh *et al.* (2013) descritas acima, pode se relacionar as altas taxas de desnitrificação neste ensaio, obtidas nos dois reatores, à superfície dos substratos utilizados. O sabugo em pedaços deixou à mostra a superfície escamosa proporcionando uma área de superfície para crescimento dos microrganismos. Os Mini Biobobs® são compostos de espuma de poliuretano envolto por um material plástico, assim como os materiais utilizados por Cheikh *et al.* (2013) estes também são polímeros, e possuem porosidade e rugosidade, proporcionando também uma área de superfície facilmente acessível à formação de biofilme pelos microrganismos.

### 5.3 NITRITO

Na Tabela 7 estão apresentadas as concentrações médias de N-NO<sub>2</sub>- dos efluentes de ambos os reatores.

Tabela 7: Concentrações médias de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> nos efluentes dos diferentes ensaios de ambos os reatores.

Ensaio	Efluente (mg N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> L <sup>-1</sup> )	
	Reator 1	Reator 2
1	0,21 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,13 ± 0,02 <sup>b</sup>
2	0,02 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>c</sup>
3	0,02 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,04 ± 0,02 <sup>e</sup>
4	0,29 ± 0,54 <sup>f</sup>	0,57 ± 0,96 <sup>g</sup>
5	0,36 ± 0,47	1,01 ± 0,98
6	2,00 ± 0,78 <sup>h</sup>	0,28 ± 0,07 <sup>i</sup>

Fonte: A autora.

Notas: Letras diferentes na mesma linha indicam resultados estatisticamente diferentes para  $p < 0,05$ , pelos testes Teste t de Student e Teste de Wilcoxon.

Observa-se na Tabela 7 que as médias das concentrações de nitrito são estatisticamente diferentes em quase todos os ensaios, com exceção do ensaio 2. A falta de normalidade apresentada pela média dos resultados do Reator 1 no ensaio 5, impossibilitou a comparação de valores entre ambos os reatores.

Segundo a Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021 do Ministério da Saúde, as concentrações de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para o atendimento aos padrões de potabilidade de água não devem ultrapassar em 1 mg L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2021). Assim, nota-se que, no Reator 1, com suporte apenas de pedaços de espiga de milho, apenas no ensaio 6 o padrão não foi atingido. Já no Reator 2, com suporte de espiga e espuma, o padrão não foi atendido no ensaio 5.

Hua et al. (2016) observaram o acúmulo de nitrito em um biorreator de lascas de madeira sob diferentes condições experimentais. O acúmulo de nitrito aumentou com a diminuição dos TDHs e com o aumento das concentrações de nitrato. Estes autores explicam que TDHs maiores que 12 ou 24 horas seriam necessários para reduzir efetivamente as concentrações de nitrito no efluente do biorreator.

Fowdar et al. (2015), explicam que o nitrito é uma espécie intermediária na cadeia de reação de desnitrificação e pode se acumular transitoriamente dependendo das atividades das enzimas redutases de nitrato e nitrito. O tipo de fonte de carbono utilizado influencia o tipo de microrganismo que se tornam dominantes em uma cultura mista, em algumas cepas bacterianas, a redução do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> compete com a redução do NO<sub>2</sub><sup>-</sup> de forma que o NO<sub>2</sub><sup>-</sup> será reduzido somente após a maior parte do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ter sido reduzida. Entretanto a acumulação de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> pode também ser causada por uma limitação do substrato.



Segundo Cheikh et al. (2013) uma desnitrificação mais completa ocorre onde as concentrações de nitrito de saída são próximas a zero e um maior tempo de residência promove um melhor desempenho do reator.

#### 5.4 TEMPERATURA

Neste trabalho não houve controle da temperatura, cuja média ambiente foi de  $22,01 \pm 2,83$  °C, que está próximo dos padrões estabelecidos pela literatura para crescimento e desenvolvimento das bactérias desnitrificantes. Para atividade ótima microbiana a temperatura deve variar entre 25 a 35°C (METCALF; EDDY, 2003).

É importante o monitoramento da temperatura no controle da desnitrificação em fase sólida, pois a atividade das enzimas envolvidas na hidrólise do substrato sólido e na redução do nitrato dependem da temperatura ótima. Em baixas temperaturas, tanto a eficiência da hidrólise da fonte de carbono quanto a atividade das bactérias desnitrificantes, podem diminuir e ocasionar uma diminuição na taxa de desnitrificação, podendo ser diminuída em cerca de 50% se a temperatura diminuir 5°C (WANG;CHU, 2016). Cameron e Shipper (2010) obtiveram melhores taxas de remoção de nitrato a 23,5 °C utilizando espigas de milho, resíduos verdes, palha de trigo e madeira como substrato. Cameron e Shipper (2011) utilizando sabugo de milho como substrato a uma temperatura média de 21,9 °C, obtiveram maior disponibilidade de carbono, obtendo melhores resultados que o estudo anterior.

#### 5.5 pH

Os valores médios de pH obtidos nos diferentes ensaios estão apresentados na Tabela 8. A remoção biológica de nitrogênio necessita de uma faixa ótima de pH para crescimento das bactérias desnitrificantes, a qual deve estar entre 6,5 e 8,0, (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016; WANG;CHU,2016).

Tabela 8 - Médias de pH do afluente e efluentes.

Ensaio	pH		
	Afluente	Reator 1	Reator 2
1	$5,29 \pm 0,15$	$6,63 \pm 0,40$	$6,86 \pm 0,23$
2	$5,30 \pm 0,23$	$5,96 \pm 2,64$	$7,28 \pm 0,20$
3	$5,84 \pm 0,50$	$7,30 \pm 0,16$	$7,13 \pm 0,34$
4	$5,25 \pm 0,17$	$6,70 \pm 0,36$	$6,67 \pm 0,39$
5	$5,35 \pm 0,00$	$6,65 \pm 0,37$	$6,70 \pm 0,30$
6	$5,53 \pm 0,28$	$6,15 \pm 0,25$	$6,49 \pm 0,36$

Fonte: A autora.

Observando-se os valores médios de pH dos efluentes do Reator 1 e 2 nota-se que a maioria se encontram dentro da faixa ótima descrita na literatura. Si et al. (2018), em um estudo comparando a eficiência de remoção de nitrogênio utilizando as fontes de carbono: palha de trigo, algodão, poli (succinato de butileno) e jornal, descrevem que o alto desempenho da desnitrificação requer condições de pH neutro ou quase neutro. Eles observaram os valores de pH de 6,44 e 6,32 em efluentes tratados em baixa e alta temperatura, 12,5°C e 24,55°C respectivamente, e observaram que o pH do efluente não foi afetado pelas mudanças de temperatura.

Neste experimento pode-se observar que os valores de pH no efluente foram sempre superiores aos do afluente, em todos os ensaios. Em reatores de desnitrificação, o aumento do pH ocorre devido à redução do NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, que libera OH<sup>-</sup> para o meio, aumentando o valor de pH (FOWDAR et al., 2015).

Cheikh et al. (2013), obtiveram uma faixa de pH de 6 a 8 em um experimento utilizando carvão ativado e diferentes tipos de plásticos. Damaraju et al. (2015) obtiveram uma faixa de pH de 6,8 a 7,2 em um biorreator de lascas de madeira. A faixa de pH obtida por Healy et al. (2012), utilizando diferentes tipos de substratos, foi de 7,3 a 8,5.

## 5.6 ALCALINIDADE

Os valores médios de alcalinidade obtidos em todos os ensaios, em ambos os reatores, estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Médias de alcalinidade medida no afluente e efluente.

Ensaio	Afluente (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	Efluente (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	
		Reator 1	Reator 2
1	13,45 ± 1,89	50,71 ± 12,81	59,33 ± 10,34
2	5,17 ± 0,33	43,57 ± 22,40	72,00 ± 3,35
3	7,38 ± 1,94	67,71 ± 10,49	67,73 ± 6,24
4	9,78 ± 2,18	50,82 ± 11,59	50,16 ± 18,15
5	11,57 ± 0,00	97,66 ± 2,71	91,74 ± 6,49
6	22,71 ± 12,78	57,11 ± 14,88	71,01 ± 7,89

Fonte: A autora.

Observa-se que em todos os ensaios a alcalinidade do efluente foi maior que do afluente. Esse fato se explica porque, durante o processo de desnitrificação, para cada 1 mg de nitrato reduzido a nitrogênio gasoso, são gerados 3,57 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> de alcalinidade (METCALF; EDDY, 2016).

Quando o nitrato não é totalmente convertido a nitrogênio gasoso são encontrados menores valores de alcalinidade no efluente, podendo indicar a queda na eficiência de desnitrificação (WOSIACK, 2014). Esta afirmação pode explicar o fato de os menores valores de alcalinidade terem ocorrido no TDH de 0,67 dias, onde também ocorreram as menores taxas de desnitrificação, 42,90% no R1 e 48,90% no R2. Nos demais TDHs ocorreram as melhores taxas de desnitrificação e pode ser observado que foi mantida a alcalinidade. A geração de alcalinidade também permite a manutenção do pH na faixa ótima para os microrganismos desnitrificantes, e pode ser verificada pelo aumento no pH (Tabela 8). No afluente o pH se manteve em aproximadamente 5, e no efluente de cada reator o pH se manteve entre 6 e 7 aproximadamente.

## 5.7 RESULTADOS DE TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS, VOLÁTEIS E FIXOS

Os resultados das análises de sólidos totais, voláteis e fixos, de ambos os reatores, estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Concentração média em mg L<sup>-1</sup> de sólidos no afluente e efluente dos reatores 1 e 2

Ensaio	Afluente			Efluente					
				Reator 1			Reator 2		
	ST	STF	STV	ST	STF	STV	ST	STF	STV
2	0,17 ±	0,06 ±	0,10 ±	0,20 ±	0,06 ±	0,15 ±	0,11 ±	0,07 ±	0,05 ±
	0,00	0,00	0,00	0,06	0,02	0,05	0,03	0,01	0,02
3	0,33 ±	0,04 ±	0,29 ±	0,24 ±	0,17 ±	0,07 ±	0,22 ±	0,15 ±	0,08 ±
	0,00	0,00	0,00	0,05	0,08	0,07	0,04	0,08	0,08
4	0,29 ±	0,25 ±	0,03 ±	0,25 ±	0,19 ±	0,06 ±	0,26 ±	0,22 ±	0,05 ±
	0,13	0,13	0,03	0,07	0,07	0,05	0,08	0,09	0,04
5	0,19 ±	0,04 ±	0,14 ±	0,11 ±	0,03 ±	0,09	0,19 ±	0,04 ±	0,15 ±
	0,01	0,03	0,02	0,07	0,03	±0,04	0,08	0,02	0,08
6	0,31 ±	0,12 ±	0,21 ±	0,20 ±	0,08 ±	0,13 ±	0,20 ±	0,07 ±	0,15 ±
	0,03	0,08	0,14	0,10	0,08	0,13	0,11	0,08	0,13

Fonte: A autora.

As concentrações de ST no afluente e no efluente foram relativamente baixas. STF e STV no afluente e nos efluentes em todos os ensaios se mantiveram baixas. Neste experimento não foram encontrados sólidos suspensos voláteis (SSV), segundo Wosiack (2014), as baixas concentrações de SSV no efluente indicam que não ocorreu eliminação da biomassa e é uma vantagem em reatores de leito fixo. Por outro lado, as baixas concentrações de sólidos podem indicar que ocorreu um baixo crescimento de organismos.

## 5.8 ANÁLISE DE NMP

Para verificar se diferentes cargas de nitrogênio afluente interferem na concentração de bactérias desnitrificantes no meio, foi realizada a contagem dos microrganismos desnitrificantes pelo método do NMP nos ensaios 5 e 6, com TDH de 4 e 0,67 dias, respectivamente. Ou seja, o maior e o menor TDH utilizados durante o experimento.

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados de NMP.

Tabela 11 - Resultados do NMP de bactérias desnitrificantes presentes nos suportes dos ensaios 5 e 6.

Reator	Meio suporte	(NMP mL <sup>-1</sup> )	
		Ensaio 5	Ensaio 6
1	Sabugo	6x10 <sup>5</sup>	2,2x10 <sup>6</sup>
2	Mini Biobobs®	2x10 <sup>5</sup>	9,2x10 <sup>5</sup>
2	Sabugo	2x10 <sup>4</sup>	2,4x10 <sup>6</sup>

Fonte: A autora.

As estimativas em termos de NMP mL<sup>-1</sup> variaram, neste ensaio, entre 104 a 106. Para um reator utilizando lascas de madeira, Ilhan et al. (2011) relataram uma estimativa para bactérias desnitrificantes de 1x10<sup>9</sup>. Oliveira et al. (2013) obtiveram a estimativa do NMP para bactérias desnitrificantes em lodo ativado variando entre 3,3x10<sup>5</sup> e 2,4x10<sup>10</sup>, tais estimativas indicam eficiente conversão do nitrato a nitrogênio gasoso.

As bactérias desnitrificantes mais importantes são *Micrococcus denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus denitrificans*. Estas espécies reduzem NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mesmo na presença de O<sub>2</sub> (DAMARAJU et al., 2015). Su et al. (2019), verificaram a diversidade microbiana em reator com sabugo de milho, e

observaram que os filos Proteobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes foram predominantes, sendo o Proteobacteria, importante na degradação da lignocelulose, fornecendo fontes de carbono disponíveis para desnitrificação. Zhao et al. (2018) também verificaram a presença de Bacteroidetes e Proteobacteria em biorreatores de lascas de madeira, estes filos desempenham um papel importante na degradação lignocelulósica , que pode fornecer fontes de carbono disponíveis para desnitrificação.

## 6 CONCLUSÕES

Através do trabalho realizado, foi possível concluir que:

- A remoção de nitrato foi elevada em todas os ensaios estudados nos dois reatores.
- No reator 2, com sabugo e Mini Biobob®, a eficiência de remoção foi ligeiramente maior que no Reator 1, com suporte de sabugo.
- Quando houve aumento no TDH, também houve aumento da eficiência de remoção de nitrato, e não houve geração de nitrito.
- Com TDH acima de 1 dia, possibilitou remoção de nitrato em taxas superiores a 70%.
- Com TDH de 0,67 dia, a taxa de remoção caiu para cerca de 40% e foram obtidos os menores valores de alcalinidade.
- A superfície escamosa, a rugosidade e a porosidade dos materiais utilizados como suporte para crescimento bacteriano, foram fundamentais para a eficiência do sistema, pois permitiu que a biomassa crescesse e ficasse aderida ao substrato. A presença de bactérias desnitrificantes na biomassa de ambos os reatores foi comprovada pela análise de NMP.

## **SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Com o objetivo de complementar os resultados obtidos, recomenda-se:

- Realizar análise microbiológica para identificar e quantificar os microrganismos;
- Realizar análise para verificar ocorrência de lixiviação de nutrientes;
- Testar a remoção de antibióticos.

## REFERÊNCIAS

- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1709-1721, 2006.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. Washington: 1998.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21 ed. Washington: 2005.
- ASHOK, V.; HAIT, S. Remediation of nitrate-contaminated water by solid-phase denitrification process - a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Germany, v. 22, n.11, p. 8075–8093, jun,2015.
- BARANA, A. C.; LOPES, D.D.; MARTINS, T.H.; POZZI, E.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; DEL NERY, V.; FORESTI, E. Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for post-treatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p.453-459, set. 2013.
- BIOPROJ. Tecnologia Ambiental. Disponível em: <http://bioproj.tecnologia.ws/tecnologia/biobob> , Acesso em: 20 mar. 2021
- BOGNOLA, I.A.; POTTER, R.O.; CARVALHO, A.P.; FASOLO, P.J.; BHERING, S. B.; MARTORANO, L.G. Caracterização dos Solos do Município de Carambeí, PR. **Embrapa Solos: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, n.8, dez.2002.
- BRASIL. **PORTARIA GM/MS Nº 888**, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Publicado no D.O.U.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº 357**, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O.U.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº 396**, de 3 de abril de 2008. Classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Publicado no D.O.U.
- CAMERON, S. C.; SCHIPPER, L. A. Nitrate removal and hydraulic performance of organic carbon for use in denitrification beds. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 11, p. 1588-1595, nov. 2010.
- CAMERON, S. G.; SCHIPPER, L. A. Evaluation of passive solar heating and alternative flow regimes on nitrate removal in denitrification beds. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 8, p.1195-1204, ago. 2011.
- CHANG, C. Y.; TANONG, K.; XU, J.; SHON, H. Microbial community analysis of an aerobic nitrifying-denitrifying MBR treating ABS resin wastewater. **Bioresource Technology**, [s.l], v. 102, n. 9, p. 5337–5344, mai. 2011.
- CHEIKH, A.; YALA, A.; DROUCHE, N.; ABDIA, N.; LOUNICI, H.; MAMERIC, N. Denitrification of water in packed beds using bacterial biomass immobilized on waste plastics as supports. **Ecological Engineering**, v.53, p.329-334, abr.2013.



COSTA, D. D.; KEMPKA, A. P.; SKORONSKI, E. A contaminação de mananciais de abastecimento pelo nitrato: O panorama do problema no Brasil, suas consequências e as soluções potenciais. **REDE – Revista Eletrônica do PRODEMA**, Fortaleza, Brasil, v. 10, n. 2, p. 49-61, jul. 2016.

DAMARAJU, S.; SINGH, U. K.; SREEKANTH, D.; BHANDARI, A. Denitrification in biofilm configured horizontal flow woodchip bioreactor: effect of hydraulic retention time and biomass growth. **Ecohydrology and Hydrobiology**, v. 15, n. 1, p. 39–48, dez.2015.

DE SALES, P. F.; BERTOLI, A. C.; PINTO, F.M.; MAGRIOTIS, Z. M. Produção, Caracterização e Aplicação do Carvão Ativado Obtido a partir do Sabugo de Milho: A Busca pelo Reaproveitamento de um Resíduo Agroindustrial. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1174-1188, jan.2015.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 356-365, 1961.

FOWDAR, H. S.; HATT, B. T.; BREEN, P.; COOK, P. LM.; DELETIC, A. Evaluation of sustainable electron donors for nitrate removal in different water media. **Water Research**, v. 85, p. 487- 496, nov. 2015.

GAYLE, B.P.; BOARDMAN, G. D.; SHERRARD, J. H.; BENOIT, R.E. Biological Denitrification of Water. **Journal of Environmental Engineering**, v. 155, n.5, p. 930-943, 1989.

GOTTSCHALLA, N.; EDWARDS, M.; CRAIOVAN, E.; FREY, S. K.; SUNOHARA, M.; BALL, B.; ZOSKI, E.; TOPP, E.; KHANAI, I.; CLARK, I.D.; LAPEN, D.R. Amending woodchip bioreactors with water treatment plant residuals to treat nitrogen, phosphorus, and veterinary antibiotic compounds in tile drainage. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 852-864, out. 2016.

HANG, Q.; WANG, H.; CHU, Z.; YE, B.; LI, C.; HOU, Z. Application of plant carbon source for denitrification by constructed wetland and bioreactor: review of recent development. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8260–8274, mar.2016.

HEALY, M. G.; IBRAHIM, T. G.; LANIGAN, G. J.; SERRENHO, A. J.; FENTON, O. Nitrate removal rate, efficiency and pollution swapping potential of different organic carbon media in laboratory denitrification bioreactors. **Ecological Engineering**, v. 40, p. 198 -209, mar. 2012.

HOOVER, N.; BHANDARI, A.; SOUPIR, M.; MOORMAN, T. Woodchip denitrification bioreactors: impact of temperature and hydraulic retention time on nitrate removal. **Journal of Environmental Quality**, v.45, p. 803-812, nov. 2015.

HU, R.; ZHENG, X.; ZHENG, T.; XIN, J.; WANG, H.; SUN, Q. Effects of carbon availability in a woody carbon source on its nitrate removal behavior in solid-phase denitrification. **Journal of Environmental Management**, v. 246, p. 832-839, set. 2019.

HUA, G.; SALO, M. W.; SCHMIT, C. G.; HAY, C. H. Nitrate and phosphate removal from agricultural subsurface drainage using laboratory woodchip bioreactors and recycled steel byproduct filter. **Water Research**, v.102, p. 180-189, out. 2016.

ILHAN, Z.E.; ONG, S. K.; MOORMAN, T. B. Dissipation of Atrazine, Enrofloxacin, and Sulfamethazine in Wood Chip Bioreactors and Impact on Denitrification. **Journal of Environmental Quality**, v. 40, n.6, p, 1816-1823, 2011.

JADOSKI, S. O.; SAITO, L. R.; PRADO, C.; LOPES, E. C.; SALES, L. L. S. R. Características da lixiviação de nitrato em áreas de agricultura intensiva. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 193–200, abr. 2010.

JUNIOR, A. B. B.; CORREA, M. M. J.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Influência do Fe(III) no lixiviado de rejeito de níquel no processo de troca-iônica. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 322-326, set. 2018.

LI, B.; IRVIN, S. The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR). **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, n. 3, p. 248-255, 2007.

LOCKHART, K.M.; KING, A.M.; HARTE, T. Identifying sources of groundwater nitrate contamination in a large alluvial groundwater basin with highly diversified intensive agricultural production. **Journal of Contaminant Hydrology**, v.151, p. 140-154, 2013.

MACIEIRINHA, V. R. **Quantificação de bactérias nitrificantes, desnitrificantes e heterotróficas em reator de leito estruturado utilizado no tratamento de efluente de laticínios**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina. 2017.

MARDANI, S.; MCDANIEL, R.; BLEAKLEY, B. H.; HAMILTON, T. L.; SALAM, S.; AMEGBLETOR, L. The effect of woodchip bioreactors on microbial concentration in subsurface drainage water and the associated risk of antibiotic resistance dissemination. **Ecological Engineering: X**, v. 6, abr.2020,

MENDES, W. D. C.; JUNIOR, J. A.; CUNHA, P. C. R.; SILVA, A. R.; EVANGELISTA, A. W. P.; CASAROLI, P. Lixiviação de nitrato em função de lâminas de irrigação em solos argiloso e arenoso. **Irriga**, v. 1, n. 2, p. 47–56, jun.2015.

METCALF E EDDY. **Wastewater Engineer: Treatment and Reuse**. 4 ed. New York: McGraw-Hill, 2003.

METCALF E EDDY. **Wastewater Engineer: Treatment and Resource Recovery**. 5 ed, New York: McGraw-Hill, 2016.

NORDSTRÖM, A.; HERBERT, R. B. Determination of major biogeochemical processes in a denitrifying woodchip bioreactor for treating mine drainage. **Ecological Engineering**, v. 110, n. set. 2017, p. 54–66, 2018.

OLIVEIRA, J. G. B. de. **Reator de leito estruturado com aeração intermitente para tratamento combinado de esgoto sanitário e pós tratamento de efluente de RALF**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 2016.

OLIVEIRA, A. C. D. G.; BLAICH, C. I.; LOPES, D. D.; SANTANA, S. V.; PRATES, K. NMP de bactérias nitrificantes e desnitrificantes e sua relação com os parâmetros físico-químicos em lodo ativado para remoção biológica de nitrogênio de lixiviado de aterro sanitário. **Revista DAE**, n.192, p.60-69, 2013.

OVEZ, B. Batch biological denitrification using *Arundo donax*, *Glycyrrhiza glabra*, and *Gracilaria verrucosa* as carbon source. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1289–1295, dez. 2006.

RESENDE, A. V de.; Agricultura e qualidade da água: contaminação da água por nitrato. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, 29p. 2002.

RODRIGUES, V. A. J. **Influência do sedimento no processo de remoção de nitrogênio por nitrificação/desnitrificação em lagoas de polimento**. 2016. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

SCHIPPER, L. A.; ROBERTSON, W. D.; GOLD, A. J.; JAYNES, D. B.; CAMERON, S. C. Denitrifying bioreactors - An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 11, p. 1532–1543, nov. 2010.

SGORLON, J. G.; RIZK, M. C.; BERGAMASCO, R.; TAVARES, C. R. G. Avaliação da DQO e da relação C/N obtidas no tratamento anaeróbio de resíduos frutícolas. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v.33, n.4, p. 421-424, set. 2011.

SI, Z.; SONG, X.; WANG, Y.; CAO, X.; ZHAO, Y.; WANG, B.; CHEN, Y.; AREFE, A. Intensified heterotrophic denitrification in constructed wetlands using four solid carbon sources: Denitrification efficiency and bacterial community structure. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 416–425, nov. 2018.

SOUPIR, M. L.; HOOVER, N. L.; MOORMAN, T. B.; LAW, J. Y.; BEARSON, B. L. Impact of temperature and hydraulic retention time on pathogen and nutrient removal in woodchip bioreactors. **Ecological Engineering**, v. 112, p. 153–157, mar.2018.

SUN, G.; WAN, J.; SUN, Y.; LI, H.; CHANG, C.; WANG, Y. et al. Enhanced removal of nitrate and refractory organic pollutants from bio-treated coking wastewater using corncobs as carbon sources and biofilm carriers. **Chemosphere**, v. 237, p.1-8, dez. 2019.

TIEDJE, J. (1984). Denitrification, in: “Methods of Soil Analysis - Chemical and Microbiological Properties”, Number 9, Part 2, 2ª ed, p.1011-1026, Wisconsin, Estados Unidos.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1996. 243 p.

WANG, J.; CHU, L. Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-phase denitrification process. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 6, p. 1103-1112, nov. 2016.

WARNEKE, S.; SCHIPPER, L. A.; MATIASEK, M. G.; SCOW, K. M.; CAMERON, S.; BRUESEWITZ, D. A.; McDONALD, I. R. Nitrate removal, communities of denitrifiers and adverse effects in different carbon substrates for use in denitrification beds. **Water Research**, v. 45, n. 17, p. 5463–5475, nov.2011.

WENDLING, A.C. **Remoção simultânea de matéria orgânica e nitrogênio total em reator de leito estruturado com aeração intermitente tratando efluente composto esgoto bruto e efluente de Ralf**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2017.

WONGSANIT, J.; TEARTISUP, P.; KERDSUEB, P.; THARNPOOPHASIAM, P.; WORAKHUNPISET, S. Contamination of nitrate in groundwater and its potential human health: a case study of lower Mae Klong river basin, Thailand. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p. 11504-11512, 2015.

WOSIACK, P.A. **Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de águas residuárias da indústria de ração animal em reator de leito estruturado**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

WOSIACK, P. A.; LOPES, D. D.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E.; GRANATO, D.; BARANA, A.C. Removal of COD and nitrogen from animal food plant wastewater in an intermittently-aerated structured-bed reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 145-1501, mai. 2015.

XU, Z.; SHAO, L.; YIN, H.; CHU, H.; YAO, Y. Biological Denitrification Using Corncoobs as a Carbon Source and Biofilm Carrier. **Water Environment Research**, v. 81, n. 3, p. 242–247, 2009.

XU, Z.; DAI, X.; CHAI, X. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 195–204, set. 2018.

YU, L.; CHEN, T.; XU, Y. Effect of corn cobs as external carbon sources on nitrogen removal in constructed wetlands treating micro-polluted river water. **Water Science & Technology**, v.79, n.9, p. 1639-1647, mai.2019.

ZHAO, J.; FENG, C.; TONG, S.; CHEN, N.; DONG, S.; PENG, T.; JIN, S. Denitrification behavior and microbial community spatial distribution inside woodchip-based solid-phase denitrification (W-SPD) bioreactor for nitrate-contaminated water treatment. **Bioresource Technology**, v. 249, set. 2017, p. 869–879, fev.2018

ZHENG, Z.; ALI, A.; SU, J.; HUANG, T.; WANG, Y.; ZHANG, S. Fungal pellets immobilized bacterial bioreactor for efficient nitrate removal at low C/N wastewater. **Tecnologia Bioresource**, v.332, jul. 2021.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, Á. Parâmetros operacionais na

remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 29–42, mar. 2016.