

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO *Stricto sensu*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ELAINE MACEDO STOLLE

REMOÇÃO DE NITRATOS DE ÁGUA DE DRENAGEM AGRÍCOLA UTILIZANDO
BIORREATORES COM DIFERENTES FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA

PONTA GROSSA

2022

ELAINE MACEDO STOLLE

REMOÇÃO DE NITRATOS DE ÁGUA DE DRENAGEM AGRÍCOLA UTILIZANDO
BIORREATORES COM DIFERENTES FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Estadual de Ponta
Grossa

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Cláudia Barana

PONTA GROSSA

2022

S875 Stolle, Elaine Macedo
Remoção de nitratos de água de drenagem agrícola utilizando biorreatores com diferentes fontes de matéria orgânica / Elaine Macedo Stolle. Ponta Grossa, 2022.
60 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Barana.

1. Desnitrificação. 2. Bactérias heterotróficas. 3. Processos biológicos. I. Barana, Ana Cláudia. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

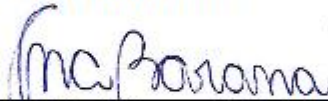
TERMO DE APROVAÇÃO

ELAINE MACEDO STOLLE

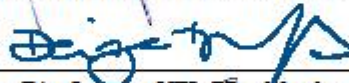
"Remoção de Nitratos de água de drenagem agrícola utilizando biorreatores com diferentes fontes de matéria orgânica".

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

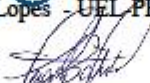
Orientador(a): Prof.ª Dra. Ana Cláudia Barana



Prof.ª Dra. Ana Cláudia Barana - UEPG-PR - Presidente



Prof.ª Dra. Deize Dias Lopes - UEL-PR - Membro Titular Externo



Prof.ª Dra. Jesiane Stefanea da Silva Batista - UEPG-PR - Membro Titular Interno

Ponta Grossa, 02 de setembro de 2022.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda a sabedoria, força e iluminado em todos os momentos.

Aos meus familiares, em especial a minha mãe Ivete, pelo amor incondicional, carinho e pelo apoio em todas as decisões e escolhas.

Aos meus irmãos Paulo e Adrielly por estarem sempre me incentivando.

À Professora Dra. Ana Claudia Barana, pela orientação deste trabalho, por toda a paciência, atenção, ensinamentos e por ter me acolhido novamente no LEMA.

Aos amigos e colegas de laboratório e Mestrado, João, Giulia, Priscila e Francisca (Sandra), pelas ajudas, risadas e principalmente parceria durante todo o trabalho.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, por proporcionar a realização da pós-graduação

E a todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram a chegar até aqui.

Muito obrigada!

RESUMO

O nitrogênio é um dos principais constituintes da atmosfera, ele é importante para vários organismos sobreviverem e circula pela natureza em vários estados de oxidação, desde a forma amoniacal (NH_3), a mais reduzida, até a forma de nitrato (NO_3^-), a mais oxidada. O nitrato, quando transferido em grandes quantidades para as águas superficiais, pode trazer graves problemas ao meio ambiente, como o aparecimento de algas, e à saúde de humanos e animais, como a manifestação de câncer no sistema gastrointestinal e a metahemoglobinemia em bebês. Um dos nutrientes mais utilizados na agricultura é o nitrogênio, que pode escoar para os corpos d'água quando não absorvido pelas plantas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de remoção de nitratos em água de drenagem agrícola, utilizando biorreatores de leito fixo com diferentes fontes de matéria orgânica, como suportes caule de milho, sabugo de milho e um suporte inerte de elevada porosidade: espuma de poliuretano (Mini Biobobs[®]), com diferentes misturas em cada reator. O estudo foi dividido em duas fases: Fase I, sem controle de temperatura e com Tempos de Detenção Hidráulica (TDH) de 24, 16 e 8 horas; e Fase II, com temperatura controlada em 18 e 30°C e TDH de 8 h. Em ambas as fases o afluente era composto por água de drenagem agrícola enriquecida de 20 mg L⁻¹ de N-NO₃. Os melhores resultados obtidos na Fase I foram com TDHs de 24 e 16 h, nos reatores preenchidos com os suportes biodegradáveis. Na Fase II, os melhores resultados foram obtidos com o reator preenchido com uma mistura de sabugo e Mini Biobobs[®] mantido a 30°C e TDH de 8h, com 73,86% ± 4,88 de eficiência de remoção. O reator preenchido apenas com Mini Biobobs[®] não apresentou remoção de nitrato, indicando a necessidade de uma fonte de matéria orgânica para as bactérias desnitrificantes heterotróficas. Os resultados de pH, alcalinidade e nitrito nas duas fases demonstraram estar dentro das condições ideais para ocorrência da remoção e a NMP confirmou a presença de bactérias desnitrificantes no sistema. O processo de desnitrificação seguiu uma equação cinética de ordem zero, indicando que, dentro das condições estudadas, a concentração de substrato não interferiu na eficiência do processo. Os resultados indicam que os resíduos do milho são promissores e viáveis como alternativa para uso em reatores que visam a remoção de nitrato em águas de drenagem agrícola.

Palavras-chave: Desnitrificação, Bactérias heterotróficas, Processos biológicos

ABSTRACT

Nitrogen is one of the main constituents of the atmosphere, several organisms need to survive and it circulates in nature in various oxidation states, from the ammoniacal form (NH_3), the most reduced, to the nitrate form (NO_3^-), the more oxidized. Nitrate, when transferred in large quantities to surface waters, can cause serious problems to the environment, such as the appearance of algae, and to the health of humans and animals, such as the manifestation of cancer in the gastrointestinal system and methemoglobinemia in babies. One of the most used nutrients in agriculture is nitrogen, which can drain into water bodies when not absorbed by plants. The objective of this work was to evaluate the potential of nitrate removal in agricultural drainage water, using fixed bed bioreactors with different sources of organic matter, using corn stalk, corn cob, and an inert support of high porosity: foam of polyurethane (Mini Biobobs[®]), with different mixtures in each reactor. The study was divided into two phases: Phase I, without temperature control and with Hydraulic Detention Times (TDH) of 24, 16, and 8 hours; and Phase II, with the controlled temperature at 18 and 30°C and TDH of 8 h. In both phases, the affluent consisted of agricultural drainage water enriched with 20 mg L⁻¹ of N- NO_3 . The best results obtained in Phase I was with 24 and 16 h TDHs, in reactors filled with biodegradable supports. In Phase II, the best results were obtained with the reactor filled with a mixture of cob and Mini Biobobs[®] kept at 30°C and TDH of 8h, with 73.86% \pm 4.88 removal efficiency. The reactor filled only with Mini Biobobs[®] showed no nitrate removal, indicating the need for a source of organic matter for heterotrophic denitrifying bacteria. The pH, alkalinity, and nitrite results in the two phases showed to be within the ideal conditions for the removal to occur and the NMP confirmed the presence of denitrifying bacteria in the system. The denitrification process followed a zero-order kinetic equation, indicating that, under the conditions studied, the substrate concentration did not affect the efficiency of the process. The results indicate that corn residues are promising and viable as an alternative for use in reactors aimed at removing nitrate from agricultural drainage water.

Keywords: Denitrification, Heterotrophic bacteria, Biological processes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das principais conversões biológicas envolvidas no ciclo do nitrogênio.....	13
Figura 2: Esquema de diferentes projetos de “Paredes de desnitrificação”, “Leitos de desnitrificação” e “Camadas de desnitrificação”.....	20
Figura 3: Foto do suporte Biobob®.....	24
Figura 4: Exemplificação dos sistemas de drenagem.....	25
Figura 5: Foto da lagoa de contenção das águas de drenagem agrícola.....	26
Figura 6: Foto dos Mini Biobobs®, sabugos e caules de milho, limpos e com tamanhos padronizados.....	29
Figura 7: Foto dos biorreatores preenchidos com os respectivos suportes..	29
Figura 8: Foto da configuração dos biorreatores.....	31
Figura 9: Concentração de nitrato afluente e efluente em cada reator em TDH estudado na Fase I (Temperatura ambiente).....	36
Figura 10: MEV dos resíduos agrícolas investigados (500x).....	39
Figura 11: Eficiência de remoção de N-NO ₃ e temperatura em cada TDH.....	42
Figura 12: Gráfico com teores de Sólidos totais (ST) no afluente e efluente dos reatores obtidos na Fase I.....	47
.Figura 13: Gráfico com teores de Sólidos totais voláteis (STV) no afluente e efluente dos reatores obtidos na Fase I.....	48
Figura 14: Gráfico das concentrações de nitrato obtidas durante os ensaios cinéticos realizados nos diferentes reatores.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características dos processos de remoção de nitratos em água.	16
Tabela 2: Dados de eficiência de remoção de nitrato em reatores com diferentes fontes de carbono e condições operacionais de TDH, concentração afluyente de N-NO ₃ e temperatura em diversas referências	22
Tabela 3: Caracterização média dos 5 lotes da água de drenagem agrícola.....	27
Tabela 4: Material suporte e volume útil de cada reator.....	28
Tabela 5: Parâmetros operacionais dos reatores nas Fases I e II.	30
Tabela 6: Parâmetros, métodos e frequência das análises realizadas.	32
Tabela 7: Eficiência de remoção de N-NO ₃ de cada reator na Fase I.....	37
Tabela 8: Concentrações de N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹) – Fase I.....	40
Tabela 9: Eficiência média de remoção de N-NO ₃ nos diferentes reatores durante a Fase II no TDH de 8 h.....	42
Tabela 10: pHs obtidos na Fase I.....	44
Tabela 11: Alcalinidade (mg de CaCO ₃ L ⁻¹) obtidos na Fase I.	45
Tabela 12: Alcalinidade (mg de CaCO ₃ L ⁻¹) obtidos na Fase II.	46
Tabela 13: Número Mais Provável (NMP) de Bactérias Desnitrificantes em TDH de 8 h	48
Tabela 14: Equações cinéticas de ordem zero no processo de desnitrificação.	51

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

C - Carbono

CA - Reator preenchido com Caule de milho

CA + E - Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobob[®]

CaCO₃ - Carbonato de Cálcio

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

DQO - Demanda Química de Oxignio

E - Reator preenchido com Mini Biobob[®]

FBN - Fixação Biológica de Nitrogênio

H₂O - gua

MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura

N - Nitrogênio

N₂ - Nitrogênio molecular

N₂O - xido Nitroso

N-NH₄⁺ - Nitrogênio na forma de amônio

N-NO₂⁻ - Nitrogênio na forma de Nitrito

N-NO₃⁻ - Nitrogênio na forma de Nitrato

NO - xido Ntrico

NMP- Número mais Provável

OD - Oxignio Dissolvido

PIB - Produto Interno Bruto

PEAD - Polietileno de Alta Densidade

PU - Poliuretano

PET - Politereftalato de Etileno

NAR - Redutase Dissimilatria do Nitrato

SA - Reator preenchido com Sabugo de milho

SA + E - Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobob[®]

ST - Sólidos Totais

STV - Sólidos Totais Voláteis

T - Temperatura

TDH - Tempo de Detenção Hidráulica

UEPG - Universidade Estadual de Ponta Grossa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO	13
3.1	NITROGÊNIO	13
3.1.1	Nitrato em Águas de Abastecimento	14
3.1.2	Desnitrificação	16
3.1.3	Biorreatores Desnitrificantes	19
3.1.4	Suportes Utilizados na Presente Pesquisa: Resíduos da Produção de Milho e Suporte de biomassa Biobobs®	23
3.1.4.1	<i>Resíduos da produção do milho</i>	23
3.1.4.2	<i>Suporte Biobob®</i>	23
3.1.5	Substrato Utilizado: Água de Drenagem Agrícola	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	SUBSTRATO UTILIZADO	26
4.2	CONFIGURAÇÃO DOS REATORES	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	ANÁLISE DA REMOÇÃO DE N-NO ₃	35
5.2	NITRITO	40
5.3	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA	41
5.4	pH E ALCALINIDADE	44
5.5	SÓLIDOS TOTAIS (ST) E SÓLIDOS TOTAIS VOLÁTEIS (STV)	46
5.6	NMP DAS BACTÉRIAS DESNITRIFICANTES	48
5.7	ANÁLISE DA CINÉTICA DA REMOÇÃO DE NITRATO	50
6	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2021 o agronegócio representou 27,4% do PIB brasileiro (CEPEA/ESALQ, 2022). O agronegócio envolve os ramos agrícola e pecuário. Os fertilizantes nitrogenados são amplamente empregados na agricultura e, quando não totalmente assimilados pelas plantas, acabam sendo lixiviados para as águas subterrâneas ou carregados pela água pluvial e escoando para os corpos d'água (ZHAO *et al.*, 2011).

O excesso de compostos nitrogenados estimula a ocorrência da eutrofização de corpos d'água. A eutrofização pode favorecer a floração de algas, resultando em aumento da biomassa fitoplanctônica e mudança na composição de espécies, com predomínio de espécies tóxicas, como por exemplo, as cianobactérias. Com a presença de algas ocorre aumento da turbidez da água, que faz com que diminua a penetração da luz nos corpos d'água, causando a redução das concentrações de oxigênio dissolvido na coluna d'água. Verificam-se também mudanças na produção de biomassa e composição de espécies de plantas vasculares, resultando em diminuição do valor estético do corpo d'água (de Souza *et al.*, 2014).

Problemas com o sabor e odor da água, devido a eutrofização inviabilizam seu uso para o abastecimento humano ou dessedentação de animais. Além disso, o consumo de águas contaminadas com excesso de nitrato pode provocar diversas doenças em animais e humanos. Os ruminantes (bovinos e ovinos) e alguns monogástricos (equinos) apresentam certas bactérias no trato digestivo que convertem nitrato em nitrito, levando a uma forma de envenenamento (MEDEIROS *et al.*, 2003). Já nos humanos pode desenvolver câncer no sistema gastrointestinal, devido à formação nitrosaminas e nitrosamidas, resulta no transporte insuficiente de oxigênio no sangue, levando a insuficiência cardíaca, respiratória e a metahemoglobinemia, responsável pela a “síndrome do bebê azul” (ALABURDA; NISHIHARA, 1998).

Para o tratamento de águas de drenagem agrícola contaminadas com nitrato, pesquisadores têm estudado o uso de biorreatores com suporte orgânico biodegradável, onde bactérias heterotróficas desnitrificantes poderão se fixar e utilizar o meio como fonte de carbono. Uma variedade de suportes orgânicos biodegradáveis já foi testada com sucesso, como serragem e cavacos de madeira,

casca de arroz e de nozes, algodão, palha de cevada, de trigo e de milho e o próprio sabugo de milho.

Os estudos foram conduzidos em diversos países, incluindo Estados Unidos, China, Nova Zelândia e em países na Europa, desde 1995 (ROBERTSON; CHERRY, 1995; DELLA ROCCA; BELGIORNO; MERIÇ, 2005; MOORMAN *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2013, NORDSTRÖM; HERBERT, 2017; SATAYEVA *et al.*, 2018; FATEHI-POULADI *et al.*, 2019; YAO *et al.*, 2020; HELLMAN, 2021).

No Brasil o uso desse tipo de biorreator com suporte orgânico para remoção de nitrato ainda é incipiente, existindo poucas publicações explorando os diversos resíduos agrícolas gerados no país. Os resíduos agrícolas apresentam em sua composição celulose, um recurso renovável e componente básico de todos os materiais vegetais, podendo substituir outras tecnologias que consomem produtos químicos não renováveis e que podem apresentar toxicidade, além da redução dos impactos ambientais que os materiais residuais deixados nos campos agrícolas representam, promovendo assim o desenvolvimento sustentável e atendendo às Legislações Ambientais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a remoção de nitratos de água de drenagem agrícola em biorreatores de leito fixo com suporte biodegradável de caule e sabugo de milho.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

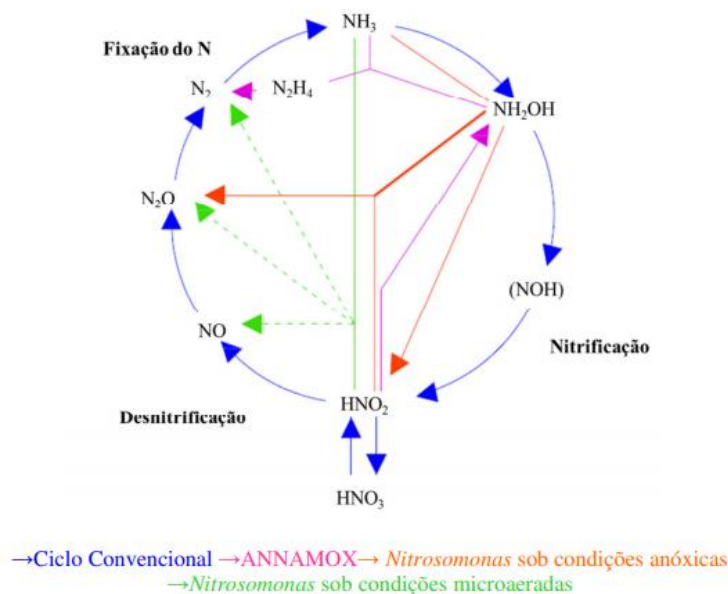
- Avaliar a eficiência de remoção de nitratos em 5 biorreatores preenchidos com suportes: Caule, Caule e Mini Biobobs[®], Sabugo, Sabugo e Mini Biobobs[®] e com Mini Biobobs[®];
- Avaliar a eficiência de remoção de nitratos em biorreatores nos tempos de detenção hidráulica (TDH) de 24, 16 e 8 horas;
- Avaliar a eficiência de remoção de nitratos em biorreatores nas temperaturas de 18 e 30°C;
- Utilizar a técnica do NMP (Número Mais Provável) para quantificar as bactérias heterotróficas desnitrificantes nas diferentes condições experimentais;
- Avaliar a velocidade de remoção de nitrato nas diferentes condições estudadas.

3 REVISÃO

3.1 NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é um dos principais constituintes da atmosfera, perfazendo cerca de 78% da composição do ar. É um dos principais elementos químicos, constituinte de moléculas variadas e, portanto, um macronutriente essencial para qualquer organismo. O processo pelo qual o nitrogênio circula entre componentes bióticos (microrganismos, plantas, animais) e abióticos (matéria orgânica do solo, recursos hídricos, ar etc) é chamado de ciclo do Nitrogênio (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016). Neste ciclo ocorrem como processos principais: fixação, amonificação, nitrificação e desnitrificação (Figura 1).

Figura 1: Representação esquemática das principais conversões biológicas envolvidas no ciclo do nitrogênio.



Fonte: Foco e Nour (2014)

A fixação deve ocorrer para que o nitrogênio atmosférico seja disponibilizado para a biosfera. Existem três formas de fixação: não-biológica (ação de raios e relâmpagos), industrial (altas temperaturas e pressões) e biológica (procariotos). A fixação biológica de nitrogênio (FBN) envolve a redução do nitrogênio atmosférico N_2 a amônia, sendo esta capacidade ligada à presença e atividade do complexo

enzimático altamente conservado entre os fixadores de N conhecido como nitrogenase. A amonificação, ou mineralização do N orgânico é o processo pelo qual formas de N orgânicas são transformadas para formas minerais, sendo o primeiro composto gerado neste processo o amônio, realizado especialmente por fungos e bactérias. O processo de nitrificação ocorre em duas etapas: íons amônio são oxidados em íons nitritos, pela ação de bactérias nitrificantes do gênero *Nitrosomonas*; em seguida, ocorre a oxidação do íon nitrito a nitrato, por intermédio de bactérias nitrificantes do gênero *Nitrobacter* (BARBOSA; CONSALTER; MOTTA, 2012; CAO, 2018).

Já para a redução dos íons nitrato ocorre o processo de desnitrificação, gerando espécies de N sob a forma de gás (N_2 , NO, NO_2 , N_2O) (Knowles, 1982).

3.1.1 Nitrato em Águas de Abastecimento

O crescimento da agropecuária tem como consequência o aumento da utilização de fertilizantes no solo. O N é o nutriente mais requerido pelas plantas e o mais consumido em toda a produção agrícola. China, Índia, Estados Unidos e Brasil somam 60% da demanda mundial (REETZ, 2017; OLIVEIRA; MALAGOLLI; CELLA, 2019; BARROS, 2020). No ano de 2021, uma média de 41,6 mil toneladas de fertilizantes foi entregue ao mercado brasileiro (CONAB, 2022). O aumento nas vendas internas está relacionado com o aumento da produção agrícola nacional. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o ano de 2020/2021 teve recorde na safra agrícola, fechando com produção de 253,2 milhões de ton. de grãos.

O fornecimento de N para as plantas é uma das principais práticas associadas à obtenção de altas produtividades, podendo ocorrer via fertilização mineral, orgânica ou fixação biológica de N (BARROS, 2020). Oliveira *et al.* (2019) citam que a origem da maior parte dos fertilizantes é de matérias-primas de ocorrência natural que contêm minerais que são explorados ou extraídos em várias localidades. Uma exceção é o N, que é produzido por meio da combinação do N_2 do ar com gás natural (mais comum), carvão ou nafta para formar amônia anidra, que pode ser usada diretamente ou convertida para outra forma fertilizante nitrogenado.

Nas lavouras, até 50% do nitrogênio aplicado pode ser perdido e quando a planta não assimila toda a quantidade de nitrogênio aplicado, esse nutriente acaba ficando no solo e sendo carregado com as águas pluviais para corpos d'água, podendo levar à contaminação das águas superficiais (ZHAO *et al.*, 2011; BARROS, 2020).

A Resolução CONAMA Nº 430 de 2011 estabelece o limite máximo de lançamento de nitrogênio amoniacal em águas de 20 mg N-NH₄ L⁻¹. A Portaria GM/MS Nº 888 de 2021, que estabelece os padrões de qualidade para águas de abastecimento, e a Resolução CONAMA Nº 396 de 2008, que dispõe sobre o enquadramento de águas subterrâneas utilizadas para consumo humano, estabelecem o limite máximo de 10 mg.L⁻¹ de N-NO₃. Já a Organização Mundial da Saúde recomenda o máximo de 11 mg L⁻¹ de N-NO₃ (OMS, 2011; BRASIL, 2021).

Diversos métodos e diferentes tecnologias têm sido desenvolvidos para remover nitratos de efluentes. Na Tabela 1 estão listadas as vantagens e desvantagens dos principais métodos utilizados.

Os processos de osmose reversa e os processos catalíticos apresentam elevados custos para o tratamento das águas contaminadas com nitrato, o que tem levado o setor a buscar alternativas com estudos dos processos biológicos (ZHAO *et al.*, 2011).

Tabela 1: Características dos processos de remoção de nitratos em água.

Processos	Vantagens	Desvantagens
Físico-químico (Troca iônica)	<ul style="list-style-type: none"> • Alta eficiência quando outros íons não interferem; • Remoção de nitrato mesmo quando as concentrações são baixas; 	<ul style="list-style-type: none"> • Produz salmoura concentrada necessitando de pós-tratamento; • Necessita de tratamento para evitar a obstrução do leito fixo; • Inibição de outros íons
Físico-químico (Ultrafiltração, Osmose reversa, Eletrodialise)	<ul style="list-style-type: none"> • Alta eficiência na remoção; • Podem remover altas concentrações de nitrato 	<ul style="list-style-type: none"> • Substituição da membrana devido à saturação; • Produz alta concentração de salmoura
Biológico (Desnitrificação)	<ul style="list-style-type: none"> • Transformação de nitrato em N₂, liberado para atmosfera; • Melhor custo-benefício comparado com outros processos; • Remoção de nitrato contínua e estável; • Não há necessidade de fazer pausas intermitentes no reator para manutenção/reparação 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de doador de elétrons; • Liberação de sólidos suspensos; • Necessita de longo tempo para partida; • Vulneráveis as condições ambientais e metabólicas

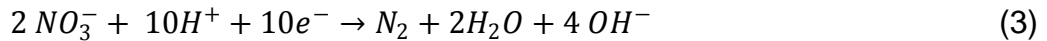
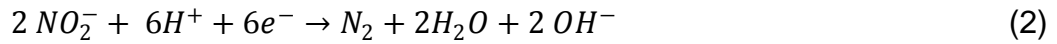
Fonte: adaptado de Park e Yoo (2009)

Para melhor entendimento deste trabalho, no próximo item será dada ênfase ao processo de desnitrificação, que é o método de remoção biológica de nitrato.

3.1.2 Desnitrificação

A desnitrificação é um processo respiratório anóxico, realizado por bactérias heterotróficas facultativas. As bactérias utilizam nitrito e/ou nitrato como receptores finais de elétrons, transformando-os em nitrogênio molecular (N₂), com formação de

produtos intermediários como nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N_2O), conforme as equações 1, 2 e 3.



Cerca de 60 gêneros de bactérias estão relacionados ao processo de desnitrificação heterotrófica, os gêneros mais representativos incluem *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Gallionella*, *Halobacterium*, *Halomona*, *Hyphomicrobium*, *Janthinobacterium*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Thiobacillus*, *Thiosphaera*, *Vibrio* e *Xanthomonas* (BURGHATE; INGOLE, 2014; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

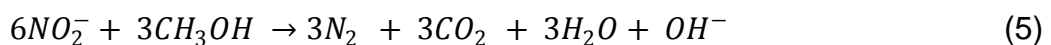
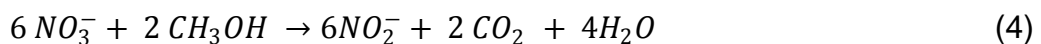
Algumas bactérias dos gêneros *Paracoccus*, *Thiobacillus*, *Thiosphaera* e outras podem realizar a desnitrificação autotroficamente usando hidrogênio ou vários compostos de enxofres reduzidos como S_0 , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_2^{2-}$ ou SO_3^{2-} como fontes de energia. Bactérias do gêneros *Ferrobacillus*, *Gallionella*, *Leptothrix* e *Sphaerotillus* podem utilizar ferro ferroso como fonte de energia para desnitrificação autotrófica. Em condições de crescimento autotróficas, o dióxido de carbono ou bicarbonato é usado como fonte de carbono para atividades biossintéticas (BURGHATE; INGOLE, 2014).

Além das bactérias exercerem papel importante na desnitrificação, alguns fungos como os pertencentes aos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* também apresentam capacidade de conversão de nitratos. Aldossari e Ishii (2021) forneceram uma visão geral da desnitrificação realizada por fungos. Os autores citam que, assim como as bactérias desnitrificantes, esses fungos necessitam de ausência de oxigênio no meio para realizarem a desnitrificação e, em outros casos, é relatado que uma quantidade mínima de oxigênio ainda é necessária. O processo ocorre na mitocôndria onde funciona como respiração anaeróbia, do mesmo modo como ocorre o processo de desnitrificação em bactérias. Na maioria dos casos, o principal produto da desnitrificação fúngica é o N_2O , uma vez que a maioria destes microrganismos não possuem o gene responsável pela codificação da enzima redutase do óxido nitroso. Além disto, a redutase dissimilatória do NO_3^- (NAR), que

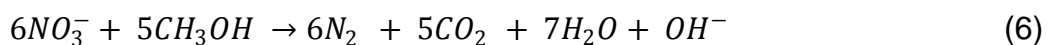
catalisa a redução do NO_3^- para NO_2^- , é incomum nos fungos, o que faz com que grande parte destes microrganismos iniciem o processo da desnitrificação com a redução do NO_2^- (EMBRAPA, 2017) Os fungos com essa capacidade de conversão são pertencentes aos filos *Ascomycota*, *Basidiomycota* e *Zygomycota*. Fungos representativos dos *Ascomycota* incluem *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* e espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Trichoderma*, sendo os fungos do gênero de *Fusarium* os mais freqüentemente isolados, como *F. oxysporum*, *F. lichenicola* e *F. graminearu* (ALDOSSARI; ISHII, 2021; EMBRAPA, 2017).

As enzimas associadas à desnitrificação são sintetizadas quando as condições se tornam favoráveis para desnitrificação. Vários fatores podem afetar o processo de desnitrificação heterotrófica: a concentração de oxigênio dissolvido, a temperatura, o pH, a qualidade e quantidade de fontes de carbono, substâncias tóxicas, dentre outros.

A fonte de carbono orgânico poderá ser proveniente de fonte endógena, ou seja, da própria água residuária, ou externa como o etanol, metanol ou utilização de subprodutos sólidos (OLIVEIRA *et al.*, 2013; TONETTI *et al.*, 2013). Uma representação simplificada das reações, para o metanol como fonte de carbono é mostrada nas equações 4, 5 e 6, afim de exemplificar as reações químicas do processo de desnitrificação (BURGHATE; INGOLE, 2014):



Com reação geral:



A concentração de oxigênio é um dos fatores que podem inibir a desnitrificação, pois em se tratando de um processo anóxico, as bactérias podem utilizar o oxigênio presente no meio como aceptor de elétrons no lugar do nitrato, deixando de ocorrer ou tornando menos eficiente o processo de desnitrificação (MARTIN *et al.*, 2019; SANTOS, 2014). A presença de oxigênio e organismos aeróbios no período de inicialização de muitos sistemas pode ser condição inibidora para a desnitrificação bem sucedida. Somente depois que o oxigênio foi esgotado

pela atividade metabólica dos organismos aeróbios é que desnitrificação é iniciada (FATEHI-POULADI *et al.*, 2019).

Bueno (2017) cita que a taxa de desnitrificação aumenta com a temperatura, com o processo podendo ocorrer entre temperaturas de 20°C a 40°C, com temperatura ótima de desnitrificação na faixa de 25°C a 35°C. Microrganismos desnitrificantes atuam efetivamente dentro de uma faixa de pH de 6,0 a 8,5, com a atividade microbiana sendo ótima em torno da neutralidade e com inibição no processo em valores de pH inicial acima ou abaixo dos citados (HOU *et al.*, 2019; ELEFSINIOTIS; LI, 2006; CHEIKH *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013).

Para a aplicação do processo de desnitrificação heterotrófica o emprego de biorreatores surge como alternativa viável e promissora, uma vez que, atende as condições necessárias que o processo requer.

3.1.3 Biorreatores Desnitrificantes

O uso de biorreatores de desnitrificação para tratamento de águas de drenagem agrícola vem sendo estudados há anos. Alguns autores relatam a atividade de desnitrificação em biorreatores à base de cavacos de madeira em diversos países, incluindo Estados Unidos, China, Nova Zelândia e países na Europa (FATEHI-POULADI *et al.*, 2019; MOORMAN *et al.*, 2010; YAO *et al.*, 2020).

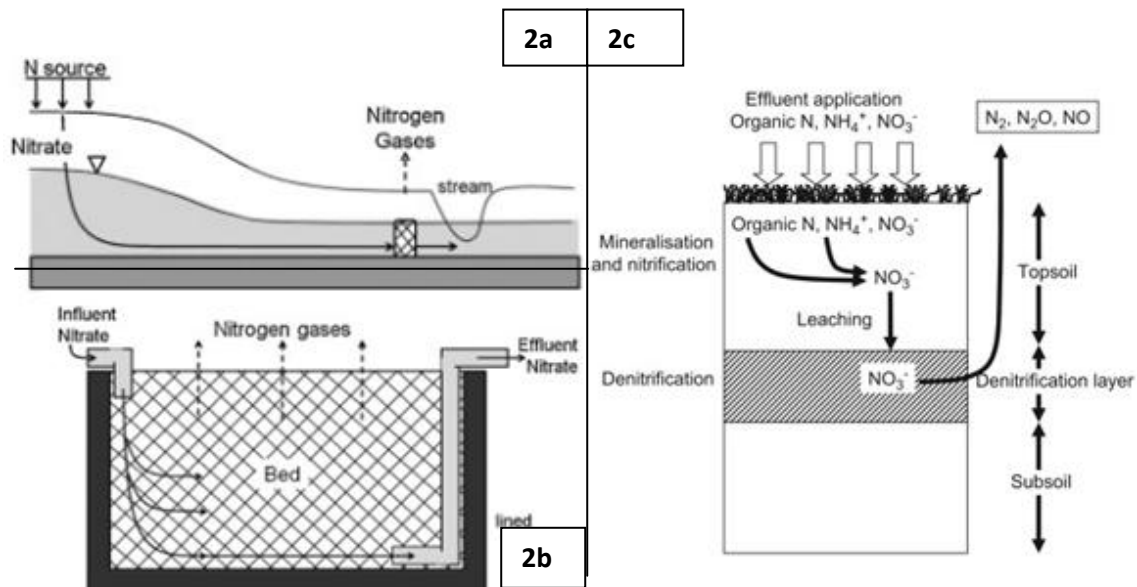
As águas de drenagem contaminadas podem ser submetidas a três tipos de sistemas: “paredes de desnitrificação”, “leitões de desnitrificação” ou “camadas de desnitrificação”. Schipper *et al.* (2010) citam que a terminologia “paredes de desnitrificação”, “leitões de desnitrificação” e “camadas de desnitrificação”, foram usadas pela primeira vez por Robertson e Cherry (1995) e os autores descrevem os processos como:

- “Paredes de desnitrificação” (Figura 2a): são onde o material carbonáceo sólido é incorporado verticalmente em águas subterrâneas rasas perpendicularmente ao fluxo, onde podem interceptar o fluxo de águas subterrâneas naturais, ou fluxo de águas subterrâneas que foram alterados por sistemas de drenagem subterrânea ou pela morfometria e condutividade hidráulica saturada relativamente mais alta do que as adições de carbono dentro da parede;

- “Leitos de desnitrificação” (Figura 2b): são recipientes preenchidos com material carbonáceo sólido e recebem nitrato em descargas concentradas de uma variedade de águas residuais ou da drenagem agrícola;

- “Camadas de desnitrificação” (Figura 2c): são camadas horizontais de material carbonáceo sólido instaladas abaixo do campo de drenagem de águas residuais que passaram por um filtro de areia/cascalho ou outro sistema de tratamento de efluentes.

Figura 2: Esquema de diferentes projetos de “Paredes de desnitrificação”, “Leitos de desnitrificação” e “Camadas de desnitrificação”.



Fonte: adaptado de Schipper e McGill (2008) e Schipper *et al.* (2010)

Notas: 2a: “Paredes de desnitrificação”; 2b: “Leitos de desnitrificação”; 2c: “Camadas de desnitrificação”.

Os biorreatores de cavacos de madeira são sistemas de tratamento de água cada vez mais populares, favorecidos por sua desnitrificação econômica, longa durabilidade e características hidráulicas estáveis no tratamento das águas de drenagem agrícola. Sua principal desvantagem é a baixa disponibilidade de carbono, que pode limitar a taxa de desnitrificação (HARTZ *et al.*, 2017), necessitando de estudos visando substituí-los por outros materiais que apresentam maiores disponibilidades de carbono orgânico em sua composição.

Biorreatores em escala laboratorial fornecem uma oportunidade única de estudar esses processos em um sistema controlado para melhorar o projeto do

biorreator e para maximizar a remoção de N-NO_3 . Pesquisadores já testaram com sucesso uma variedade de sólidos carbonáceos de baixo custo (Tabela 2), materiais que geralmente são descartados e podem se tornar potenciais problemas ambientais. Os substratos sólidos servem não apenas como fontes constantes de poder redutor para desnitrificação, mas também como suportes favoráveis ao desenvolvimento de biofilmes microbianos (DELLA ROCCA; BELGIORNO; MERIÇ, 2005; HELLMAN, 2021; NORDSTRÖM; HERBERT, 2017; ROBERTSON, 2010; SATAYEVA *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2013).

Dos parâmetros citados que influenciam no processo de desnitrificação, o Tempo de Detenção Hidráulica (TDH), que consiste no tempo que o líquido fica retido dentro do reator, é um fator essencial a ser determinado no projeto do reator, pois valores muito baixos podem levar a uma baixa eficiência de tratamento e valores muito elevados aumentam o seu custo de construção e operação (DUARTE, 2018). Martin *et al.* (2019) avaliaram o impacto do TDH na remoção de nitrato utilizando biorreatores com cavacos de madeira. Os autores utilizaram três diferentes TDHs (2h, 8h e 16h) e verificaram que conforme o TDH aumentava, a eficiência de remoção de N-NO_3 também aumentava. Os autores concluíram que o TDH ideal foi de 8h.

Tabela 2: Dados de eficiência de remoção de nitrato em reatores com diferentes fontes de carbono e condições operacionais de TDH, concentração afluyente de N-NO₃ e temperatura em diversas referências

Fonte de carbono	Condições do Reator	Eficiência (%)	Referência
Algodão	TDH = 24 h N-NO ₃ = 85 mg.L ⁻¹ T = 27°C	90	Della Rocca, Belgiorno e Meriç, 2005
Endocarpo de Coco	TDH = 24 h N-NO ₃ = 8,65 mg.L ⁻¹ T = 26,39°C	97,8	Torres, 2011
Sabugo de milho	TDH = 10 h N-NO ₃ = 50 mg.L ⁻¹ T = 25°C	98	Wang <i>et al.</i> , 2013
Palha de trigo	TDH = 24 h	98,31	Si <i>et al.</i> , 2018
Algodão	N-NO ₃ = 43 mg.L ⁻¹	70,86	
Polisuccinato de butileno	T = 24,55°C	29,15	
Jornal		98,87	
Farelo de arroz	TDH = 24 h N-NO ₃ = 50 mg.L ⁻¹ T = 20°C	96,2	Hou <i>et al.</i> , 2019
Casca de arroz	TDH = 8,33 h	97,58	Sánchez-Balseca,
Metanol	N-NO ₃ = 40 mg.L ⁻¹ T = não consta	93,46	Muñoz-Rodríguez e Aldás-Sandoval, 2019
Cavaco de madeira fresco	TDH = 24 h N-NO ₃ = 10 mg.L ⁻¹ T = 22°C	98,7	Kouanda e Hua, 2021
Sabugo de milho	TDH = 24 h	81	Silva, 2021
Sabugo de milho e Mini Biobobs®	N-NO ₃ = 20 mg.L ⁻¹ T = 22,01°C	86	
Talo de sorgo	TDH = 24 h	96,94	Gao <i>et al.</i> , 2022
Casca de trigo	N-NO ₃ = 50 mg.L ⁻¹	96,52	
Esponja de bucha	T = 22°C	96,23	
Talo de banana		95,72	
Casca de melancia		94,20	
Talo de batata doce		92,76	

Fonte: a autora

3.1.4 Suportes Utilizados na Presente Pesquisa: Resíduos da Produção de Milho e Suporte de biomassa Biobobs®

3.1.4.1 *Resíduos da produção do milho*

O milho (*Zea mays L.*) é originário da América Central e pertencente à família das gramíneas. É uma espécie que possui colheita anual e, devido a seu valor nutritivo, é utilizado principalmente na indústria alimentícia, para alimentação humana e animal. Na safra brasileira de 2020/2021, um volume de 85,75 milhões de toneladas foram colhidas (CONAB, 2021).

A geração de resíduo do milho pode ser dividida em sabugo, folha, caule (colmo) e palha. Estima-se que para cada tonelada de milho beneficiado, cerca de 2,3 toneladas são geradas como rejeitos, sendo a proporção de caule de milho:milho igual a 1,2. O processamento de 100 kg de espigas de milho gera, aproximadamente, 18 kg de sabugo com 70% de umidade, que é despejado na lavoura ou utilizado para ração animal. As folhas e os caules que, via de regra, são deixados no solo para a ciclagem de nutrientes, são conhecidos como palhada. O descarte do caule de milho tem sido um grande problema na China, devido ao fato de ser uma das principais emissões de poluentes devido à queima a céu aberto de mais de 20,8% de resíduos da colheita (LING *et al.*, 2021; SILVA, 2018).

O caule e o sabugo de milho são materiais lignocelulósicos, que apresentam uma estrutura rígida e complexa, formada principalmente por celulose envolta por hemicelulose e lignina. O caule de milho é rico em celulose e, segundo Wang *et al.* (2018), a proporção de celulose, hemicelulose, lignina solúvel em ácido e cinzas nos caules de milho é de 34,31%, 20,47%, 4,12% e 0,30%, respectivamente. Já o sabugo de milho apresenta em média 31,7% de celulose, 34,7% de hemicelulose, 20,3% de lignina e 2,3% de cinzas. Baseada na alta produção de celulose, tanto o caule quanto o sabugo de milho possuem potencial para remover nitrato.

3.1.4.2 *Suporte Biobob®*

O Biobob® é um suporte para imobilização de biomassa (Figura 3), utilizado em processos biológicos de tratamento de águas residuárias industriais e municipais. O Biobob® é um conjunto formado por uma armação externa de

Polietileno de Alta Densidade (PEAD) e a parte interna por uma espuma de poliuretano (PU). O Biobob[®] é uma tecnologia patenteada da BIOPROJ Tecnologia Ambiental, que explica que o suporte funciona como uma “casa para bactérias”, com capacidade hidrodinâmica, pois possui porosidade do leito de 90%, eliminando a necessidade de retrolavagem, que aumenta a durabilidade e vida útil, proporciona a concentração de biomassa, podendo ser utilizado em reatores de leito móvel e de leito fixo.

Figura 3: Foto do suporte Biobob[®].



Fonte: BIOPROJ Tecnologia Ambiental

O Biobob[®] vem sendo utilizado como material suporte para a imobilização celular em diversos estudos e tem apresentado resultados satisfatórios. Polak (2018) utilizou o Biobob[®] em sua pesquisa e alcançou valores de 87-94% de eficiência de desnitrificação. Já no experimento de Oliveira (2020), as taxas de desnitrificação apresentaram valores que variaram de 97,5% a 98,3%.

3.1.5 Substrato Utilizado: Água de Drenagem Agrícola

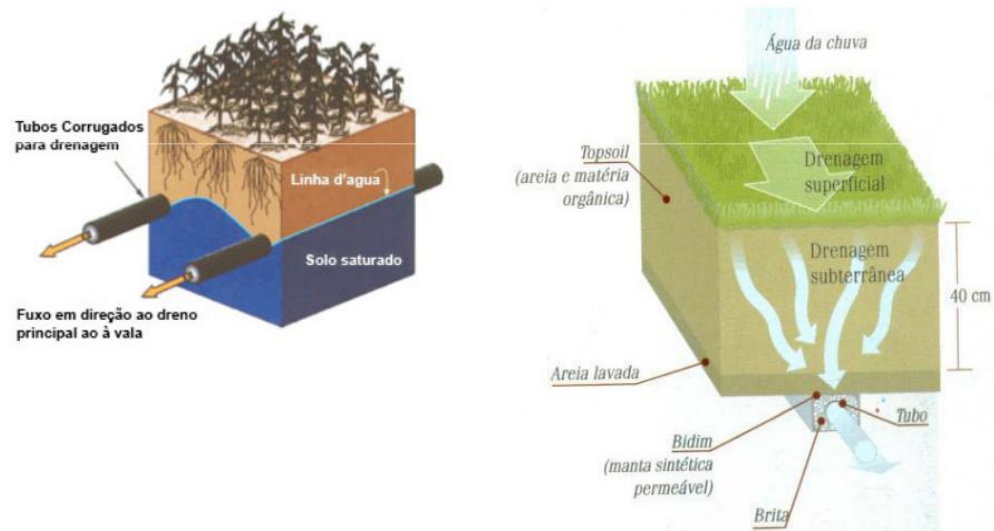
A água de drenagem é aquela que escoar pelos diferentes canais e representa o excesso hídrico que não foi retido pelo solo ou percolado através do mesmo. Ela tem duas origens: a primeira é decorrente do escoamento após precipitações pluviais intensas, quando o solo está saturado de água, e a segunda origem é decorrente do escoamento do excesso de água das lavouras, seja essa drenagem natural ou não (MUNDSTOCK, 2013).

Os objetivos da drenagem agrícola são possibilitar o aumento do número anual de dias favoráveis às operações agrícolas mecanizadas, proporcionar ambiente adequado ao desenvolvimento das raízes das culturas, criando um ambiente favorável ao crescimento das plantas e preservando as propriedades

físicas e químicas do solo (BORGES JÚNIOR *et al.*, 2001; EVANGELISTA *et al.*, 2005).

Os sistemas de drenagem superficial, independentemente das práticas agrícolas e de engenharia empregadas, têm como base a drenagem natural do solo, ou seja, o encaminhamento ou escoamento natural das águas, ditado pelas condições topográficas do terreno. A drenagem superficial local pode ser classificada em sistema natural, sistema com alteração na conformação da superfície do terreno, ou, ainda, a combinação destes. Em ambos os casos, a prática básica utilizada é a abertura de drenos rasos, comumente chamada de valetamento da lavoura (EMBRAPA, 2004) (Figura 4).

Figura 4: Exemplificação dos sistemas de drenagem



Fonte: adaptado de EMBRAPA (2004).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Estudos do Meio Ambiente (LEMA), localizado no Centro de Tecnologia Agroalimentar (CTA) do Departamento de Engenharia de Alimentos do Campus Uvaranas da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, na cidade de Ponta Grossa – PR.

4.1 SUBSTRATO UTILIZADO

Para o presente trabalho utilizou-se como substrato água de drenagem agrícola coletada em uma fazenda situada no município de Castro, Paraná.

O fluxo da drenagem na propriedade é direcionado por um sistema de subterrâneo, formando uma única lagoa (Figura 5). O campo adjacente era cultivado com culturas de milho (*Zea mays* L.), soja (*Glycine max* L.) e recebeu aplicações de fertilizantes e esterco bovino. A propriedade, além da atividade agrícola, desenvolve atividade pecuária.

Figura 5: Foto da lagoa de contenção das águas de drenagem agrícola.



Fonte: a autora.

O substrato foi coletado, caracterizado e armazenado em temperatura ambiente até o momento de uso. Após caracterização do substrato foi verificado que o mesmo não possuía em sua composição nitrato, sendo assim houve a necessidade de enriquecimento utilizando 121 mg.L^{-1} de nitrato de sódio (NaNO_3),

para que se obtivesse a concentração de 20 mg.L^{-1} de N-NO_3 , conforme procedimento descrito por Silva (2021).

Na Tabela 3 está apresentada a caracterização média de 5 lotes do afluente, água de drenagem agrícola, utilizados durante este estudo. Durante o período experimental foram realizadas cinco coletas do afluente e em todas as coletas não houve detecção de nitratos, nitritos e nitrogênio amoniacal nas amostras.

Tabela 3: Caracterização média dos 5 lotes da água de drenagem agrícola.

Parâmetro	Concentrações
pH	$6,27 \pm 0,66$
DQO (mg.L^{-1})	$0,0655 \pm 0,0002$
N-NO_3^- adicionado (mg.L^{-1})	$21,91 \pm 3,02$

Fonte: a autora.

Notas: Dados expressos como média \pm desvio padrão

4.2 CONFIGURAÇÃO DOS REATORES

Para avaliação da desnitrificação foram utilizados cinco reatores em escala de bancada operados em fluxo contínuo. Os reatores foram construídos utilizando-se garrafas cilíndricas de politereftalato de etileno (PET) com altura de 16 cm, diâmetro interno de 7,5 cm e volume de total 500 mL (Figura 7). Os reatores foram cobertos com papel alumínio para bloquear a entrada de luz e impedir o crescimento de algas. O volume útil variou em cada reator devido ao tipo de recheio utilizado (Tabela 4). Para determinação do volume útil realizou-se procedimento descrito por Robertson (2010), onde cada reator foi preenchido com seus respectivos suportes, a entrada foi lacrada e então foi adicionado o afluente até que se extrapolasse o volume pela saída. O volume adicionado permaneceu no reator pelo período de 2 horas para que o líquido fosse adsorvido ao material, após esse período os reatores foram drenados e o volume drenado determinado como volume útil.

Tabela 4: Material suporte e volume útil de cada reator.

Reator	Material suporte	Volume útil (mL)	Quantidade de suporte em cada reator
CA	Caule	180	40
CA+E	Caule – Mini Biobobs [®]	170	21 – 36
SA+E	Sabugo – Mini Biobobs [®]	160	13 – 33
E	Mini Biobobs [®]	190	80
AS	Sabugo	270	16

Fonte: a autora

Notas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA+E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA+E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

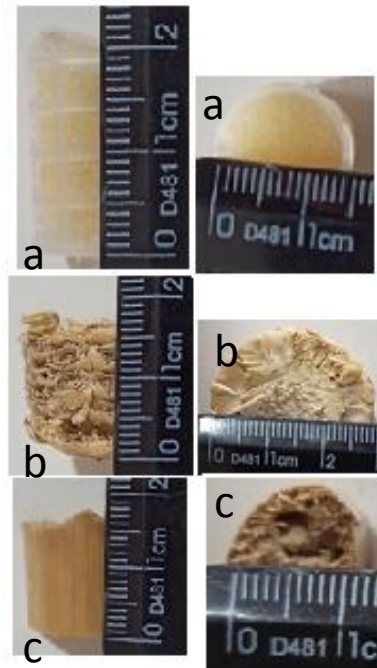
- Material suporte utilizado

Foram utilizados três tipos de material suporte para adesão dos microrganismos: Mini Biobobs[®], caules e sabugos de milho (Figura 6). Os Mini Biobobs[®] foram fabricados e doados pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental. Os caules e sabugos de milho foram obtidos com fornecedores externos.

Os Mini Biobobs[®] são formados por uma armação externa de polietileno de alta densidade (PEAD) com 1,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de comprimento e parte interna de espuma de poliuretano (PU).

Os caules e sabugos de milho passaram pelo processo de limpeza, com auxílio de uma escova para retirada de sujidades, foram enxaguados em água e secos ao ar. Antes de serem colocados nos biorreatores os materiais passaram por padronização do tamanho, os caules ficaram com 1,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura e os sabugos com 3,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura.

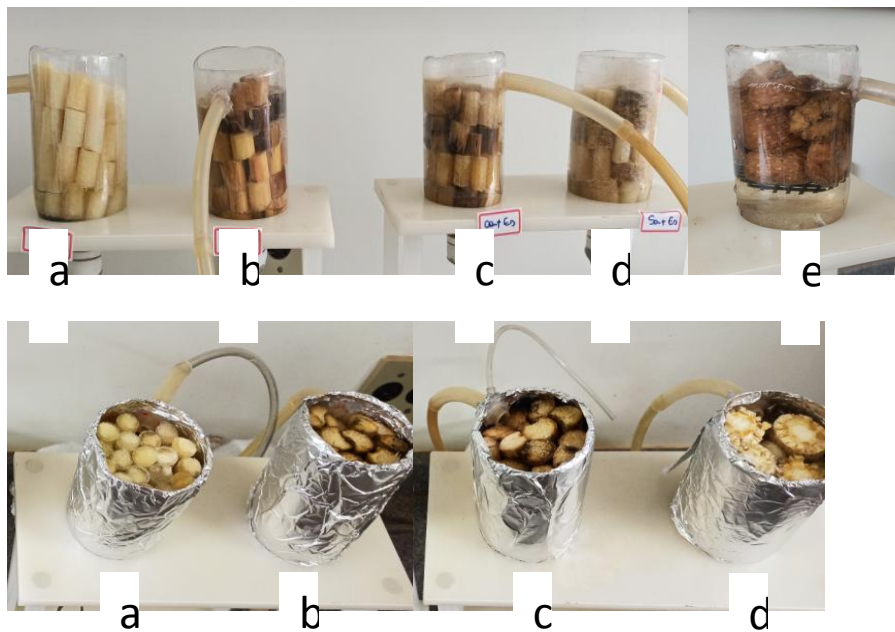
Figura 6: Foto dos Mini Biobobs®, sabugos e caules de milho, limpos e com tamanhos padronizados.



Fonte: a autora

Notas: a: Mini Biobobs®; b: Sabugo de milho; c: Caule de milho.

Figura 7: Foto dos biorreatores preenchidos com os respectivos suportes..



Fonte: a autora

Notas: a: Reator preenchido com Mini Biobobs®; b: Reator preenchido com caule de milho; c: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs®; d: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs®; e: Reator preenchido com sabugo de milho.

- Operação dos biorreatores

A operação dos reatores foi separada em duas Fases, I e II. Na Fase I os reatores foram operados à temperatura ambiente e na Fase II com temperaturas fixas em 18 e 30°C (Tabela 5). O TDH na Fase II foi escolhido conforme resultados obtidos na Fase I, com concentração das saídas dentro do limite máximo de 10 mg.L⁻¹ N-NO₃ no menor tempo em que ocorreu remoção.

Na Fase II os reatores foram mantidos dentro de estufa de BOD para que as temperaturas fossem controladas conforme o programado.

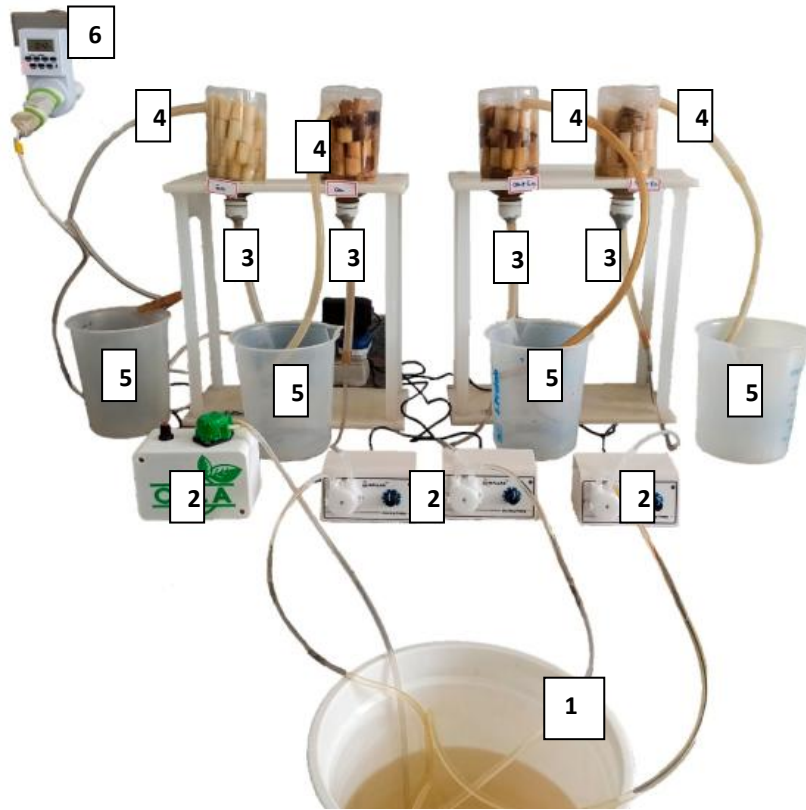
Tabela 5: Parâmetros operacionais dos reatores nas Fases I e II.

Fase	TDH (h)	Temperatura (°C)	Dias de operação
I	24	16,21 ± 3,12	29
I	16	22,23 ± 3,22	91
I	8	24,50 ± 1,91	50
II	8	30	14
II	8	18	14

Fonte: a autora.

Os reatores foram operados com fluxo ascendente contínuo. A alimentação dos mesmos foi feita pela base, com o uso de bombas peristálticas (marca INTLLAB modelo DP-385) ligadas a um temporizador, e a saída do efluente acontecia pela extremidade superior (Figura 8).

Figura 8: Foto da configuração dos biorreatores.



Fonte: a autora

Notas: 1: Reservatório Afluente; 2: Bombas peristálticas; 3: Entrada do afluente; 4: Saída do efluente; 5: Reservatório dos efluentes; 6: Temporizador.

Os biorreatores estudados não exigiram inoculação, pois as bactérias desnitrificantes, que já estavam presentes naturalmente na água de drenagem, responderam rapidamente aos fatores ambientais. No início do experimento os reatores foram alimentados em batelada, com uma duração de 15 dias para permitir a aclimação bacteriológica inicial, conforme relatado por Robertson (2010). Para identificação do início do processo de desnitrificação foram realizadas análises diárias para controle dos seguintes parâmetros: teor de nitrato e nitrito, pH, alcalinidade e temperatura, para as demais etapas do experimento foram adotadas frequências de análises conforme disposto na Tabela 6.

Todo o experimento durou 8 meses, de 10 de junho de 2021 a 18 de fevereiro de 2022. As trocas de cada fase foram realizadas no momento em que os perfis de

remoção alcançavam o estado estacionário. Considerou-se como estado estacionário quando os valores de eficiência se mantinham estáveis durante uma semana.

- Análises físico-químicas de acompanhamento

Para acompanhamento e monitoramento dos reatores foram realizadas as análises apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros, métodos e frequência das análises realizadas.

Parâmetro	Método	Frequência semanal de análise
pH	Potenciométrico APHA (4500 H + B)	3
Sólidos Totais (ST) (g.L ⁻¹)	Gravimétrico APHA (2540 B)	3
Sólidos Totais Fixos (STF) (g.L ⁻¹)	Gravimétrico APHA (2540 E)	3
Sólidos Totais voláteis (STV) (g.L ⁻¹)	Gravimétrico APHA (2540 E)	3
Nitrito (N-NO ₂ ⁻) (mg.L ⁻¹)	Colorimétrico APHA (4500 NO ₂ B)	3
Nitrato (N-NO ₃ ⁻) (mg.L ⁻¹)	Colorimétrico APHA (4500 NO ₃ C)	3
DQO (mg.L ⁻¹)	Colorimétrico APHA (5220 D)	3
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	DiLallo e Albertson (1961)	3

Fonte: APHA, (2005); DILALLO; ALBERTSON (1961).

- Determinação do Número Mais Provável (NMP) das Bactérias Desnitrificantes

Para determinar a quantidade de bactérias desnitrificantes foi utilizada a metodologia proposta por Tiedje (1984) do Número Mais Provável (NMP) e para contagem de células foi utilizada a Tabela Padrão de Probabilidade por combinação das respostas positivas (APHA, 2005).

As amostras foram preparadas conforme procedimento que Silva (2021) adaptou de Macieirinha (2017). Para essa análise coletou-se duas amostras do Mini Biobob[®], uma do caule e uma do sabugo de cada reator, na condição de TDH de 8h. Para a quantificação foi utilizado procedimento descrito por Silva (2021), utilizando como meio de cultura caldo nutriente modificado (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 (NaNO₃). Para solução teste foi utilizado 0,2g de Difenilamina [(C₆H₅)₂NH] em 100 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. Os resultados foram determinados testando-se 0,5 mL das amostras diluídas com duas gotas de

solução teste, onde ausência de cor ou turvação indica consumo de nitrato e possível presença de bactérias desnitrificantes, indicando resultado positivo e coloração azul indica que há nitrato remanescente, portanto, não houve desnitrificação, indicando resultado negativo (SILVA, 2021).

- Ensaio Cinético da Atividade Desnitrificante

Os ensaios cinéticos foram realizados nos próprios reatores, operados em batelada, incubados à temperatura ambiente (25°C), em uma incubadora com agitação orbital (marca NovaTécnica modelo NT 714) sob agitação de 120 rpm. O substrato era composto por água de drenagem agrícola enriquecido com 10 mg.L⁻¹ N-NO₃. A cada intervalo de uma hora era retirada uma alíquota de 10 mL para análises de nitrito e nitrato, segundo método Colorimétrico APHA (4500 NO₂ B e 4500 NO₃ C).

- Cálculo das Velocidades de Desnitrificação

As velocidades de reação foram determinadas ajustando-se as curvas de consumo de substrato a um modelo linear, plotando-se concentração de substrato versus tempo. Assim, as velocidades foram determinadas após a determinação da equação da reta traçada e definição do coeficiente angular, realizadas no software Excel.

- Propriedade Superficial

A propriedade superficial dos resíduos agrícolas foi observada por um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) por emissão de campo (FEG, Modelo Mira 3, Marca Tescan).

- Análise Estatística

Todos os resultados serão expressos como média seguida do desvio padrão. Para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para

dados normalmente distribuídos, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), e Teste de Tukey ($p=0,05$), para dados não normalmente distribuídos, foi utilizado teste não paramétrico (Teste de Kruskal – Wallis). Todas as análises foram realizadas no software Statistica® (v. 14.0).

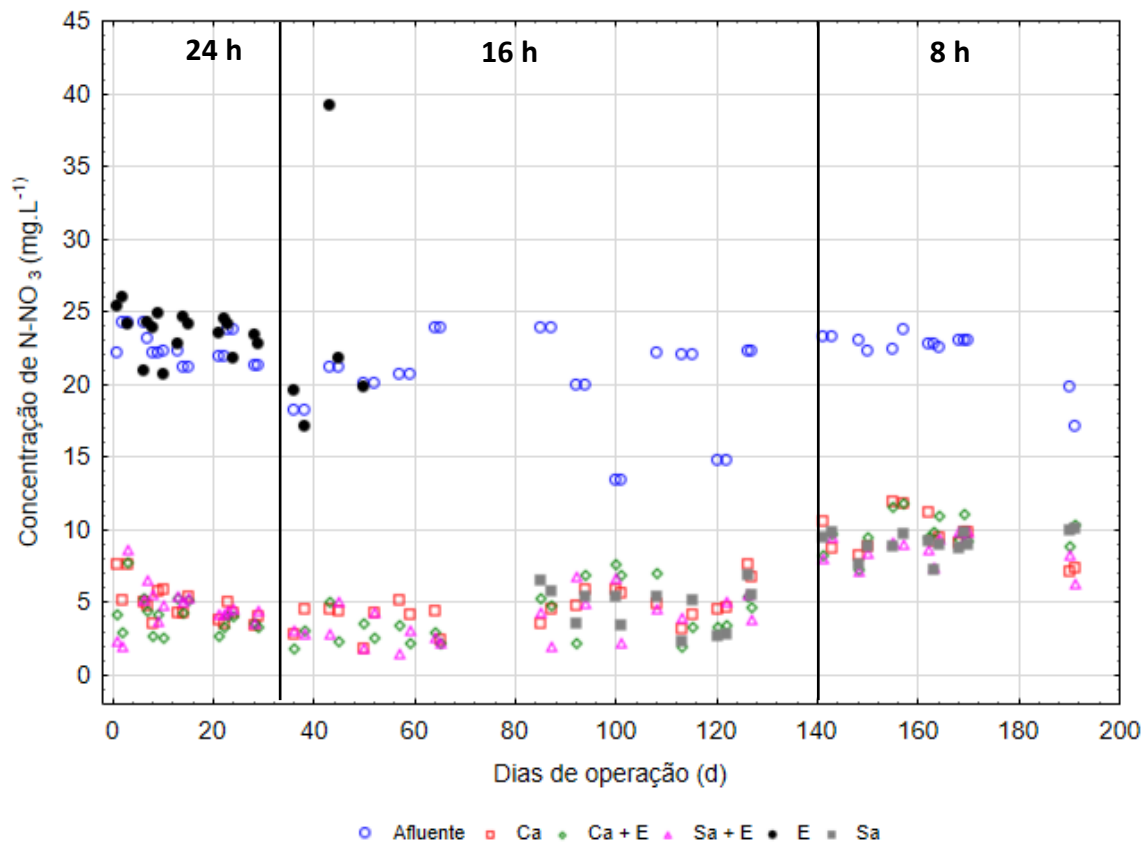
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DA REMOÇÃO DE N-NO₃

Na Figura 9 estão apresentadas as concentrações de N-NO₃ no afluente e efluente dos reatores durante a Fase I nos três TDHs estudados. A concentração do afluente variou de 13,40 a 28,10 mg.L⁻¹ N-NO₃, com valor médio de 21,91 mg.L⁻¹ N-NO₃. Na saída do reator preenchido apenas com Mini Biobobs[®], reator E, no TDH de 24 e 16 h, foi verificado que não houve redução de nitrato, mas um pequeno acréscimo na concentração. Sabendo-se que os Mini Biobobs[®] são compostos de espuma de poliuretano envolto por um material plástico e não apresentam em sua composição disponibilidade de carbono, este resultado confirma a necessidade de uma fonte de carbono externa como doador de elétrons para desnitrificação.

Assim, optou-se por parar o processo e substituir o preenchimento por sabugo apenas. Assim, foi adicionada a mesma quantidade de sabugo contida no reator SA+E, a fim de se verificar se a quantidade era suficiente para ocorrência do processo. Nos demais reatores a concentração de nitrato alcançada em todos os TDHs na Fase I foram abaixo de 10 mg.L⁻¹, dentro dos limites máximos aceitos pelas legislações vigentes (CONAMA, 2005; 2008; BRASIL, 2021).

Figura 9: Concentração de nitrato afluente e efluente em cada reator em TDH estudado na Fase I (Temperatura ambiente).



Fonte: a autora

Notas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs®; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs®; E: Reator preenchido com Mini Biobobs®; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

As médias de eficiência de desnitrificação obtidas nos diferentes reatores durante a Fase I, TDHs de 24, 16 e 8 h em temperatura ambiente, estão apresentadas na Tabela 7. As maiores eficiências de remoção foram obtidas nos TDHs de 24 e 16 h, não havendo diferença estatística significativa entre os resultados dos reatores preenchidos com as duas fontes de carbono. Com esses dados, verifica-se que os dois reatores preenchidos com metade caule e metade sabugo acabam sendo mais viáveis para o processo, assim como Silva (2021) estudou um reator preenchido com sabugo e outro reator preenchido com sabugo e Mini Biobobs®, a autora observou que metade da quantidade de sabugo utilizada foi suficiente para promover a quantidade de doadores de elétrons necessária para a desnitrificação.

Tabela 7: Eficiência de remoção de N-NO₃ de cada reator na Fase I.

TDH	Eficiência de remoção de N-NO ₃ (%)				
	CA	CA+E	SA+E	E	AS
24 h	78,25 ± 5,40 ^{aA}	81,94 ± 5,27 ^{aA}	79,29 ± 6,39 ^{aA}	-49,15 ± 37,00 ^{bA}	ND
16 h	76,44 ± 9,07 ^{aA}	79,00 ± 12,60 ^{aA}	80,64 ± 10,21 ^{aA}	2,00 ± 27,00 ^{bB}	75,90 ± 7,21 ^{aA}
8 h	57,44 ± 5,23 ^{aB}	55,82 ± 7,18 ^{aB}	61,69 ± 3,78 ^{aB}	ND	58,81 ± 6,73 ^{aB}

Fonte: a autora

Notas: - Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma linha, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

- Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

- ND: Não determinado. CA: Reator preenchido com Caule de milho; CA +E: Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

Quando o TDH foi reduzido para 8h as eficiências diminuíram em todos os reatores, obtendo valores na faixa de 55,82 a 61,69%, não havendo diferença estatística significativa entre os reatores, com exceção do reator contendo Mini Biobobs[®]. Hoover *et al.* (2016) avaliaram o impacto de diferentes TDHs, de 1,7, 3,7, 7,3, 10,9, 16,4 e 21,2 h, na remoção de nitrato em reatores com cavacos de madeira como fonte de carbono e afluente com concentração de $29,5 \pm 0,9 \text{ mg.L}^{-1}$ N-NO₃ e observaram que as porcentagens de remoção aumentaram de 7 para 55% com aumento de TDH de 1,7 para 21,4 h. Kouanda e Hua (2021) igualmente avaliaram o impacto da redução de TDH na remoção de nitrato com concentração inicial de 10 mg.L^{-1} , utilizando cavaco de madeira fresco como suporte, e obtiveram médias de remoção de 98,7, 73,7 e 35,7% para TDH de 24, 12 e 6 h, respectivamente.

Lai e Xiugui (2021) avaliaram três diferentes fontes de carbono acrescidas ou não com esterco bovino para remoção de nitrato. Apesar de terem observado remoção com todos os suportes utilizados, as maiores taxas foram obtidas com o sabugo de milho, seguido da palha de trigo e dos cavacos de madeira, com ou sem adição do esterco. Os autores explicam que esse fato se deve à composição do sabugo de milho e da palha de trigo que possuem alguns polissacarídeos e proteínas que são mais facilmente utilizados pelos microrganismos desnitrificantes, enquanto as lascas de madeira demoram mais para serem biodegradadas devido à sua estrutura estável com grande quantidade de lignina e baixos níveis de DQO.

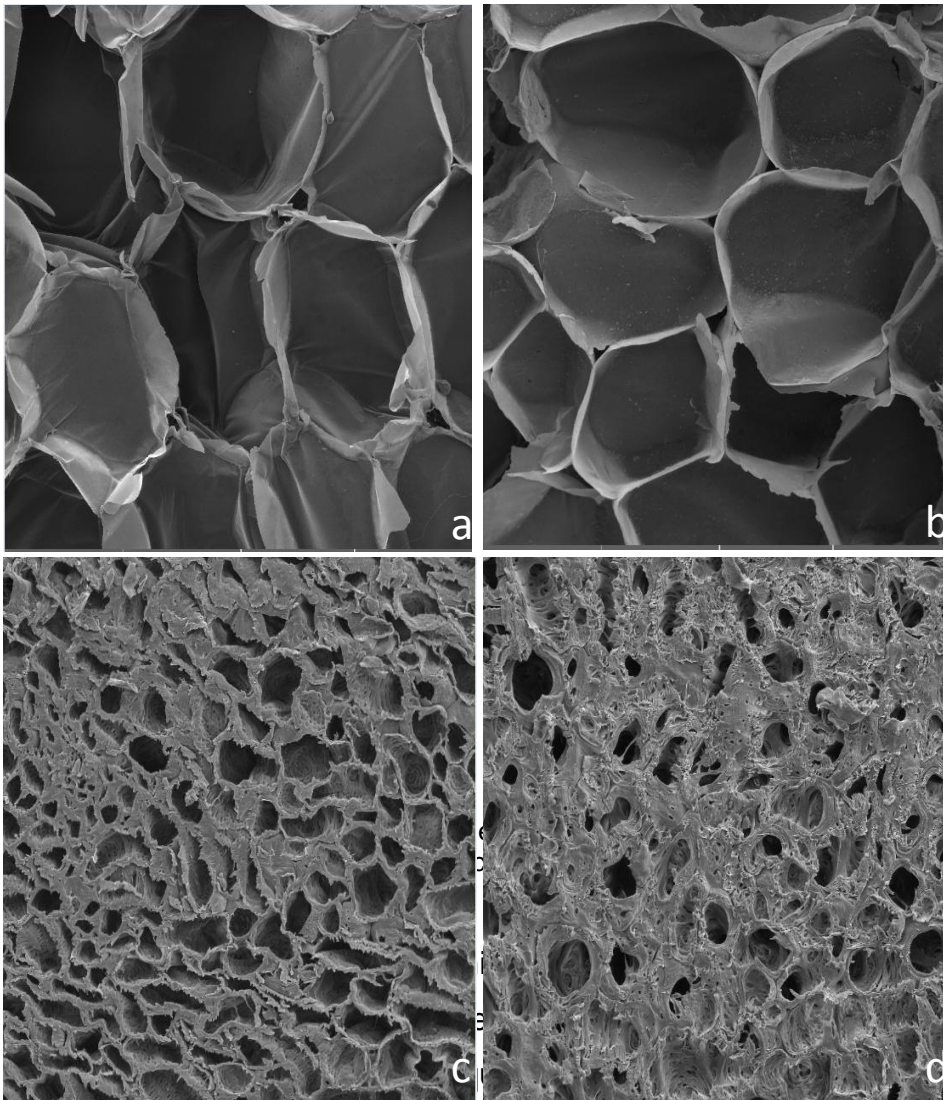
Wang *et al.* (2013) também estudaram o uso sabugo de milho como suporte para remoção de nitrato e obtiveram taxa de remoção de 98%, com entrada de 50mg.L^{-1} N-NO_3 , TDH de 10 h e 25°C . Os autores examinaram por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV) a estrutura do biofilme aderido à espiga de milho e verificaram que o suporte de espiga de milho fresco tem uma superfície áspera e poros nítidos, que forneceram espaços intermediários para o crescimento e multiplicação de microrganismos.

Zhang *et al.* (2019) também explicam que um TDH mais curto no processo de desnitrificação com boa eficiência de remoção está relacionado ao biofilme firmemente aderido aos poros na superfície irregular e áspera do suporte. Ling *et al.* (2021) compararam a palha de arroz, palha de trigo, caule de milho, sabugo de milho, talo de soja e casca de soja como fontes de carbono e verificaram que o sabugo apresentou a melhor capacidade de remoção de nitrato devido à sua superfície rugosa e alta proporção (66%) de hemicelulose e celulose degradáveis. Já o caule de milho apresentou o menor teor de fonte efetiva de carbono, pois sua estrutura era densamente lignocelulósica, além disso, sua superfície era lisa, com sua eficiência de remoção menor do que maioria dos materiais estudados, sendo maior apenas do que a eficiência obtida com a palha de trigo.

Zhang *et al.* (2019), Wang *et al.* (2013) e Ling *et al.* (2021) correlacionaram as maiores taxas de remoção ao tipo de estrutura e área superficial do suporte utilizado; os autores observaram que os reatores preenchidos com sabugos fornecem as maiores eficiências devido à sua estrutura que favoreceu a colonização dos microrganismos desnitrificantes, tornando a rugosidade do suporte um parâmetro importante na escolha do suporte.

As morfologias do caule e do sabugo de milho foram observadas por MEV (Figura 10). As figuras 10a e 10c apresentam, respectivamente, as estruturas do caule e o sabugo de milho antes do processo de desnitrificação. O caule apresentou poros maiores e em menores quantidades quando comparado com o sabugo de milho. Os suportes apresentaram uma morfologia de superfície rugosa, com poros distribuídos em toda a superfície, o que é consistente com a morfologia observada por Wang *et al.* (2013) e Ling *et al.* (2021), comprovando que a superfície áspera e a presença de poros criaram condições de crescimento para fixação bacteriana e formação de biofilme.

Figura 10: MEV dos resíduos agrícolas investigados (500x).



os desnitificação; c:
nitificação.

utura dos suportes
) apresentou uma
d) estrutura antes da
desnitificação. Já a estrutura do sabugo de milho (Figura 10d) foi substituída por uma superfície rugosa e estrutura agrupada. Yang *et al.* (2015) explicam que as modificações estão correlacionadas às composições químicas dos suportes, visto que a lignina dos resíduos agrícolas não é fácil de ser biodegradada, pelo contrário, proporciona mais estruturas de poros com a utilização de substâncias solúveis, já a celulose e a hemicelulose são degradadas mais rapidamente, diminuindo-se suas porcentagens durante o processo.

O caule apresenta em sua composição maior quantidade de celulose e hemicelulose do que lignina, já o sabugo de milho apresenta quantidades de lignina próximas da celulose e hemicelulose. A decomposição da celulose ocorre por ação de enzimas (celulases) produzidas por uma vasta e diversa população fúngica (gêneros *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Phoma*) e diversas bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Na degradação da hemicelulose muitas

enzimas estão envolvidas, as quais são produzidas por fungos e bactérias, sendo as actinobactérias um grupo de destaque neste processo. A lignina apresenta elevada recalcitrância em função do seu alto peso molecular e à estrutura tridimensional que confere alta estabilidade química. Ganha ainda importância neste ponto a ocorrência de anéis aromáticos compondo sua estrutura. Sua decomposição é realizada por lacases e peroxidases. A lignina é em materiais lignocelulósicos que protege a celulose e a hemicelulose das enzimas que digerem os polissacarídeos, cujos monômeros entram na célula microbiana e sofrem degradação, por isso o teor deste componente se relaciona inversamente à taxa de decomposição dos materiais vegetais (ANDREOTE; CARDOSO, 2016). Wang *et al.* (2013) e Ling *et al.* (2021) citam que as enzimas extracelulares secretadas pelos microrganismos podem hidrolisar celulose e hemicelulose em substratos de moléculas pequenas e solúveis, onde o carbono orgânico liberado pela degradação microbiana pode ser usado como co-metabólitos e doadores de elétrons para promover a desnitrificação. Portanto, presume-se que a remoção eficiente de nitratos seja o resultado de múltiplos mecanismos atuando em conjunto.

5.2 NITRITO

As concentrações de nitrito observadas nos efluentes coletados na Fase I estão apresentadas na Tabela 8. Durante a caracterização das amostras de entrada não foi detectada presença de nitrito (Tabela 9). O reator preenchido apenas de Mini Biobobs[®] apresentou as maiores concentrações de nitrito (1,581-1,952 mg.L⁻¹). No TDH de 24 h os reatores apresentaram as menores concentrações de nitrito (0,031-0,061mg.L⁻¹), no reatores preenchidos com caule e o Mini Biobobs[®] (CA+E) e preenchido com sabugo e o Mini Biobobs[®] (SA+E), os mesmos reatores que apresentaram as maiores eficiências de remoção de nitrato. No TDH de 8 h os reatores acumularam as maiores concentrações de nitrito, 0,162 e 0,141 mg.L⁻¹, no reator preenchido com sabugo e no reator preenchido com caule (CA), respectivamente.

Tabela 8: Concentrações de N-NO₂⁻ (mg.L⁻¹) – Fase I.

TDH	Reator
-----	--------

	CA	CA + E	SA + E	E	SA
24 h	0,070 ± 0,053 ^{aA}	0,125 ± 0,107 ^{aA}	0,0616 ± 0,026 ^{aA}	2,0554 ± 1,602 ^{bA}	ND
16 h	0,923 ± 1,091 ^{aB}	0,588 ± 0,734 ^{abB}	0,110 ± 0,120 ^{bA}	2,5238 ± 0,306 ^{cA}	0,065 ± 0,073 ^{bA}
8h	0,062 ± 0,087 ^{aA}	0,082 ± 0,114 ^{aA}	0,103 ± 0,156 ^{aA}	ND	0,062 ± 0,09 ^{aA}

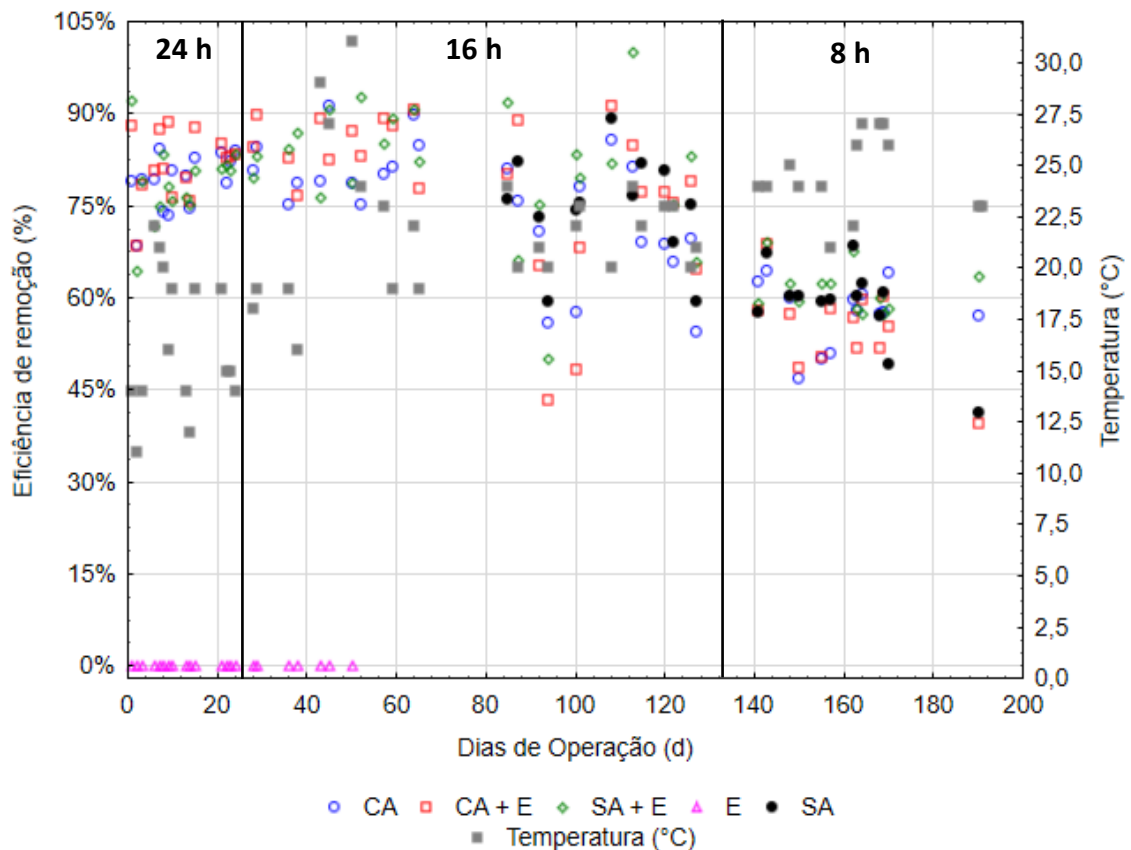
Fonte: a autora

Notas: - Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma linha, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$);
 - Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$);
 - ND: Não determinado. CA: Reator preenchido com Caule de milho; CA +E: Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

O nitrito é o produto intermediário da desnitrificação e sua concentração aumenta com a diminuição do teor de nitrato. Zhang *et al* (2019) cita que o TDH afeta o acúmulo de nitrito, ele verificou em seu estudo que a concentração de nitrito no efluente aumentava à medida que o TDH diminuía, sugerindo que a segunda etapa de desnitrificação, a redução do NO_2 em N_2 foi inibida. O autor justifica que o acúmulo ocorre principalmente devido ao baixo tempo de contato para a atividade microbiana, a qual pode-se relacionar aos resultados obtidos no presente estudo. Apesar do acúmulo de nitrito verificado nas saídas, excluindo as concentrações observadas no reator E, todas as demais estavam dentro dos padrões de potabilidade de água vigentes na legislação, que estabelece o limite máximo de 1 mg.L^{-1} (BRASIL, 2021).

5.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA

Durante a fase I não houve o controle de temperatura, sendo assim, a temperatura do experimento era a temperatura ambiente, resultando em grande amplitude de variação nos 3 TDHs estudados, mantendo-se na faixa de 11 a 31°C, essa grande variação se deve as mudanças sazonais ocorridas no período de desenvolvimento do estudo, que iniciou no inverno finalizando no verão. A Figura 11 apresenta as eficiências de remoção de N-NO_3 e as temperaturas (°C) ao longo da Fase I.

Figura 11: Eficiência de remoção de N-NO₃ e temperatura em cada TDH.

Fonte: a autora

Notas: CA: Reator preenchido com Caule de milho; CA +E: Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

Já na Fase II, foram utilizadas as temperaturas controladas de 18 e 30°C, podemos verificar que a temperatura influencia na eficiência de desnitrificação, onde temos as maiores eficiências (72,43-73,86%) ocorrendo na temperatura de 30°C (Tabela 9).

Tabela 9: Eficiência média de remoção de N-NO₃ nos diferentes reatores durante a Fase II no TDH de 8 h.

Temperatura	Eficiência de remoção de N-NO ₃ (%)			
	CA	CA + E	SA + E	SA
30 °C	73,00 ± 3,87	73,00 ± 4,16	73,86 ± 4,88	72,43 ± 6,11
18 °C	57,17 ± 3,54	56,83 ± 2,14	62,50 ± 6,67	56,83 ± 2,93

Fonte: a autora

Notas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e

Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

Nas duas fases foi possível verificar que a faixa de temperatura onde ocorreram as maiores remoções corresponde à faixa de temperatura ótima de 25-35°C (LIAO *et al.*, 2016). A temperatura é um fator importante de controle para desenvolvimento e ação dos organismos envolvidos no processo. Groh *et al.* (2019) verificaram que a taxa de desnitrificação é afetada positivamente com a temperatura, no experimento foram utilizadas temperaturas de 4 a 23°C, onde os autores de forma geral apontaram que em temperaturas mais baixas resultaram em uma taxa de desnitrificação mais baixa para todos os reatores e a taxa aumentava a medida que as temperaturas aumentavam, com as maiores taxas na temperatura mais alta (23°C), pois é um processo majoritariamente realizado por mesófilos.

Elefsiniotis e Li (2006) estudaram os efeitos da temperatura no processo de desnitrificação utilizando ácidos graxos como fonte de carbono, os autores utilizaram a faixa de 10 a 30°C no estudo, sendo que na mudança da faixa de 10-20° ocorre maior efeito da temperatura na taxa de remoção comparando-se com a mudança da faixa de 20-30°C, além da fonte de carbono utilizada influenciar apenas dentro dos 10-20°C, não mostrando nenhuma tendência aparente dentro da faixa mais alta investigada. Os autores também verificaram que ocorreu um período de latência devido à aclimatação dos microrganismos desnitrificantes ao substrato em um ambiente com condição de temperatura abaixo da faixa ótima, mas também indicaram que a desnitrificação é viável em nessas condições.

Jéglot *et al.* (2021) estudaram a sensibilidade à temperatura e composição de microbiomas redutores de nitrato de um biorreator de cavacos de madeira. Os autores verificaram resposta psicrotolerante à temperatura, com crescimento e atividade a 5 °C, apesar da eficiência ser menor comparado as temperaturas ideais, torna-se uma possibilidade para o processo de desnitrificação ocorrer durante o inverno.

Além de, quanto mais próximas da temperatura ótima, maior eficiência do metabolismo microbiano acredita-se também que essas temperaturas aumentam o consumo de oxigênio, criando mais pontos anaeróbicos para que a desnitrificação ocorra (SMITH, 1997).

5.4 pH E ALCALINIDADE

Na tabela 10 estão os valores de pH obtidos na Fase 1. O pH encontrado no afluente estava na faixa de 5,57-6,78, considerada uma condição levemente ácida. Observa-se que houve um aumento significativo do pH em quase todas as saídas dos reatores, apenas o reator preenchido de Mini Biobobs[®] não apresentou diferença significativa com a entrada, devido não ter ocorrido o processo de desnitrificação, como discutido anteriormente.

Tabela 10: pHs obtidos na Fase I.

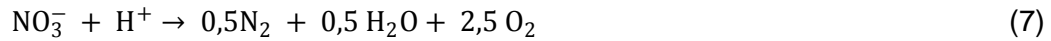
TDH	Reator					
	Entrada	CA	CA + E	SA + E	E	SA
24 h	5,57±0,21 ^a	6,89±0,21 ^{bA}	6,90±0,30 ^{bA}	6,71±0,35 ^{bA}	5,87±0,40 ^{aA}	ND
16 h	6,78±0,32 ^a	7,53±0,56 ^{bB}	7,53±0,52 ^{bB}	7,34±0,47 ^{abB}	6,37±0,49 ^{abA}	7,62±0,28 ^{bA}
8 h	6,67±0,41 ^a	7,46±0,47 ^{bB}	7,14±0,64 ^{abAB}	7,14±0,51 ^{abAB}	ND	7,10±0,59 ^{abB}

Fonte: a autora

Notas: Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma linha, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$); Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$); - ND: Não determinado. CA: Reator preenchido com caule de milho; CA + E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

Levando em consideração que em baixos valores de pH a desnitrificação é inibida, Ge *et al.* (2012) ajustaram seus valores iniciais de pH para $7,5 \pm 0,2$ e durante o experimento observaram um aumento gradual do pH até 8,4. He *et al.* (2016) estimaram os efeitos do pH inicial na capacidade de desnitrificação na faixa de pH de 6,0-9,0, utilizando o hidrolisado de casca de milho pré-tratado como fonte de carbono para remoção de nitrato, em todos os testes durante o processo de remoção os pHs aumentaram e os resultados demonstraram que o hidrolisado é uma fonte viável em uma ampla faixa de pH, com eficiência de desnitrificação de 88,45% em pH inicial 6,0 e 96,91% no pH de 8,5, que foi considerado o ideal no experimento.

Na Tabela 11 estão apresentados os valores médios de alcalinidade medidos no afluente e efluente e alcalinidade teórica na Fase I. A produção teórica de alcalinidade é de 3,57 mg de CaCO_3 por mg de N-NO_3 reduzido (EPA, 1993), conforme equação 7, o que torna a alcalinidade um dado a mais para evidenciar a ocorrência de desnitrificação heterotrófica (DINIZ, 2014).



No reator contendo apenas Mini Biobob[®] não foi verificada produção de alcalinidade, visto que os valores não apresentaram diferença significativa com a entrada, ou seja, não ocorreu remoção de nitrato. Nos demais reatores, foi observada produção de alcalinidade, o maior valor de alcalinidade ($93,94 \pm 47,92$ mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) produzido foi no TDH de 24 h no reator Ca + E, no qual também foi observada a maior eficiência de remoção de nitrato 81,94%. Já no TDH de 8 h, onde ocorreram as menores eficiências de remoção de nitrato, de 55,82 a 61,69%, foram geradas as menores alcalinidades, de 44,63 a 54,80 mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. Na Fase II (tabela 12), as maiores produções de alcalinidade de 49,16 a 66,96 mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, ocorreram na temperatura de 30°C, correspondendo, também, às maiores eficiências de remoção de nitrato, de 72,43 a 73,86% (Tabela 7).

Tabela 11: Alcalinidade (mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) obtidos na Fase I.

Reator	Alcalinidade (mg de $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	TDH (h)		
		24	16	8
CA	Medida	$72,82 \pm 38,22$	$64,74 \pm 8,62$	$44,63 \pm 6,57$
	Teórica	59,17	44,83	34,93
CA+E	Medida	$93,94 \pm 47,92$	$65,50 \pm 11,60$	$45,38 \pm 7,38$
	Teórica	62,20	45,44	33,95
SA+E	Medida	$73,97 \pm 31,29$	$59,33 \pm 9,69$	$54,80 \pm 6,47$
	Teórica	59,63	40,43	38,15
E	Medida	$1,38 \pm 3,96$	$0,48 \pm 3,16$	ND
	Teórica	-20,28	5,63	ND

AS	Medida	ND	64,88 ± 7,91	52,98 ± 8,13
	Teórica	ND	44,56	36,64

Fonte: a autora

Notas: ND: Não determinado; CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

Tabela 12: Alcalinidade (mg de CaCO₃ L⁻¹) obtidos na Fase II.

Temperatura	Reator				
	Entrada	CA	CA+E	SA+E	SA
30 °C	9,66 ± 3,40	66,96 ±	49,16 ±	62,53 ±	50,75 ±
		14,32	14,58	9,55	12,19
18 °C	13,26 ±	45,76 ±	39,23 ±	54,45±	38,11 ± 9,56
		5,82	14,04 ^a	14,13	10,59

Fonte: a autora

Notas: ND: Não determinado; Ca: Reator preenchido com caule de milho; Ca +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs[®]; Sa + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; Sa: Reator preenchido com sabugo de milho.

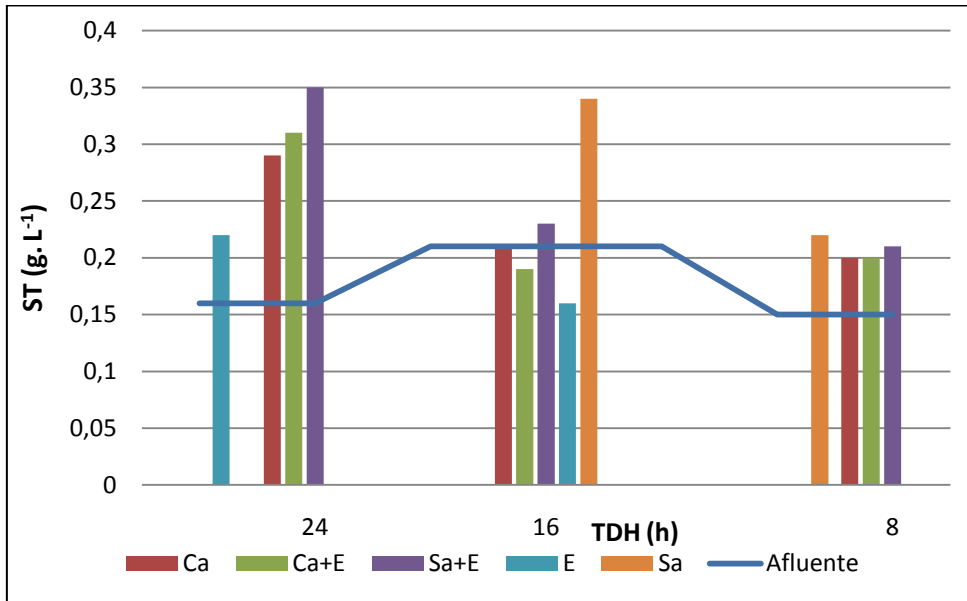
Torres (2011) utilizou endocarpo de coco como fonte de carbono para remoção de nitrato, durante o processo em 24 h alcançou remoção de 97,8% com entrada de 8,65 mg.L⁻¹ N-NO₃. O autor verificou aumento significativo de pH (6,66) e de alcalinidade (37 mg de CaCO₃ L⁻¹). Elefsiniotis e Li (2006) verificaram que a produção média de alcalinidade nas três condições envolvidas correspondeu a aproximadamente 80% do valor teórico.

O aumento de pH e da alcalinidade na saída dos reatores é considerado um indicativo de desnitrificação, pois está relacionado ao metabolismo da respiração bacteriana, onde observa-se na cinética de desnitrificação a redução de nitrato e consumo de H⁺ (TORRES, 2011). A produção da alcalinidade e o consequente aumento da capacidade tampão do efluente implicam que a desnitrificação pode ser particularmente atrativa para aplicações práticas onde a capacidade tampão natural de um sistema de tratamento biológico é limitada (ELEFSINIOTIS; LI, 2006).

5.5 SÓLIDOS TOTAIS (ST) E SÓLIDOS TOTAIS VOLÁTEIS (STV)

São apresentados nas Figuras 12 e 13 os resultados das concentrações médias afluentes e efluentes de ST e STV. Em todas as condições operacionais os valores encontrados de sólidos nas saídas dos reatores são maiores que no afluente, indicando produção de biomassa nos sistemas (ZHANG *et al.*, 2019).

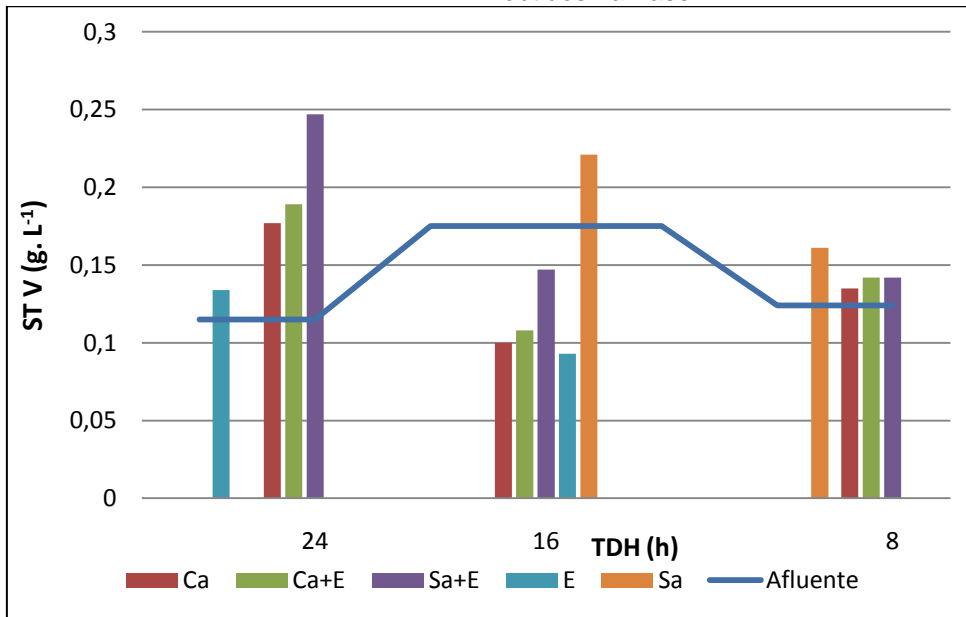
Figura 12: Gráfico com teores de Sólidos totais (ST) no afluente e efluente dos reatores obtidos na Fase I.



Fonte: a autora

Notas: ND: Não determinado; CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs®; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs®; E: Reator preenchido com Mini Biobobs®; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

.Figura 13: Gráfico com teores de Sólidos totais voláteis (STV) no afluente e efluente dos reatores obtidos na Fase I.



Fonte: a autora

Notas: - ND: Não determinado; CA: Reator preenchido com Caule de milho; CA +E: Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; E: Reator preenchido com Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

5.6 NMP DAS BACTÉRIAS DESNITRIFICANTES

Na Tabela 13 está apresentado o Número Mais Provável (NMP) das Bactérias Desnitrificantes presentes no menor TDH (8 h), tempo onde foram obtidas as menores eficiências de remoção de nitrato nos quatro reatores.

Tabela 13: Número Mais Provável (NMP) de Bactérias Desnitrificantes em TDH de 8 h

Meio suporte	Reator	(NMP mL ⁻¹)
Caule	CA	<2,4x10 ⁴
Caule	CA+E	<5,2x10 ⁵
Mini Biobobs [®]	CA+E	<6,4x10 ⁶
Sabugo	SA+E	<2,6x10 ⁶
Mini Biobobs [®]	SA+E	<8,2x10 ⁶
Sabugo	SA	<2,2x10 ⁶

Siglas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs[®]; SA + E: Reator preenchido com sabugo de milho e Mini Biobobs[®]; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

Fonte: a autora.

Os resultados do NMP das bactérias desnitrificantes foram encontrados na faixa de $10^4 - 10^6$ bactérias desnitrificantes/mL, Silva (2021) obteve a mesma faixa de estimativa do NMP em reatores de sabugo e Mini Biobobs®. Resultados semelhantes aos de Wang *et al.* (2013) que obtiveram no reator preenchido com sabugo de milho 10^5 bactérias desnitrificantes/mL.

Zhang *et al.* (2019) observaram em seu estudo que *Thauera* e *Dechloromonas* são as bactérias desnitrificantes dominantes adaptadas a uma fonte externa de carbono, além de *Thaurea*, *Myxococcales*, *Rubrivivas gelatinosus*, *Acidovorax* e *Comamonas granuli*, que pertence à família *Comamonadaceae*, também foram observados utilizando polímeros biodegradáveis como biofilme carreador e fonte de carbono sólido.

Ortmeyer *et al.* (2021) verificaram em seu estudo que as amostras foram dominadas por *Actinobacteria* e *Proteobacteria*, com a estrutura da comunidade microbiana fortemente influenciada pela temperatura e carbono orgânico. Por exemplo, amostras suplementadas com glicose e incubadas à temperatura ambiente (21,5°C) também foram dominadas por *Proteobacteria* (53%-60% de abundância relativa) e *Actinobacteria* (40% - 47%). No entanto, quando incubadas a 10°C, as *Actinobacteria* dominaram (99%) as comunidades. À temperatura ambiente, *Proteobacteria* dominaram as amostras contendo glicose (53%–60%) e etanol (98%), enquanto *Actinobacteria* foi dominante em ácido ascórbico (73%–81%).

Hou *et al.* 2019 observaram a dominância de *Massilia* (46,5%), responsável pela degradação do farelo de arroz, *Flavobacterium* e *Chryseobacterium* (0,6% e 2,2%) foram capazes de utilizar matérias-primas orgânicas e produzir amilases extracelulares, que podem degradar o amido pela hidrólise e produzir carboidratos menores, *Sphingomonas* (2,7%) pode produzir enzimas que degradam a lignina, convertendo-a em pequenas moléculas orgânicas. *Sorangium* (2,3%) e *Flavobacterium* foram relacionados com componentes facilmente degradáveis de celulose e hemiceluloses. No entanto, as bactérias desnitrificantes tornaram-se as bactérias dominantes, *Pseudomonas* (25,3%) foi relatado para utilizar NO_3^- ou NO_2^- como aceptor de elétrons, *Flavobacterium* (15,7%) foi identificada como bactéria com capacidade de desnitrificação.

5.7 ANÁLISE DA CINÉTICA DA REMOÇÃO DE NITRATO

As equações 8 e 9 representam as equações cinéticas de ordem zero e de primeira ordem, respectivamente:

$$\frac{ct}{c_0} = k_1 t \quad (8)$$

Onde:

ct: Concentração de nitrato no tempo t (mg.L⁻¹);

c₀: Concentração inicial de nitrato (mg.L⁻¹);

t: tempo (h);

k₁: constante de velocidade de ordem zero (WEN *et al.*, 2010).

A equação cinética de primeira ordem é a seguinte:

$$\ln \frac{ct}{c_0} = k_2 t \quad (9)$$

Onde:

k₂: constante de velocidade de primeira ordem (CONTRERA *et al.*, 2014).

Gao *et al.* (2022) utilizando seis tipos de fontes de carbono, verificaram em seu experimento que as equações cinéticas foram de ordem zero e de primeira ordem, entretanto, os resultados mostraram que houve maior correlação entre o processo de desnitrificação e a cinética de ordem zero ($R^2 > 0,9$) do que a cinética de primeira ordem ($0,71 < R^2 < 0,89$).

O comportamento de ordem zero também foi indicado no ensaio de Robertson (2010). Os testes incluíram quatro execuções experimentais em concentrações crescentes de nitrato afluyente de 3,1 a 48,8 mg.L⁻¹, com suporte de madeiras com idade variável. O autor apontou que um ajuste linear é considerado apropriado para um modelo cinético de ordem zero onde a remoção de massa de nitrato permanece constante independentemente da sua concentração de nitrato, enquanto um ajuste não linear é apropriado para um modelo cinético de primeira ordem onde a remoção de massa de nitrato varia em proporção à concentração deste soluto, ou seja, quando o nitrato é o substrato limitante.

Schipper *et al.* (2010) explicam de forma simplificada que se a taxa de remoção de massa de nitrato estiver relacionada com a concentração de nitrato, então se aplica a cinética de reação de primeira ordem. Por outro lado, se a

remoção de massa de nitrato fosse independente da concentração de nitrato e sim controlada por um parâmetro independente, como a disponibilidade de carbono orgânico lábil, então a cinética de ordem zero seria aplicada. Hou *et al.* (2019) em seu estudo utilizando diferentes dosagens de farelo de arroz também verificaram que a cinética de ordem zero se aplica melhor na remoção de nitrato. Com base nessas informações, as análises cinéticas do presente estudo se adequaram a cinética de ordem zero (Tabela 14).

Tabela 14: Equações cinéticas de ordem zero no processo de desnitrificação.

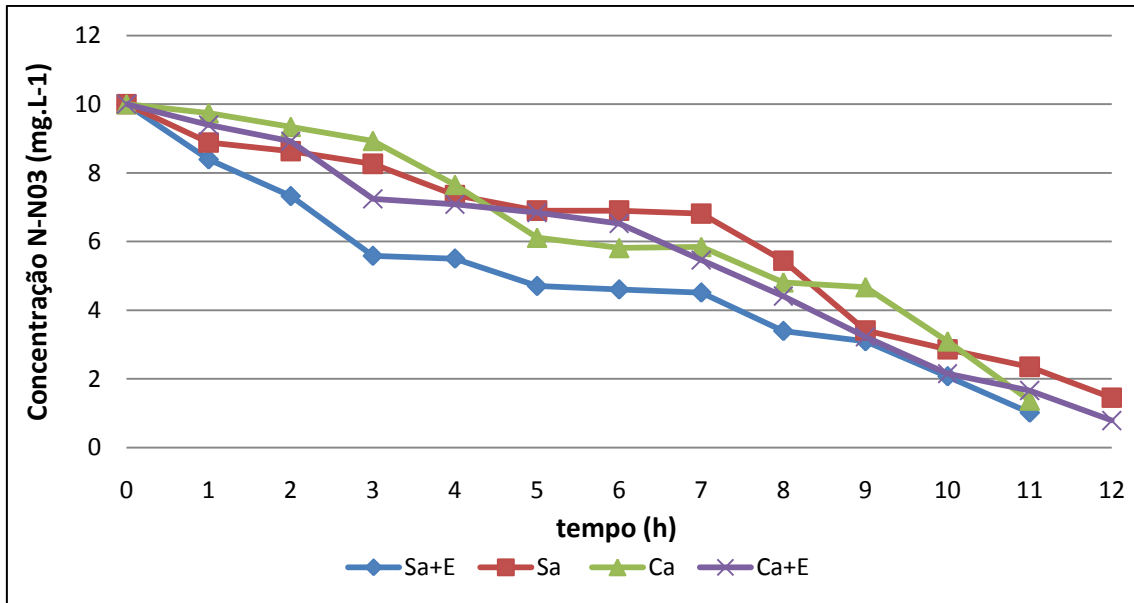
Reator	Equação de ordem zero	k_1	R^2
CA	$C_t = -0,7477 t + 10,559$	-0,7477	0,9602
CA+E	$C_t = -0,7681 t + 10,276$	-0,7681	0,9792
SA+E	$C_t = -0,6972 t + 8,8479$	-0,6972	0,9432
SA	$C_t = -0,6895 t + 10,232$	-0,6895	0,9487

Siglas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com Caule de milho e Mini Biobobs®; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs®; SA: Reator preenchido com Sabugo de milho.

Fonte: a autora.

Com os resultados obtidos verifica-se que houve correlação entre o processo de desnitrificação e a cinética de ordem zero ($R^2 > 0,9$) (Figura 14), nos reatores preenchidos com sabugo de milho e com sabugo de milho e Mini Biobobs®; resultaram em menores tempos para remover totalmente o $N-NO_3^-$, visto que obtiveram os menores valores de k_1 -0,6895 e -0,6972, como Gao *et al.* (2022) explica.

Figura 14: Gráfico das concentrações de nitrato obtidas durante os ensaios cinéticos realizados nos diferentes reatores.



Fonte: a autora

Notas: CA: Reator preenchido com caule de milho; CA +E: Reator preenchido com caule de milho e Mini Biobobs®; SA + E: Reator preenchido com Sabugo de milho e Mini Biobobs®; SA: Reator preenchido com sabugo de milho.

6 CONCLUSÃO

A desnitrificação de águas de drenagem agrícola com utilização de dois subprodutos agrícolas, caule e sabugo de milho, se mostraram viáveis em todas as condições estudadas, pois possibilitaram remover nitrato de maneira eficiente, atendendo às legislações vigentes. Entretanto, o reator preenchido apenas com Biobob® não apresentou remoção, confirmando a necessidade de um doador de elétrons para a reação de desnitrificação.

A maiores taxas de remoção de nitrato foram obtidas nos TDHs de 24 e 16 h, não havendo diferença estatística entre os 4 reatores preenchidos com caule e sabugo de milho em diferentes proporções. Após a redução do TDH para 8 h, houve diminuição na eficiência de remoção de nitrato, contudo, ainda assim, as concentrações ficaram abaixo do limite estabelecido na legislação.

Com a realização do controle de temperatura, confirmou-se que a eficiência de remoção é influenciada por esse parâmetro, onde as maiores eficiências, de 72,43 a 73,86%, foram obtidas na temperatura de 30°C, devido se tratar de um processo realizado por bactérias mesofílicas.

Com a realização das análises de NMP das bactérias verificou-se presença das bactérias desnitrificantes.

O processo de desnitrificação seguiu a cinética de ordem zero, pois a remoção de nitrato foi referente à disponibilidade de carbono orgânico, obtendo correlação maior que 0,9 nos quatro biorreatores preenchidos com os suportes biodegradáveis.

Analisando o aspecto ambiental, o aproveitamento dos dois subprodutos agrícolas no processo de remoção de nitrato se mostra relevante em virtude da grande geração dos mesmos nas áreas agrícolas.

REFERÊNCIAS

- ALABURDA, J.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p. 160-165, 1998.
- ALDOSSARI, N.; ISHII, S. Fungal denitrification revisited – Recent advancements and future opportunities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 157, 2021.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21 ed. Washington: 2005.
- ANDREOTE, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Microbiologia do solo. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP)**, 2ª Ed. p. 221, 2016.
- BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; MOTTA, A. C. V. Fixação biológica de nitrogênio em *Poaceae*. **Evidência, Joaçaba**, v. 12, n. 1, p. 7-18, 2012.
- BARROS, F. Dinâmica do nitrogênio e adubação nitrogenada. **CHBAGRO**. 2020. Disponível em: <https://blog.chbagro.com.br/dinamica-do-nitrogenio-e-adubacao-nitrogenada>
- BIOPROJ. Tecnologia Ambiental. Disponível em: <http://bioproj.tecnologia.ws/tecnologia>
- BORGES JÚNIOR, J. C. F.; FERREIRA, P. A.; PRUSKI, F. F.; SILVA JÚNIOR, A. G. da. Sistemas de drenagem agrícola. Parte I: desenvolvimento do modelo e análise de sensibilidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, p. 369-375, 2001.
- 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 Diário Oficial da União, 2021.
- BUENO, R. de F. **Avaliação na nitrificação e desnitrificação simultânea em estação de tratamento de esgoto em escala real**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Civil). Escola Politécnica. Universidade de São Paulo, 2017.
- CAO, S. M. de S. **Nitrificação e desnitrificação em situações críticas de substrato**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Programa de Engenharia Química (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
- CEPEA/ESALQ, Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. PIB-AGRO/CEPEA: PIB do agro cresce 8,36% em 2021; Participação no PIB brasileiro chega a 27,4%. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**. Universidade de São Paulo (USP), 2022.

CHEIKH, A.; YALA, A.; DROUICHE, N.; ABDI, N.; LOUNICI, H.; MAMERI, N. Denitrification of water in packed beds using bacterial biomass immobilized on waste plastics as supports. **Ecological engineering**, v. 53, p. 329-334, 2013.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Mercado de Insumos Agropecuários: Fertilizantes e Máquinas Agrícolas. 2020.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Mercado de Insumos Agropecuários: Fertilizantes e Máquinas Agrícolas. 2021.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução Nº 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e 120 diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. 2005.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução Nº 396**, de 3 de abril de 2008. Classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. 2008.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução Nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357 de março de 2005 do CONAMA. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. 2011.

CONTRERA, R. C.; DA CRUZ SILVA, K. C.; MORITA, D. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; SCHALCH, V. First-order kinetics of landfill leachate treatment in a pilot-scale anaerobic sequence batch biofilm reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 145, p. 385-393, 2014.

DELLA ROCCA, C.; BELGIORNO, V.; MERIÇ, S. Cotton-supported heterotrophic denitrification of nitrate-rich drinking water with a sand filtration post-treatment. **Water SA**, v. 31, p. 229-236, 2005.

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

DUARTE, N. C. **Efeito da concentração de matéria orgânica na desnitrificação em reator de leito empacotado e UASB**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil na área de Saneamento e Ambiente). Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP, 2018.

ELEFSINIOTIS, P.; LI, D. The effect of temperature and carbon source on denitrification using volatile fatty acids. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, n. 2, p. 148-155, 2006.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Drenagem Superficial para Diversificação do Uso dos Solos de Várzea do Rio Grande do Sul. **Circular Técnica**, 2004.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. 1ª edição, p. 163, 2017.

EPA. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati. Manual Nitrogen Control. **Technology Transfer**, 1993.

EVANGELISTA, A. W. P.; FERREIRA, P. A.; PRUSKI, F. F.; SEDIYAMA, G. C. Desenvolvimento e aplicação de metodologia para dimensionamento de sistemas de drenagem agrícola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, p. 441-449, 2005.

FATEHI-POULADI, S.; ANDERSON, B. C.; WOOTTON, B.; BUTTON, M.; BISSEGER, S.; ROZEMA, L.; WEBER, K. P. Interstitial water microbial communities as an indicator of microbial denitrifying capacity in wood-chip bioreactors. **Science of The Total Environment**. v. 655, p 720-729, 2019.

FOCO, M. L. R.; NOUR, E. A. A. Desempenho de sistema combinado anaeróbio-aeróbio na remoção de nitrogênio no tratamento de esgoto sanitário. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 35, n. 2, p.131-138, 2014.

GAO, S.; GONG, W.; ZHANG, K.; LI, Z.; WANG, G.; YU, E., XIE, J. Effectiveness of agricultural waste in the enhancement of biological denitrification of aquaculture wastewater. **PeerJ**, v. 10, p. e13339, 2022.

GE, S.; PENG, Y.; WANG, S.; LU, C.; CAO, X.; ZHU, Y. Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: The effects of carbon sources and COD/NO₃-N. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 137-143, 2012.

HARTZ, T.; SMITH, R.; CAHN, M.; BOTTOMS, T.; BUSTAMANTE, S. C.; TOURTE, L.; JOHNSON, K.; COLETTI, L. Wood chip denitrification bioreactors can reduce nitrate in tile drainage. **California Agriculture**, v. 71, 2017.

HELLMAN, M.; HUBALEK, V.; JUHANSON, J.; ALMSTRAND, R.; PEURA, S.; HALLIN, S. Substrate type determines microbial activity and community composition in bioreactors for nitrate removal by denitrification at low temperature. **Science of The Total Environment**, v. 755, 2021.

HE, J.; ZHOU, S.; HUANG, S.; ZHANG, Y. Pretreated Corn Husk Hydrolysate as the Carbon Source for Aerobic Denitrification with Low Levels of N₂O Emission by Thermophilic *Chelatococcus daeguensis* TAD1. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 9, p. 1-12, 2016.

HOOVER, N. L.; BHANDARI, A.; SOUPIR, M. L.; MOORMAN, T. B. WOODCHIP denitrification bioreactors: Impact of temperature and hydraulic retention time on nitrate removal. **Journal of Environmental Quality**, v. 45, n. 3, p. 803-812, 2016.

HOU, T.; CHEN, N.; TONG, S.; LI, B.; HE, Q.; FENG, C. Enhancement of rice bran as carbon and microbial sources on the nitrate removal from groundwater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 148, p. 185-194, 2019.

JÉGLOT, A.; SØRENSEN, S. R.; SCHNORR, K. M.; PLAUBORG, F.; ELSGAARD, L. Temperature sensitivity and composition of nitrate-reducing microbiomes from a full-scale woodchip bioreactor treating agricultural drainage water. **Microorganisms**, v. 9, n. 6, p. 1331, 2021.

KOUANDA, A.; HUA, G.. Determination of nitrate removal kinetics model parameters in woodchip bioreactors. **Water Research**, v. 195, p. 116974, 2021.

LAI, J.; XIUGUI, W. Comparing Three Carbon Substrates with Cow Dung Liquid for Denitrification of Agricultural Drainage Water. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 30, n. 4, p. 3677-3684, 2021.

LING, Y.; YAN, G.; WANG, H.; DONG, W.; WANG, H.; CHANG, Y.; LI, C. Release mechanism, secondary pollutants and denitrification performance comparison of six kinds of agricultural wastes as solid carbon sources for nitrate removal. **International Journal of Environmental Research and Public health**, v. 18, n. 3, p. 1232, 2021.

LIAO, R.; MIAO, Y.; LI, J.; LI, Y.; WANG, Z.; DU, J.; SHEN, H. Temperature dependence of denitrification microbial communities and functional genes in an expanded granular sludge bed reactor treating nitrate-rich wastewater. **RSC Advances**, v. 8, n. 73, p. 42087-42094, 2018.

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

MARTIN, E. A.; DAVIS, M. P.; MOORMAN, T. B.; ISENHART, T. M.; SOUPIR, M. L. Impact of hydraulic residence time on nitrate removal in pilot-scale woodchip bioreactors. **Journal of Environmental Management**, v. 237, p. 424-432, 2019.

MOORMAN, T. B.; PARKIN, T. B.; KASPAR, T. C.; JAYNES, D. B. Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor. **Ecological Engineering**, v. 36, p. 1567-1574, 2010.

MUNDSTOCK, C. M. Qualidade física e química da água de irrigação e de drenagem do perímetro de irrigação do Arroio Duro (AUD – Camaquã) de 2005 A 2012. **Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA)**, 2013.

NORDSTRÖM, A.; HERBERT, R. B. Denitrification in a low-temperature bioreactor system at two different hydraulic residence times: laboratory column studies. **Environmental Technology**, v. 38, n. 11, p. 1362-1375, 2017.

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**, v. 61, p. 60-69, 2013.

OLIVEIRA, M. P.; MALAGOLLI, G. A.; CELLA, D. Mercado de fertilizantes: Dependência de importações do Brasil. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 1, p. 489-498, 2019.

OLIVEIRA, J. G. B. de. **Pós-tratamento de efluente de UASB em reator de leito empacotado com aeração intermitente em escala piloto**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2020.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Guidelines for Drinking-water Quality**, 4ª edição, 2011

ORTMEYER, F.; BEGEROW, D.; GUERREIRO, M. A.; WOHNLICH, S., BANNING, A. Comparison of denitrification induced by various organic substances—Reaction rates, microbiology, and temperature effect. **Water Resources Research**, v. 57, n. 11, p. e2021WR029793, 2021.

PARK, J. Y.; YOO, Y. J. Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: which electron donor we can choose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, n. 3, p. 415-429, 2009.

POLAK, R. **Reator de leito empacotado em escala piloto para remoção de matéria orgânica e nitrogenada de esgoto sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental, Área de Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos.). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2018.

REETZ, H. F. Fertilizantes e o seu uso eficiente. **São Paulo: ANDA**, 2017. Disponível em: <https://ufla.br/ascom/wp-content/uploads/2018/03/Fertilizantes-e-seu-uso-eficiente-WEB-Word-Ouubro-2017x-1.pdf> Acesso em: 19 mar. 2021.

ROBERTSON, W. D.; J.A. CHERRY, J. A. In situ denitrification of septic-system nitrate using reactive porous media barriers: field trials. **Ground Water**, v. 33, p. 99-111, 1995.

ROBERTSON, W. D. Nitrate removal rates in woodchip media of varying age. **Ecological Engineering**, v. 36, Issue 11, p. 1581-1587, 2010.

SÁNCHEZ-BALSECA, J.; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, I.; ALDÁS-SANDOVAL, M. Tratamiento biológico de desnitrificación de aguas residuales usando un reactor de biopelícula con cáscara de arroz como fuente de energía. **Tecnología y Ciencias del Agua**, v.10, p. 78-97, 2019.

SANTOS, C. E. D. **Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte de carbono no processo de nitrificação e desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado**. Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SATAYEVA, A. R.; HOWELL, C. A.; KOROBEINYK, A. V.; JANDOSOV, J.; INGLEZAKIS, V. J.; MANSUROV, Z. A.; MIKHALOVSKY, S. V.

Investigation of rice husk derived activated carbon for removal of nitrate contamination from water. **Science of The Total Environment**, v. 630, p. 1237-1245, 2018.

SCHIPPER, L. A.; MCGILL, A. Nitrogen transformation in a denitrification layer irrigated with dairy factory effluent. **Water Research**, v. 42, n. 10-11, p. 2457-2464, 2008.

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, 2010.

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, 2018.

SILVA, M. D. da. **Produção de etanol de segunda geração por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602 a partir da hidrólise ácida de sabugo de milho (*Zea mays L.*)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Campus de São José do Rio Preto, Universidade Estadual Paulista, 2018.

SILVA, T. **Remoção de nitratos de água de drenagem agrícola em biorreator com suporte de sabugo de milho e espuma de poliuretano**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental, Área de concentração: Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2021.

de Souza, J. S.; Pedrosa, P.; Gatts, P. V.; de Amaral Gravina, G. Aplicação das concentrações e proporções de nutrientes no diagnóstico da eutrofização. **VÉRTICES**, Campos dos Goytacazes/ RJ, v.16, n.1, p. 199-218. 2014.

TIEDJE, J. M. Denitrification. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. *Methods of soil Analysis - Chemical and microbiological properties*. **Wisconsin: America Society of Agronomy**, p. 815-830, 1984.

TONETTI, A. L.; CORAUCCI FILHO, B.; GUIMARÃES, J. R.; FADINI, P. S.; NICOLAU, C. E. Desnitrificação em um sistema simplificado de tratamento de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, p. 381-392, 2013.

TORRES, R. M. **Remoção biológica de nitrato em água de abastecimento humano utilizando o endocarpo de coco como fonte de carbono**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2011.

WANG, L.; XU, Z.; FU, Y.; CHEN, Y.; PAN, Z.; WANG, R.; TAN, Z. Comparative analysis on adsorption properties and mechanisms of nitrate and phosphate by modified corn stalks. **RSC Advances**, v. 8, n. 64, p. 36468-36476, 2018.

WANG, X.; XING, L.; QIU, T.; HAN, M. Simultaneous removal of nitrate and pentachlorophenol from simulated groundwater using a biodenitrification reactor packed with corncob. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 20, p. 2236–2243, 2013.

WEN, Y.; CHEN, Y.; ZHENG, N.; YANG, D.; ZHOU, Q. Effects of plant biomass on nitrate removal and transformation of carbon sources in subsurface-flow constructed wetlands. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7286-7292, 2010.

ZHANG, Q.; CHEN, X.; WU, H.; LUO, W.; LIU, X.; FENG, L.; ZHAO, T. Comparison of clay ceramsite and biodegradable polymers as carriers in pack-bed biofilm reactor for nitrate removal. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, p. 4184, 2019.

ZHAO, Y.; FENG, C.; WANG, Q.; YANG, Y.; ZHANG, Z.; SUGIURA, N. Nitrate removal from groundwater by cooperating heterotrophic with autotrophic denitrification in a biofilm–electrode reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v.192, p. 1033-1039, 2011.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 29-42, 2016.

YANG, X. L.; JIANG, Q.; SONG, H. L.; GU, T. T.; XIA, M. Q. Selection and application of agricultural wastes as solid carbon sources and biofilm carriers in MBR. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 186-192, 2015.

YAO, Z.; YANG, L.; WANG, F.; TIAN, L.; SONG, N.; JIANG, H. Enhanced nitrate removal from surface water in a denitrifying woodchip bioreactor with a heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying fungus. **Bioresource Technology**, v. 303, 2020.