

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK

**REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA CARBONÁCEA E NITROGENADA DE
ESGOTO SANITÁRIO REAL EM REATORES DE BANCADA DE LEITO FIXO
ORDENADO E EMPACOTADO**

PONTA GROSSA

2023

PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK

**REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA CARBONÁCEA E NITROGENADA DE
ESGOTO SANITÁRIO REAL EM REATORES DE BANCADA DE LEITO FIXO
ORDENADO E EMPACOTADO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa como requisito parcial para obtenção de título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Cláudia Barana
Coorientadora: Prof. Dra. Deize Dias Lopes

PONTA GROSSA

2023

W935 Wosiack, Priscila Arcoverde
Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de esgoto sanitário real em reatores de bancada de leito fixo ordenado e empacotado / Priscila Arcoverde Wosiack. Ponta Grossa, 2024.
92 f.

Tese (Doutorado 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.

Coorientadora: Profa. Dra. Deize Dias Lopes.

1. Reator - leito ordenado. 2. Reator - leito empacotado. 3. Esgoto sanitário. 4. Matéria orgânica - remoção. 5. Nitrogênio - remoção. I. Barana, Ana Cláudia. II. Lopes, Deize Dias. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. IV.T.

CDD: 664

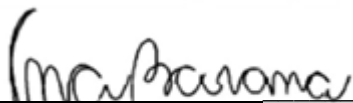
TERMO DE APROVAÇÃO

PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK

“ Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de esgoto sanitário real em reatores de bancada de leito fixo ordenado e empacotado ”

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

Orientador: Profa. Dra. Ana Claudia Barana – UEPG - PR



Dra. Ana Claudia Barana – UEPG - Presidente



Prof. Dr. Guilherme Araujo Vuitik- UEPG-PR - Membro

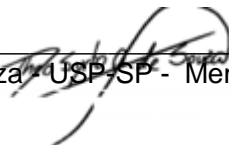


Documento assinado digitalmente
JESIANE STEFANIA DA SILVA BATISTA
Data: 03/12/2023 07:19:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jesiane Stefania Batista da Silva - UEPG-PR - Membro Titular Interno



Profa. Dra. Márcia Helena Rissato Zamarioli Damianovic - USP-SP - Membro Titular Externo



Prof. Dr. Theo Syrto Octavio de Souza - USP-SP - Membro Titular Externo

Profa. Dra. Kátia Valeria Marques Cardoso Prates - UTFPR-PR - Suplente Externo

Profa. Dra. Maria Magdalena Ribas Doll - UEPG-PR - Suplente Interno

Ponta Grossa, 30 de novembro de 2023.

*Dedico este trabalho a minha mãe.
A minha saudade diária.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me força, sabedoria e saúde de seguir este caminho e chegar ao fim desta jornada.

A minha família pelo carinho, apoio e auxílio em todos os momentos, principalmente a minha querida mãe Vanda Maria Arcoverde Silva, que sempre me apoiou e incentivou para continuar estudando e realizar o Doutorado. Gostaria que você estivesse aqui comigo para esta conquista, mas eu só percorri todo esse caminho por causa do seu exemplo e amor.

Ao meu marido, Bruno Remus Malaquias, pela paciência, apoio, amor e companheirismo, em todas as horas, em todas as coletas e em todas situações que pedi a sua ajuda e opinião, sempre participando e sempre ao meu lado para tudo o que precisar.

Ao meu amado filho, Davi, que nasceu durante esta jornada, me inspirou e me motivou a finalizar este trabalho, mesmo no meio de tantos obstáculos.

A minha orientadora, Profa. Dra. Ana Cláudia Barana pela oportunidade, orientação, contribuindo sempre com seus ricos conhecimentos e pela paciência em me orientar e me entender neste caminho percorrido.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Deize Dias Lopes, pela sua contribuição e disponibilidade em me ajudar nos ensaios cinéticos, sempre com calma e paciência. Também ao Prof. Dr. Guilherme Araújo Vuitik, pelo tempo disponibilizado e auxílio nos ensaios hidrodinâmicos.

Aos meus colegas do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente, Gabriel Proença, meu companheiro de pesquisa e meu substituto durante minha licença maternidade, obrigada pela sua dedicação e ajuda em todos os momentos. Aos amigos e colegas: Elaine, João, Gabriel Scremin, Tatiane e Fabiane, agradeço a todos que sempre foram solícitos para me auxiliar, pelas conversas e companheirismo no laboratório.

Agradecimentos à SANEPAR pelo financiamento do projeto, interesse em apoiar a pesquisa e permitir nosso livre acesso na ETE. À BioProj também pelo financiamento do projeto e pelo apoio ao trabalho e à CAPES pela bolsa concedida

E a todos que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho

RESUMO

O tratamento biológico de efluentes é bastante utilizado nas estações de tratamento de esgotos (ETE) para remoção da matéria orgânica carbonácea. Porém, no Brasil, sistemas tradicionalmente utilizados não promovem a remoção de nitrogênio total. Este trabalho teve por objetivo principal avaliar a remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de esgoto sanitário real utilizando diferentes razões entre esgoto bruto (EB) e efluente anaeróbio (EU) proveniente de reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). Foram utilizados dois reatores de bancada com duas diferentes disposições do leito fixo: leito ordenado (SFBR) e empacotado (PFBR), sob aeração intermitente. O meio suporte utilizado para fixação de biomassa foi o dispositivo denominado Mini Biobob[®], feito em PEAD (Polietileno de alta densidade) e espuma de PU (poliuretano). Os reatores foram operados com TDH de 10 horas, e aeração intermitente, 120 min aerando seguidos de 60 min sem aeração, em ciclos de 180 min. Foram avaliadas 3 condições de operação, que se diferenciaram pela razão de EB e EU (v/v): Condição 1: 50/50; Condição 2: 75/25 e Condição 3: 25/75. Os resultados demonstraram não haver diferença estatística na eficiência de redução da DQO e NT entre os reatores. As eficiências de redução de DQO ficaram acima de 60%, nas três condições estudadas. A condição 1 foi a que apresentou os melhores resultados de 87% e 88%, no SFBR e PFBR, respectivamente, de redução da DQO, e a condição 2 em relação aos resultados de remoção de NT, sendo 70,8% e 73,3%, no SFBR e FBR, respectivamente. Na condição 2, a nitrificação foi a etapa limitante enquanto na condição 3 foi a etapa de desnitrificação, prejudicando a eficiência de remoção de NT em ambas. As melhores velocidades cinéticas também foram identificadas nos ensaios da Condição 1. Pelas imagens obtidas pelo MEV foi possível identificar estruturas semelhantes a bactérias nos formatos de cocos, bacilos e bactérias filamentosas que colonizaram o material suporte. Nos ensaios de ecotoxicidade o esgoto bruto comprometeu o crescimento das raízes e a replicação celular, e após o tratamento do afluente nos reatores as taxas de aberrações e mutagenicidade foram diminuídas. Na análise metataxonômica foi identificada dominância do gênero *Nitrospira*, responsável pela nitrificação. *Chujaiibacter*, *Rhodoblastus*, *Clostridium*, *Romboutsia*, *Hypomicrobium*, os quais são gêneros associados a desnitrificação, também foram identificados, porém em baixas proporções. Os ensaios hidrodinâmicos mostraram que ambos os reatores são de mistura completa, apresentando o valor de N próximo a 1. Os resultados obtidos indicam que os modelos de reatores estudados possibilitaram a remoção de matéria orgânica e nitrogênio e podem ser aplicados como uma alternativa para aumentar a capacidade de tratamento da ETE e como uma etapa de pós-tratamento.

Palavras-chave: Reator de leito ordenado, Reator de leito empacotado, esgoto sanitário, remoção de matéria orgânica, remoção de nitrogênio.

ABSTRACT

The biological treatment of wastewater is widely used in sewage treatment plants (STPs) for the removal of carbonaceous organic matter. However, in Brazil, traditionally employed systems do not effectively remove total nitrogen. The main objective of this study was to evaluate the removal of both carbonaceous and nitrogenous organic matter from real sanitary sewage using different ratios of raw sewage (RS) to anaerobic effluent (AE) from a Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. Two bench-scale reactors with two different configurations of fixed bed were used: ordered bed (SFBR) and packed bed (PFBR), under intermittent aeration. The support medium for biomass fixation was the device called Mini Biobob®, made of high-density polyethylene (HDPE) and polyurethane foam (PU). The reactors were operated with a hydraulic retention time (HRT) of 10 hours and intermittent aeration, consisting of 120 minutes of aeration followed by 60 minutes without aeration, in cycles of 180 minutes. Three operating conditions were evaluated, differing in the RS to AE ratio (v/v): Condition 1: 50/50; Condition 2: 75/25; and Condition 3: 25/75. The results showed no statistical difference in the efficiency of chemical oxygen demand (COD) and total nitrogen (TN) reduction between the reactors. COD reduction efficiencies were above 60% in all three studied conditions. Condition 1 showed the best results with 87% and 88% COD reduction in SFBR and PFBR, respectively, and Condition 2 demonstrated the best TN removal results, with 70.8% and 73.3% in SFBR and PFBR, respectively. In Condition 2, nitrification was the limiting step, while in Condition 3, denitrification was limiting, affecting TN removal efficiency in both. The best kinetic rates were also identified in the assays of Condition 1. Scanning electron microscopy (SEM) images revealed bacteria-like structures in the shapes of cocci, bacilli, and filamentous bacteria colonizing the support material. Ecotoxicity assays indicated that raw sewage compromised root growth and cell replication, but after treatment in the reactors, aberration and mutagenicity rates decreased. Metataxonomic analysis identified the dominance of the *Nitrospira* genus, responsible for nitrification. Genera associated with denitrification, such as *Chujaibacter*, *Rhodoblastus*, *Clostridium*, *Romboutsia*, and *Hypomicrobium*, were also identified but in low proportions. Hydrodynamic assays showed that both reactors exhibited complete mixing, with N values close to 1. The results suggest that the studied reactor models allowed for the removal of organic matter and nitrogen, making them a viable alternative to enhance STP treatment capacity and serve as a post-treatment stage.

Keywords: Ordered bed reactor, packed bed reactor, sanitary sewage, organic matter removal, nitrogen removal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Transformações bioquímicas do nitrogênio.....	16
Figura 2 - Mini Biobobs® utilizados como material suporte para biomassa.....	37
Figura 3 - Reator de leito ordenado (SFBR) (1) e Reator de leito empacotado (PFBR).....	37
Figura 4 - Foto do aparato experimental dos reatores operados em escala de bancada com leito fixo ordenado e empacotado.....	38
Figura 5 - Esquema ilustrativo do aparato experimental dos reatores operados em escala de bancada com leito fixo ordenado e empacotado.....	39
Figura 6 – Fluxograma do experimento.....	40
Figura 7 - Tratamentos realizados com <i>Allium cepa</i> nos diferentes substratos.....	45
Figura 8 - Gráfico temporal do comportamento da DQO nos reatores, afluente, efluente e eficiência na redução de DQO.....	50
Figura 9 - Gráfico temporal das formas nitrogenadas do afluente e efluente no SFBR.....	53
Figura 10 - Gráfico temporal das formas nitrogenadas do afluente e efluente no PFBR.....	53
Figura 11 - Gráfico temporal das eficiências de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação nos dois reatores.....	54
Figura 12 - Perfis temporais de nitrificação via $N-NH_4^+$ das três condições nos reatores.....	59
Figura 13 - Perfis temporais de nitrificação via $N-NO_2^-$ das três condições nos reatores.....	60
Figura 14 - Perfis temporais de desnitrificação das três condições, nos reatores.....	62
Figura 15 - Imagens da microscopia eletrônica de varredura das espumas dos Mini Biobobs® novos.....	64
Figura 16 - Imagens da microscopia eletrônica de varredura das espumas dos Mini Biobobs® dos reatores.....	65
Figura 17 - Células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i>	68
Figura 18 - Proporção da diversidade de gêneros encontrados nos reatores.....	69
Figura 19 - Curvas de concentração versus tempo para os reatores.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise comparativa do processo NDS em diferentes reatores.....	22
Tabela 2 – Fases experimentais.....	40
Tabela 3 – Caracterização média do afluente utilizado em cada condição.....	48
Tabela 4 – Concentração média de DQO afluente e efluente nas condições estudadas.....	49
Tabela 5 - Concentração média de NTK, N-NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ afluente e efluente e eficiências de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação nas três condições estudadas..	52
Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão de pH, alcalinidade e o cálculo de alcalinidade teórica em cada fase de operação dos reatores.....	56
Tabela 7 - Valores médios de sólidos totais, fixos e voláteis do afluente e efluente.....	57
Tabela 8 – Valores médios de sólidos em suspensão totais, fixos e voláteis do afluente e efluente	57
Tabela 9 – Parâmetros cinéticos de cada condição nos reatores.....	59
Tabela 10 – Parâmetros cinéticos de cada condição nos reatores.....	61
Tabela 11 – Parâmetros cinéticos de cada condição nos reatores.....	62
Tabela 12 – Valores de IM, IAC e IMUT das células de <i>Allium cepa</i> e o comprimento médio das raízes de cada tratamento.....	66
Tabela 13 – Características dos gêneros com maior abundância nas amostras de espuma interna e externa dos reatores SFBR e PFBR.....	70
Tabela 14 – Resultados de tempo de detenção hidráulica médio, número de reatores em série, volume ativo e morto obtidos nos reatores.....	73

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ANAMMOX	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i>
ANOVA	Análise de Variância
BON	Bactérias Oxidadoras de Nitrito
CE	Condutividade Elétrica
C/N	Razão Carbono/Nitrogênio
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COMAMMOX	<i>Complete Ammonia Oxidizing</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DQO/N	Razão Demanda Química de Oxigênio/Nitrogênio
EB	Esgoto Bruto
ETE	Estaco de Tratamento de Esgoto
EU	Efluente Anaeróbio proveniente do UASB
IAC	ndice de Aberraes Cromossmicas
IM	ndice de Mitótico
IMUT	ndice de Mutagenicidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NDS	Nitrificao e Desnitrificao Simultânea
NT	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
PFBR	<i>Packed Fixed Bed Reactor</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
SFBR	<i>Structure Fixed Bed Reactor</i>
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
TDH	Tempo de Deteno Hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 FORMAS DE NITROGÊNIO ENCONTRADOS NO AMBIENTE.....	15
2.2 PROCESSOS DE REMOÇÃO DE NITROGÊNIO	16
2.2.1 Processo Convencional: Nitrificação E Desnitrificação.....	16
2.2.2 Fatores que Interferem nos Processos de Nitrificação e Desnitrificação	18
2.2.3 Nitrificação e Desnitrificação Simultânea (NDS)	21
2.2.4. Outros Processos para Remoção de Nitrogênio	24
2.3 REMOÇÃO BIOLÓGICA DA MATÉRIA ORGÂNICA	26
2.3.1 Processo Aeróbio.....	27
2.3.2 Processo Anaeróbio	27
2.3 REATORES DE BIOMASSA IMOBILIZADA.....	28
2.4 ECOTOXICIDADE EM ESGOTO SANITÁRIO	32
2.5 ANÁLISE METATAXONÔMICA PARA IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS REMOVEDORAS DE NITROGÊNIO	33
3 OBJETIVOS	35
3.1 OBJETIVO GERAL.....	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4 METODOLOGIA	36
4.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	36
4.2 SUBSTRATO.....	36
4.3 INÓCULO E MATERIAL SUPORTE	36
4.4 APARATO EXPERIMENTAL.....	37
4.5 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO	39
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	40
4.7 CÁLCULO DAS EFICIÊNCIAS, ALCALINIDADE EFLUENTE TEÓRICA E ÍNDICES DE ECOTOXICIDADE	41
4.8 ENSAIOS CINÉTICOS	42
4.8.1 Nitrificação Via N-Amoniacal.....	43
4.8.2 Nitrificação Via N-Nitrito.....	43
4.8.3 Desnitrificação.....	44
4.9 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE	44

4.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	45
4.11 AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA POR SEQUENCIAMENTO GENÉTICO	46
4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE	48
5.2 REDUÇÃO DQO	49
5.3 REMOÇÃO DE NT.....	51
5.4 pH E ALCALINIDADE	56
5.5 SÓLIDOS	57
5.6 ENSAIOS CINÉTICOS	58
5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	64
5.8 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE	66
5.9 ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA.....	68
5.10 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS.....	72
5.11 CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
6 CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS.....	77

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e a evolução da industrialização resultaram na degradação de vários ecossistemas, inclusive o aquático. A poluição nos corpos d'água é causada, principalmente, pela descarga águas residuárias não tratadas ou indevidamente tratadas. Segundo a Agência Nacional de Águas (ANA), 43% da população brasileira é atendida por serviço de rede coletora de esgoto e estação de tratamento de esgotos; 18% da população se enquadra na situação em que os esgotos são coletados, mas não são tratados; 12% apresentam solução individual, como sistema de fossa séptica e 27% não possuem nenhum atendimento, nem coleta ou tratamento de esgotos (ANA, 2022).

No cenário estadual, no Paraná, 76% da população é atendida com serviços de esgotamento sanitário, sendo 64% atendido por sistema de coleta e tratamento de esgotos, 11% por solução individual e 1% tem apenas a coleta de esgoto, sem o tratamento. Apesar de 24% da população não ser atendida com nenhum serviço, o Paraná é um dos estados com melhor cenário de esgotamento sanitário do país. (ANA, 2022). Dessa forma, o Brasil precisa evoluir muito em atendimento, investimento e novas estratégias para manutenção da saúde da população e preservação do meio ambiente.

O descarte de esgotos sanitários sem tratamento prévio é umas das principais fontes de poluição de corpos d'água e lençóis freáticos, podendo causar a desoxigenação das águas e prejudica a vida aquática (MASSÉ, MASSE, 2000; CHAN, 2009). O descarte de efluentes ricos em nutrientes, como compostos nitrogenados e fosforados, são responsáveis por causar eutrofização e crescimento excessivo de algas. Este processo pode interferir em alguns dos usos do corpo d'água, como abastecimento humano, produção e cultivo de alimentos e pesca, pois pode causar turbidez devido ao excesso de microalgas, desequilíbrio no ambiente aquático e morte dos peixes por asfixia (PEREIRA-RAMIREZ et al., 2003; VON SPERLING, 2005).

Processos tradicionalmente utilizados no tratamento de esgoto sanitário apresentam significativa capacidade de remoção de matéria orgânica, porém não foram projetados para potencial remoção eficiente de nutrientes, levando à necessidade de implantação de sistemas de pós-tratamento (CORREA et al. 2018, PELAZ et al. 2018). O efluente do UASB, o qual é a segunda tecnologia mais utilizada no Brasil nas ETEs, pode ser considerado como de um efluente de difícil tratamento para remoção de nitrogênio, pois é pobre em matéria orgânica. A combinação de esgoto anaeróbio e esgoto bruto, além de aumentar a capacidade de tratamento da estação, possibilita um pós tratamento com real de aplicação, pois com a adição de esgoto

bruto, como fonte de matéria orgânica, pois fornece os doadores para remoção de nitrogênio e elétrons necessários ao processo de desnitrificação.

Reatores que operam sob aeração intermitente são interessantes para promover a remoção tanto de matéria orgânica, quanto de matéria nitrogenada. O uso de sistema operado sob aeração intermitente consiste em um processo cíclico, com períodos determinados de aeração e não aeração. Quando submetido à aeração, a amônia presente no efluente é oxidada a nitrito ou nitrato. Durante o período sem aeração nitrito e nitrato são utilizados como receptores de elétrons para oxidação da matéria orgânica e convertidos a nitrogênio gasoso, que escapa do sistema. Sistema que operam sob aeração intermitente podem promover o processo NDS (Nitrificação e Desnitrificação Simultânea) e então a efetiva remoção de nitrogênio (METCALF & EDDY, 2003; ZHANG e ZHOU, 2007).

Modelos de reatores de biomassa imobilizada têm sido utilizados para promover a remoção de matéria orgânica e nitrogênio. (MOURA et al., 2012; SANTOS et al., 2016; LEICK et al., 2017; CORREA et al., 2018; MOURA et al., 2018). Duas configurações apresentadas neste estudo são: reator de leito fixo estruturado e o reator de leito fixo empacotado, os quais foram preenchidos por unidades chamados de Biobob®, consistem em pequenas estruturas cilíndricas de polipropileno recheadas com espuma de poliuretano. Em um dos reatores os Biobobs® estão organizados e no outro modelo são distribuídos de forma aleatória. Este material é utilizado como meio suporte para biomassa. Microrganismos nitrificantes aeróbios tendem a se fixar nas camadas externas do material suporte, enquanto que no interior, na ausência de oxigênio dissolvido (OD), é colonizado por bactérias desnitrificantes facultativas (ZHANG e ZHOU, 2007). A escolha por este meio suporte facilita as duas reações necessárias para remoção de nitrogênio e a ocorrência do processo NDS.

Reatores de leito estruturado podem gerar menor quantidade de lodo, quando comparado com sistemas convencionais, suportam certas variações no fluxo de efluentes, podendo se adaptar melhor a variações na carga orgânica, no entanto, esses reatores podem enfrentar limitações em termos de manutenção e tendência a entupimento (WANG et al, 2016; CHEN et al, 2018). Reatores de leito empacotado destacam-se pela facilidade de manutenção e flexibilidade operacional. A desvantagem associada a esses reatores inclui a possibilidade de compactação do leito e a heterogeneidade do fluxo, afetando a eficiência global do processo (FROMENT et al, 2011; BATHIA et al, 2014).

A literatura é inconclusiva sobre reatores empacotados operados com aeração intermitente para esgotos com baixas concentrações de DQO, como o caso do afluente deste estudo. A disposição do leito é importante em relação ao aspecto construtivo, caso não precise

estruturar, maior facilidade operacional. Como estratégia para promover a remoção de nitrogênio e minimizar os impactos causados pelo seu lançamento em corpos d'água, visando a facilidade de construção e operação de uma unidade de tratamento e a promoção de novas tecnologias de material suporte para biomassa, propõe-se o estudo de duas configurações de reator de leito fixo (ordenado e empacotado) para tratar uma mistura de esgoto bruto real e efluente anaeróbio (proveniente do UASB) com o objetivo de remoção de matéria orgânica e nitrogenada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FORMAS DE NITROGÊNIO ENCONTRADOS NO AMBIENTE

O nitrogênio representa cerca de 78% da composição do ar atmosférico, um dos elementos principais e essencial para sobrevivência dos organismos vivos. O nitrogênio está presente no ambiente em muitas formas, e a forma na qual se encontra depende do seu estado de oxidação. As mudanças nos estados de oxidação podem ser realizadas por organismos vivos (PEREIRA-RAMIREZ, 2003). O íon amônio (NH_4^+) é a forma mais abundante encontrada em águas residuárias (SANT'ANNA JUNIOR, 2010), seu equilíbrio com a forma não ionizada (NH_3) depende do pH, como mostra a Equação 1.



Em valores de pH menores ou iguais a 7, predomina-se a forma ionizada (NH_4^+) e apenas 8% é encontrado na forma não ionizada (NH_3). Quando o pH se situa entre 8 e 9, a fração da forma não ionizada cresce para 70%, aproximadamente. Já em valores de pH superior a 11, o nitrogênio inorgânico na forma de NH_3 é o dominante. As formas oxidadas do nitrogênio, nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), são pouco encontradas em águas residuárias, mas quando em concentrações elevadas podem ser tóxicos. O nitrogênio, quando é removido das águas residuárias, transforma-se em um gás inerte (N_2), compondo o ar atmosférico (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Esgotos são ricos em nutrientes, os quais descartados indevidamente são responsáveis pelo crescimento excessivo de algas, processo chamado de eutrofização. Este processo interfere nos usos desejáveis do corpo d'água, pois pode causar turbidez, por causa do excesso de microalgas, mal odor, devido à geração de gás sulfídrico, e depleção do oxigênio dissolvido no ambiente aquático, resultado da falta de oxigênio consumido por bactérias heterotróficas (PEREIRA-RAMIREZ et al., 2003; VON SPERLING, 2005).

Outras consequências da poluição por nitrogênio são devidas à toxicidade da amônia em sua forma livre (NH_3) para os peixes e organismos aquáticos. O nitrito pode ser oxidado a nitrato, o qual, em excesso, pode ser letal a alguns organismos aquáticos e representar riscos para a saúde humana, causando doenças como a metahemoglobinemia. (CAMARGO e ALONSO, 2006; ROMANO e ZHENG, 2013). Efluentes ricos em macronutrientes, como o

nitrogênio, acarretam dificuldade e elevação dos custos do tratamento de esgoto, dificultando a autodepuração do corpo d'água (METCALF & EDDY, 2003; PEREIRA-RAMIREZ, 2003).

Compostos nitrogenados podem ser removidos das águas residuárias por processos físico-químicos e biológicos. A remoção biológica é a alternativa mais eficaz e relativamente mais econômica, portanto, tem sido amplamente utilizada (AHN, 2006).

2.2 PROCESSOS DE REMOÇÃO DE NITROGÊNIO

2.2.1 Processo Convencional: Nitrificação E Desnitrificação

A remoção biológica convencional do nitrogênio envolve duas etapas sucessivas: nitrificação e desnitrificação. Na nitrificação a amônia é oxidada a nitrato, sob condições aeróbias, em seguida, na desnitrificação, esses compostos são convertidos a gás nitrogênio, sem a presença de oxigênio livre. (HIBIYA, 2003). Na Figura 1 estão apresentadas as transformações microbianas de nitrogênio, os processos oxidativo e redutores são mostrados pelas setas azuis e vermelhas, respectivamente.

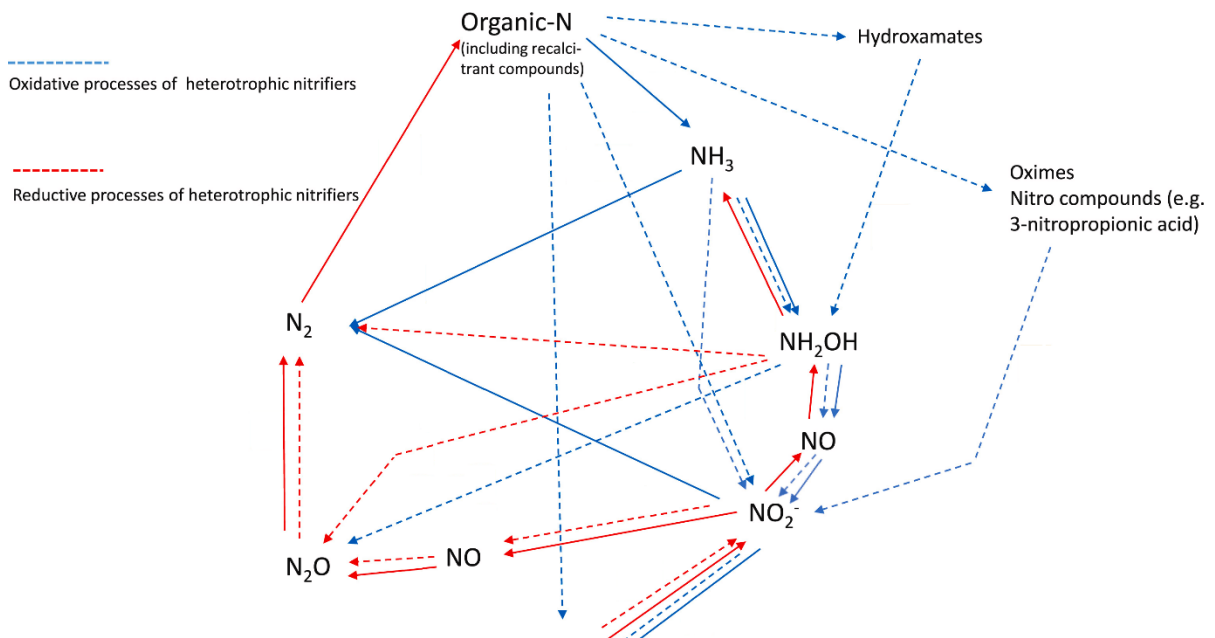


Figura 1 – Transformações bioquímicas do nitrogênio (adaptado de MARTIKAINEN, 2022).

A nitrificação é um processo estritamente aeróbio, realizado por procariontes quimioautotróficos, ou seja, a energia para o crescimento celular é derivada da oxidação dos compostos nitrogenados, principalmente a amônia. O processo é dividido em duas etapas: na primeira etapa, a nitrificação, ocorre a reação em que a amônia é oxidada a nitrito (Equação 2);

na segunda etapa, a nitratação, acontece a oxidação do nitrito a nitrato (Equação 3) (METCALF & EDDY, 2003).

As bactérias que realizam a nitratação, também chamadas de bactérias oxidantes de amônia são representadas pelo gênero *Nitrosomonas*, mas outros gêneros também podem realizar este processo como *Nitrosococcus*, *Nitrosopira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus*. Na nitratação, bactérias nitrito oxidantes como *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrocystis* estão envolvidas, porém o principal gênero conhecido é o *Nitrobacter* (AHN, 2006; DINÇER e KARGI, 2000).



A segunda etapa do processo de remoção biológica de nitrogênio é a desnitrificação. É um processo anóxico, que consiste na redução de nitrito e/ou nitrato a gás nitrogênio, realizado por microrganismos heterotróficos, que utilizam os óxidos de nitrogênio ao invés do oxigênio como receptor de elétrons e a matéria orgânica como fonte de carbono e energia (AHN, 2006). Em alguns casos, a matéria orgânica presente no efluente pode ser uma fonte de carbono endógena, em outras situações, é necessária uma fonte exógena, como metanol, etanol, lactato e glucose (RITTMANN e MCCARTY, 2001).

No processo de desnitrificação ocorrem as reações descritas equações 4 e 5 (NOCKO, 2008):



As bactérias desnitrificantes estão inseridas no grupo das bactérias Gram-negativas, classes alpha e beta das Proteobactérias, onde os gêneros conhecidos são *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus* e *Thiobacillus*. Existem outras bactérias que também são capazes de realizar a desnitrificação, dentre essas, algumas bactérias Gram-positivas (como *Bacillus*) e algumas Arquéias halofílicas (como *Halobacterium*) (AHN, 2006).

A nitrificação e desnitrificação são geralmente realizadas em diferentes reatores devido às condições específicas de cada processo, a nitrificação ocorre em condições aeróbias enquanto

a desnitrificação na ausência de oxigênio (HIBIYA, 2003). Este sistema necessita diferentes sequências de operação e uma ampla área de instalação para suportar dois reatores, assim como demanda alto custo e gasto de energia (MORITA, 2008).

Uma questão sobre estes processos é a liberação de óxidos nitrosos para atmosfera. Esses gases são formados quando ocorre a reação de N_2 ou NO com o oxigênio atmosférico (SMITH e DOE, 2015). Nas reações de nitrificação e desnitrificação para remoção de nitrogênio em esgotos podem ser esperadas emissões destes compostos. Estes gases podem impactar no efeito estufa, contribuindo com o aquecimento global e destruição da camada de ozônio, e, em altas concentrações, podem ser tóxicos para humanos e animais (LEE et al., 2006; KAMPSCHREUR et al., 2008; KAMPSCHREUR et al., 2011). (LEE et al., 2006; KAMPSCHREUR et al., 2008; KAMPSCHREUR et al., 2011). Segundo Carmona e Auer (2004) a exposição a concentrações de até 100 ppm de óxido nitroso não causam problemas clínicos, mas a inalação de concentrações mais elevadas pode causar meta-hemoglobinemia, lesão pulmonar e asfíxia.

2.2.2 Fatores que Interferem nos Processos de Nitrificação e Desnitrificação

Temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) são alguns dos parâmetros que influenciam o processo de nitrificação. A faixa ótima de pH para a nitrificação é de 7,5 a 8,0, e sua taxa pode cair significativamente se o pH for estiver abaixo de 7,0. Determina-se esta faixa ótima de acordo com os efeitos que o pH pode exercer sobre o processo de nitrificação: ativação e desativação das bactérias nitrificantes, ou seja, redução ou aumento de atividade. Assim em pH muito baixo ou muito alto diminui sua atividade (VILLAVARDE et al., 1997).

Para ocorrer a etapa de nitrificação há uma demanda de oxigênio de 4,57 $mgO_2/mg NH_4$, sendo 3,43 $mgO_2/mgNH_4$ para a nitritação e de 1,14 $mgO_2/mgNO_2$ para nitratação. Essas reações liberam íon H^+ no meio. Para evitar uma queda do pH e consequente, ineficiência da nitrificação que pode ocorrer devido a inibição enzimática, competição dos íons H^+ com os íons de nitrogênio (NH_4^+ e NO_2^-) e pela toxicidade do excesso de íons H^+ para as bactérias nitrificantes (METCALF & EDDY, 2003; MITCHEL & GU, 2009).

Portanto, deve-se assegurar a presença de bicarbonato no meio, o qual também servirá como fonte de carbono para as bactérias envolvidas. Deve-se manter alcalinidade de 7,14 mg de $CaCO_3$ ou 8,64 mg de H_2CO_3 por mg de nitrogênio amoniacal oxidado. Desta forma pode-se suprir a alcalinidade necessária para a nitrificação com a adição de substâncias alcalinas,

como bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio, carbonato de sódio, entre outros sais (SANT'ANNA JUNIOR, 2010; METCALF & EDDY, 2014).

A taxa de nitrificação diminui com a queda de temperatura, desta forma, a temperatura ótima estabelecida é entre 25° C a 35°. As temperaturas abaixo de 15°C influenciam as atividades metabólicas de bactérias nitrificantes (LIU et al., 2010).

A nitrificação é um processo aeróbio, o que significa que as bactérias nitrificantes requerem oxigênio para realizar as reações. Os valores de OD para o qual a nitrificação é limitada podem ser de 0,5 a 2,5 mg L⁻¹, então para que não tenha redução na taxa de nitrificação, determina-se que OD apresente valores superiores a 2,0 mg L⁻¹ (AHN, 2006; METCALF & EDDY, 2003; FERREIRA, 2000). Baixas concentrações de OD afetam mais significativamente as velocidades de crescimento dos microrganismos responsáveis pela oxidação do nitrito do que daqueles que oxidam a amônia. E concentração de OD excessivamente altas podem resultar em competição entre as bactérias nitrificantes e outros microrganismos aeróbios por oxigênio (KHANONGNUCH et al., 2019; SUAREZ et al., 2019).

A amônia, quando em altas concentrações, pode inibir o processo de remoção de nitrogênio, afetando a nitrificação. A concentração de amônia ionizada é inibitória para as *Nitrosomonas sp.*, responsável pela nitrificação, assim como para as *Nitrobacter sp.*, responsáveis pela nitratação. A amônia livre inibe a produção catabólica de energia pelas *Nitrobacter sp.* devido seu grau de toxicidade. Também pode reduzir a atividade respiratória e crescimento bacteriano (VADIVELU, 2007). Além da amônia, altas concentrações de nitrito também podem inibir o processo de nitrificação, pois o nitrito em concentrações elevadas é tóxico para as bactérias nitrificantes e este possui maior afinidade pelo oxigênio do que a amônia, priorizando as bactérias oxidantes de nitrito e diminuindo a ação das oxidantes de amônia, o que resulta em uma desaceleração da nitrificação (LEE et al., 2006).

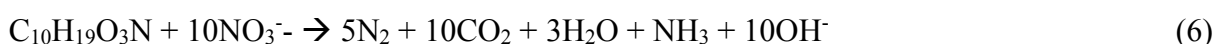
Assim como na nitrificação, alguns parâmetros podem afetar o processo de desnitrificação. Fatores como pH, temperatura, concentração de OD e as fontes exógenas de energia interferem na velocidade de desnitrificação. A concentração de oxigênio dissolvido é um fator importantíssimo para o controle do processo, já que as bactérias desnitrificantes são anaeróbias facultativas e a desnitrificação deve ocorrer em ambiente anóxico. A inibição da desnitrificação inicia-se com valores superiores a 1 mg L⁻¹ de OD, portanto é necessário que haja condições menores que 1,0 mg de OD.L⁻¹. Quando o OD é elevado, as bactérias desnitrificantes preferem usar o oxigênio como aceptor de elétrons em vez do nitrato. A temperatura ótima varia de 15°C a 40°C, temperaturas abaixo de 15°C a desnitrificação pode

ser inibida, ou até mesmo interrompida, porque as reações químicas e a atividade bacteriana tornam-se muito lentas (METCALF & EDDY, 2003; FERREIRA, 2000).

Durante a desnitrificação ocorre aumento da alcalinidade. De acordo com a estequiometria teórica, visualizada nas equações 4 e 5, 3,57 mg CaCO₃ de alcalinidade são produzidos por mg de nitrato reduzidos a nitrogênio gasoso. Verifica-se que desnitrificação reverte parcialmente os efeitos da nitrificação, ou seja, há uma recuperação de 50% da alcalinidade consumida pela nitrificação e, conseqüentemente, a elevação do pH do meio. O pH deve-se manter entre 6,5 a 8,0, o qual é o intervalo ótimo para maior eficiência deste processo (FERREIRA, 2000; SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Outro parâmetro importante para o processo da desnitrificação é a relação C/N (carbono/nitrogênio). O valor mais adequado para esta razão depende de qual fonte externa de carbono será adicionado. As Equações (6), (7) e (8) apresentam as reações de desnitrificação utilizando três doadores de elétrons diferentes para redução de nitrato (METCALF & EDDY, 2016).

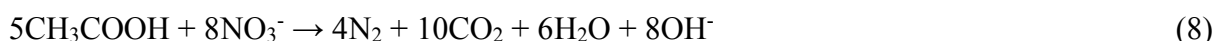
Esgoto:



Metanol:



Ácido acético:



Segundo Tan et al. (2021), são necessários 2,86 mg DQO.L⁻¹ para converter 1 mg N-NO₃.L⁻¹ para N₂. Pouca quantidade de matéria orgânica disponível no meio provoca acúmulo de nitrito, desfavorecendo o processo, ou seja, baixas razões da relação C/N levar a desnitrificação incompleta. Porém, para se determinar o valor mais adequado de C/N, cada processo deve ser analisado individualmente, pois dependem de diversos fatores.

Her e Huang (1995) estudaram diferentes tipos de fontes de carbono para a desnitrificação, como metanol, ácido acético, glucose e ácido benzóico, e verificaram que compostos com maiores massas moleculares resultaram em menores valores de C/N para se ter uma eficiente desnitrificação.

Zhu et al. (2014) realizaram um estudo para avaliar o efeito da relação C/N na remoção de nitrogênio e DQO. Os autores trabalharam com wetlands construídas e utilizaram esgoto sintético com diferentes relações C/N, que variou de 1 a 7. Verificaram que um aumento da relação C/N resultou em um aumento na eficiência de remoção de NT e N-NO₃. A eficiência de remoção de DQO aumentou quando as concentrações de DQO afluente foram mais elevadas. Concluíram que a relação C/N igual a 5 afetou significativamente a remoção de nitrogênio em DQO.

Machat et al. (2019) avaliaram os efeitos da concentração de OD e a relação C/N na remoção biológica de carbono e nitrogênio usando um reator integrado de lodo ativado de biofilme fixo (IFAS). Os autores apresentaram os melhores resultados de remoção de NT e de nitrogênio amoniacal (96,54% e 86,1%) nas maiores razões C/N, valores próximos a 10. Por outro lado, quando a relação C/N foi menor que 4, a taxa de remoção caiu significativamente.

2.2.3 Nitrificação e Desnitrificação Simultânea (NDS)

A nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) é um processo em que a nitrificação e desnitrificação ocorrem em um único reator sob as mesmas condições operacionais (YOO, 1998). Neste processo, simultaneamente à oxidação, acontece a redução da matéria nitrogenada, com conseqüente diminuição da demanda de oxigênio. A NDS ocorre em concentrações de oxigênio dissolvido de 0,3 a 0,8 mg L⁻¹, além disso, a nitrificação e a desnitrificação simultâneas são resultantes de um fenômeno físico relacionado à difusão de oxigênio nos flocos ou no biofilme (ZHANG e ZHOU, 2007).

Os processos de nitrificação e desnitrificação são complementares: a nitrificação gera como produto nitrito e/ou nitrato, que, por sua vez, são reagentes da reação de desnitrificação. A alcalinidade consumida na nitrificação (7,14 mg de CaCO₃/mg NH₄) é recuperada (3,57 mg CaCO₃/mg NH₄) pelo processo de desnitrificação, dessa maneira ocorre a manutenção do pH na faixa ótima para as bactérias nitrificantes se desenvolverem, de 7,5 a 8,0 (HIBIYA, 2003; YOO, 1998).

Segundo Munch (1996), o processo de NDS pode ser explicado por fenômenos físicos e biológicos. A explicação física mais convencional é que as bactérias se organizam de acordo com a concentração do oxigênio dissolvido dentro do biofilme. As bactérias nitrificantes fixam-se nas regiões com altas concentrações de OD, portanto, nas regiões externas do biofilme, enquanto que as bactérias desnitrificantes ocupam, preferencialmente, a região interna do biofilme, com baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

Os principais fatores que podem influenciar a NDS são a disponibilidade de carbono, a concentração de oxigênio e o tamanho do floco ou espessura do biofilme (ZHANG et al., 2008).

Pochana e Keller (1999) determinaram alguns fatores que podem influenciar o processo de NDS. A presença de uma fonte de carbono é fundamental para um bom desempenho da etapa de desnitrificação, o tamanho do floco pode influenciar no processo, uma vez que se pode criar uma zona anóxica no interior do floco devido ao fenômeno de difusão do oxigênio dissolvido, gerando condições para nitrificação e desnitrificação.

Zhang e Zhou (2007) estudaram a NDS em um sistema de lodos ativados convencionais operando com baixa concentração de DQO. Verificaram uma máxima eficiência de remoção de nitrogênio (66,7%) em baixas concentrações de OD ($0,3 - 0,8 \text{ mg L}^{-1}$) e concluíram teoricamente que o processo de NDS foi controlado pelo fenômeno físico de difusão de oxigênio dissolvido no interior do floco de lodo, devido ao tamanho do floco proporcionar este ambiente.

A escolha pelo processo de nitrificação e desnitrificação simultânea oferece algumas vantagens em relação ao processo convencional como: economia de espaço, pois se utiliza um único reator, condições de operação constantes, redução de custos na operação do sistema, economia de energia e recuperação da alcalinidade (MUNCH, 1996; ACHARY, 2006). Desta forma, pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de combinar os processos de nitrificação e desnitrificação em um único reator. Sistemas que operam com biomassa imobilizada e aeração intermitente têm sido eficientes na remoção simultânea de nitrogênio e carbono (MOURA et al., 2012, BARANA et al., 2013, WOSIACK et al., 2015). A Tabela 1 apresenta o resumo de alguns estudos que utilizaram o processo NDS para otimizar a remoção de nitrogênio.

Tabela 1 – Análise comparativa do processo SND em diferentes reatores (continua)

Tipo de efluente e concentrações iniciais	Tipos dos reatores e condições dos processos	Eficiência na Remoção de Nitrogênio	Referência
Esgoto municipal NT = 80 mg.L^{-1} N-NH ₄ ⁺ = 55 mg.L^{-1}	Reator de leito estruturado auto-inoculado – TDH: 16h – aeração intermitente: 2h aer./ 1h sem-aer.	NT – 80% N-NH ₄ ⁺ -86%	Correa et al., 2018

Tabela 1 – Análise comparativa do processo SND em diferentes reatores
(conclusão)

Tipo de efluente e concentrações iniciais	Tipos dos reatores e condições dos processos	Eficiência na Remoção de Nitrogênio	Referência
Esgoto sintético NT = 51 mg.L ⁻¹ N-NH ₄ ⁺ = 31 mg.L ⁻¹	Reator de leito móvel com biofilme (MBBR) – TDH: 16-12d – aeração contínua e intermitente - ciclos oxidativo: 5h/1h, 3h/3h, 1h/5h	NT – ≤ 30%	Gu, Li e Li, 2018
Esgoto sintético N-NH ₄ ⁺ = 63–31 mg.L ⁻¹	Reator de leito móvel com biofilme (MBBR) – TDH: 2-1d - aeração contínua – variação C/N (5,6-2,7)	NT – 68%	Iannacone et al., 2018
Esgoto sanitário	Reator de leito estruturado - TDH: 8-12h – aeração intermitente:	NT-88%	Jenzura et al., 2018
Esgoto sanitário NT = 50,7–37,7 mg.L ⁻¹	Reator de leito estruturado - TDH: 8-12h – aeração intermitente: 2h aer/1h sem-aer e 3h aer/1h sem-aer.	NT – 82%	Moura et al., 2018
Esgoto sanitário NT = 61–39 mg.L ⁻¹ N-NH ₄ ⁺ = 42–26 mg.L ⁻¹	Reator de leito estruturado – TDH: 12 h – aeração intermitente – aer/sem-aer: 180/0, 90/90 e 60/120	NT – 55%	Leick et al., 2017
Esgoto sintético N-NH ₄ ⁺ = 80–215 mg.L ⁻¹	Reator de batelada sequencial com biofilme (SBBR) – TDH: 12h - variação aeração (OD: 4,5-0,35 mg.L ⁻¹)	NT – 70,2% N-NH ₄ ⁺ - 88,2%	Ma et al., 2017
Esgoto sintético N-NH ₄ ⁺ = 100 mg.L ⁻¹	Reator de batelada sequencial (SBR) – TDH: 4-16 d - aeração contínua – variações: pH, C/N e fonte de C	NT – 94,9% N-NH ₄ ⁺ - 93,6%	Masoudi et al., 2017
Esgoto sintético N- NH ₄ ⁺ = 200 mg.L ⁻¹	Reator de batelada sequencial (SBR) - TDH: 16h - aeração intermitente - variações COD/N	NT – 89,8%	Wei et al., 2014

NT = nitrogênio total, N- NH₄⁺ = nitrogênio amoniacal, TDH = tempo de detenção hidráulica.

Fonte: O próprio autor, 2023.

No processo NDS ocorrem as mesmas etapas e reações do processo convencional, desta forma apresenta algumas desvantagens semelhantes. O controle da concentração de OD é um fator importante, para que valores muito baixos (menores que 0,5 mgO₂.L⁻¹) não inibam a

nitrificação e valores muito altos (maiores que $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$) não interfiram na desnitrificação (METCALF & EDDY, 2003). Altas concentrações de amônia e de nitrito podem afetar o processo de nitrificação, pois podem inibir o crescimento e desenvolvimento das bactérias nitrificantes (LEE et al., 2006; VADIVELU, 2007).

Na etapa de nitrificação ocorre a oxidação da amônia e a liberação de íons H^+ , causando uma queda no pH do meio. Para esta reação ser estável é necessário que a cada 1 mg de NH_4^+ oxidado esteja disponível 7,14 mg de CaCO_3 . Efluentes que não apresentem esta relação NH_4^+ /alcalinidade devem ser corrigidos (LEICK et al., 2017). O processo NDS também pode liberar óxido nitroso para atmosfera, poluentes ambientais relacionados ao efeito estufa e tóxicos em altas concentrações (KAMPSCHREUR et al., 2011).

2.2.4. Outros Processos para Remoção de Nitrogênio

O processo ANAMMOX foi inicialmente descrito por Van de Graaf et al. (1996) e Strous et al. (1999), eles reportaram um grupo de microrganismos de crescimento muito lento, responsável pelo processo de oxidação anaeróbia da amônia, com grande potencial na remoção de nitrogênio em efluentes. A oxidação anaeróbia da amônia, ANAMMOX, do inglês “ANAerobic AMMonium OXidation”, é um processo biológico mediado por bactérias do grupo Planctomycete, as quais realizam a oxidação da amônia, anaerobicamente, a nitrogênio gasoso (RITTMANN e MCCARTY, 2001; AHN, 2006).

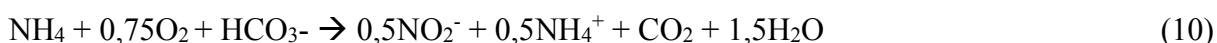
No processo ANAMMOX o nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrogênio gasoso, o nitrito atua comoceptor de elétrons, e a amônia como doadora de elétrons, sob condições anóxicas. Neste processo, amônia e nitrito são removidos simultaneamente (AHN, 2006; ZHANG et al., 2008). A Equação 9 apresenta a reação que envolve o processo ANAMMOX:



O processo ANAMMOX, quando comparado com os processos convencionais, possibilita a remoção de cargas maiores de nitrogênio. Neste processo a conversão a nitrogênio gasoso é mais eficiente, pois transforma-se dois compostos nitrogenados, amônia e nitrito, em nitrogênio gasoso. Ocorre também uma economia de energia, devido a não necessidade de um sistema de aeração (ISAKA et al., 2006; SCHEEREN et al., 2011; ZHANG et al., 2008). Bactérias ANAMMOX não necessitam de uma fonte de carbono, pois são autotróficas. A necessidade de oxigênio é para conversão de amônia a nitrito, etapa necessária para a que

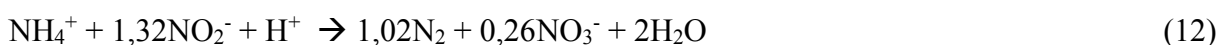
atividade ANAMMOX ocorra. Este processo apresenta-se vantajoso devido à baixa produção de lodo excedente (KARTAL et al., 2010; DU et al., 2015).

Outro processo que pode ocorrer é no qual acontece apenas a nitrificação parcial, na qual o nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrito, ou seja, somente a etapa de nitrificação ocorre. Como este processo de nitrificação parcial é limitado a nitrito em vez de nitrato, ocorre uma redução no gasto energético e na emissão de CO₂. Em torno de 25% do consumo de energia é reduzido, devido à diminuição do consumo de oxigênio, já que o nitrito não é oxidado a nitrato; e em geral menos de 20% de CO₂ é emitido (MULDER, et al., 2006.) A estequiometria do processo é dada pela Equação 10 (SHALINI e JOSEPH, 2012):



O processo de oxidação da amônia libera íons H⁺, que pode reduzir o pH, portanto, o controle deste parâmetro é bastante importante para não haver inibição do processo. Quando o pH diminui muito, abaixo de 7, a concentração de amônia livre torna-se baixa para o crescimento suficiente das bactérias oxidantes de amônia. Com valores de pH acima de 8 a nitrificação também declina, pois o nitrogênio na forma de NH₃ é aparentemente tóxico para as bactérias oxidantes de nitrito neste processo. Em relação à concentração de oxigênio dissolvido, sabe-se que as bactérias que oxidam o nitrito apresentam uma menor afinidade pelo oxigênio, portanto, uma baixa concentração de OD torna-se restritiva para o crescimento deste grupo de bactéria (HELLINGA et al., 1998; KHIN e ANNACHHATRE, 2004).

Processo de desamonificação, no qual pode ocorrer a remoção de nitrogênio sem o consumo de carbono orgânico. Este processo oferece uma alternativa para a remoção de nitrogênio em águas residuárias com baixa carga orgânica (ZHANG et al., 2013). Neste processo, amônia é primeiramente oxidada em nitrito por bactérias aeróbias, em seguida, o nitrito e amônia restante são convertidos em gás nitrogênio por bactérias anaeróbias, demonstrado pelas equações 11 e 12 (NIELSEN et al., 2005; ZHANG et al., 2013):



Este processo é completamente autotrófico, ou seja, não há demanda de uma fonte exógena para obtenção de energia, diferente da etapa de desnitrificação heterotrófica nos

sistemas tradicionais. Além disso, neste processo, a remoção de nitrogênio pode ser alcançada em um único reator, com baixa aeração, reduzindo significativamente os requisitos de espaço e energia (THIRD et al., 2001). As condições de oxigênio devem ser limitadas para este processo, a taxa de saturação no interior do reator não deve ultrapassar 0,5% de saturação, desta forma uma co-cultura de bactérias aeróbias pode ser estabelecida (KHIN e ANNACHHATRE, 2004).

As bactérias autotróficas realizam a nitrificação parcial, oxidam a amônia e produzem nitrito, consumindo todo o oxigênio e promovendo um ambiente anóxico. Desta forma as condições do reator são ótimas para o desenvolvimento das bactérias ANAMMOX, ocorrendo os dois processos pode-se ter a remoção total de nitrogênio sem a adição de fonte de carbono. O processo baseia-se numa interação estável entre microrganismos autotróficos aeróbios do gênero *Nitrosomonas*, e os microrganismos anaeróbios do gênero *Planctomycete*, sob baixas concentrações de oxigênio. (SANT'ANNA JUNIOR, 2010; THIRD et al., 2001).

2.3 REMOÇÃO BIOLÓGICA DA MATÉRIA ORGÂNICA

Microrganismos obtêm energia para seu crescimento e sobrevivência realizando reações de óxido-redução. Essas reações geralmente envolvem sempre um doador e um receptor de elétrons. O doador de elétrons é o substrato que fornece energia para os microrganismos, assim, o doador de elétrons mais empregado é a matéria orgânica, e o principal receptor de elétrons é o oxigênio (RITTMAN e MCCARTY, 2001). A reação da oxidação aeróbia está apresentada na Equação 13:



A quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente a matéria orgânica, transformando-a em gás carbônico e água, é determinada através da variável DQO. A redução de grande parte da DQO acontece em processos biológicos aeróbios, anaeróbios e anóxicos (SANTOS, 2004).

2.3.1 Processo Aeróbio

Em processos aeróbios, para ocorrer a oxidação da matéria orgânica, são necessários poucos elétrons doadores a fim de gerar energia suficiente para sintetizar uma quantidade determinada de biomassa. Portanto os microrganismos aeróbios apresentam um maior rendimento em relação aos anaeróbios. Porém, nem todos os microrganismos podem utilizar o

oxigênio como receptor de elétrons, esses microrganismos, majoritariamente anaeróbios, são incapazes de competir com os aeróbios na presença de oxigênio. Mas quando o oxigênio está indisponível no meio, são os microrganismos anaeróbios os dominantes (RITTMAN e MCCARTY, 2001).

O processo aeróbio consiste em três etapas: oxidação, síntese e auto-oxidação (endogenia) (SANTOS, 2004).

Os microrganismos aeróbios presentes em um ambiente que contenha uma fonte de material orgânico irão degradar e remover este material. Parte da matéria orgânica é oxidada em dióxido de carbono e água, proporcionando energia para o metabolismo e a manutenção das funções vitais dos microrganismos (oxidação). A outra fração da matéria orgânica é utilizada para a síntese de novos microrganismos, resultando em um aumento de biomassa (síntese). Quando a fonte externa de matéria orgânica é esgotada, os microrganismos iniciam a respiração endógena, na qual o material celular é oxidado, com a finalidade de atender a demanda energética metabólica para que não ocorra a morte dos microrganismos (auto-oxidação ou endogenia).

Se as condições de endogenia são mantidas durante um período prolongado de tempo, a quantidade de biomassa irá reduzir consideravelmente e o material restante apresentará um baixo consumo de energia, podendo então, ser considerado biologicamente estável e adequado para eliminação no ambiente (ZUPANCIC e ROS, 2008).

A demanda de oxigênio para o processo aeróbio é bastante elevada, e depende de condições como a temperatura do sistema e tempo de retenção dos sólidos (METCALF & EDDY, 2003). Sistemas aeróbios também acarretam alto custo, alto consumo de energia e a utilização de equipamentos específicos para sua operação. Porém a eficiência na conversão de matéria orgânica é alta (SANTOS, 2004).

2.3.2 Processo Anaeróbio

A decomposição da matéria orgânica na ausência de oxigênio é denominada de digestão anaeróbia. Um processo natural, no qual os compostos orgânicos são transformados em outros compostos mais simples, resultando como produto uma mistura de gases, constituída principalmente de metano e dióxido de carbono (NOGUEIRA, 1992).

O processo de digestão anaeróbia é descrito em quatro fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (METCALF & EDDY, 2003).

Na hidrólise, a matéria orgânica, proteínas, lipídeos e carboidratos, são convertidos a compostos mais simples. Essa degradação ocorre pela ação das exoenzimas das bactérias hidrolíticas. Na fase da acidogênese ocorre a transformação dos produtos da hidrólise em ácidos orgânicos simples, gás carbônico e hidrogênio, através da ação de bactérias acidogênicas. Em seguida, na acetogênese, as bactérias acetogênicas convertem os produtos formados na fase anterior em hidrogênio, dióxido de carbono e acetato. Na fase final, a metanogênese caracteriza-se pela produção de metano e dióxido de carbono. As arqueas metanogênicas acetoclásticas formam metano a partir do ácido acético e as hidrogenotróficas utilizam hidrogênio e dióxido de carbono na formação de metano (CHERNICHARO, 2007).

Sistemas anaeróbios, quando comparado a sistemas aeróbios convencionais, apresentam custos capitais e operacionais mais baixos, requerem menos energia e suportam altas cargas orgânicas. Em contrapartida, microrganismos anaeróbios apresentam uma lenta taxa de crescimento e a necessidade de longos períodos de retenção hidráulica (CHAN, 2009).

Efluentes industriais com elevado teor de matéria orgânica são preferencialmente tratados em um reator anaeróbio devido ao elevado nível de DQO e a baixa produção de lodo excedente (CHAN, 2009; SANTOS, 2004).

Sistemas aeróbios são adequados para o tratamento de efluentes com baixa carga orgânica, DQO menor que 1000 mg L⁻¹ (CHAN, 2009). O uso combinado de reatores anaeróbios e aeróbios e/ou operações sob aeração intermitente são grandes potenciais para o pós-tratamento de águas residuárias, não somente na eficiência da remoção de matéria orgânica, como também na remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo

2.3 REATORES DE BIOMASSA IMOBILIZADA

O tratamento biológico em reatores pode ser dividido em reatores que possuem crescimento de biomassa em suspensão na massa líquida ou de biomassa aderida. Em reatores de crescimento suspenso não existe suporte para a fixação dos microrganismos, estes podem crescer em flocos na massa líquida. Já no sistema fixo, são formados biofilmes aderidos a suportes inertes, e este é tido como mais vantajoso comparado ao primeiro por que o choque de carga é menor e evita que a população bacteriana seja descartada junto ao efluente (VON SPERLING, 1996; CHEN et al., 2006).

Segundo Chen et al. (2006), a adaptação das bactérias no biofilme está associada a fatores que afetam a bioquímica do processo, o fornecimento de nutrientes para o biofilme e

que causam impacto sobre o crescimento e fontes de nutrientes, como a competição por nutrientes essenciais.

Microrganismos nitrificantes apresentam um crescimento lento, assim, um material suporte facilita o acúmulo desses dentro do reator e aumenta o tempo de retenção celular. Com o aumento populacional microbiano no interior do reator, aumenta-se a eficiência de remoção de nitrogênio, podendo-se utilizar reatores de menores dimensões (ROSTRON et al., 2001). De acordo com Wijffels e Tramper (1995), a difusividade de oxigênio no interior de um biofilme fixo em um meio de apoio pode promover a integração de nitrificação e desnitrificação, pois não há OD nas camadas internas do biofilme, favorecendo desnitrificação no interior do biofilme.

As bactérias heterotróficas responsáveis pela remoção de matéria orgânica e as autotróficas nitrificantes competem por oxigênio, nutrientes e espaço em processos utilizando biofilmes fixos. As bactérias heterotróficas possuem uma velocidade de crescimento maior que as autotróficas nitrificantes, estas podem ser inibidas devido a competição pela elevada concentração de matéria orgânica no meio (IANNACONE et al., 2019; KHANONGNUCH et al., 2019). Uma relação C/N adequada pode desfavorecer o crescimento de bactérias heterotróficas, tornando as autotróficas nitrificantes mais competitivas no meio (ZHU E CHEN, 2001). Os autores observaram que quando maior a relação C/N, ocorre uma queda na taxa de remoção de nitrogênio. Desta forma, a taxa de nitrificação diminuiu com o aumento da concentração orgânica, podendo ser benéfico uma inicial remoção de matéria orgânica para melhorar a nitrificação.

As características dos materiais para imobilização podem ter uma influência significativa sobre o tratamento biológico. Alguns dos meios de suporte usados em filtros anaeróbios são normalmente: pedra brita, anéis de plástico, elementos cerâmicos, elementos de madeira, cilindros de plásticos e esferas perfuradas ou gomos de bambu (CHERNICHARO, 2016; CAMPOS et al., 2008).

Garcia et al. (2008) realizaram um estudo para avaliar o efeito de diferentes materiais para imobilização da biomassa, dos materiais estudados, a espuma de poliuretano foi o melhor material para imobilização devido ao desempenho do reator, análise cinética e na eficiência de remoção de sólidos e DQO. A espuma de poliuretano também apresentou um período de adaptação da biomassa mais rápido quando comparada aos outros materiais.

Dentre as alternativas para imobilização de biomassa, biorreatores usando espuma de poliuretano têm chamado atenção, devido à sua capacidade de remoção simultânea de matéria orgânica e nitrogênio de águas residuárias (BARANA et al., 2013; SANTOS et al., 2015;

WOSIACK et al., 2015; MOURA et al., 2012; JENZURA, 2017; WENDLING, 2017; LEICK, 2016; OLIVEIRA, 2020).

2.3.1 REATORES DE LEITO FIXO ORDENADO

A utilização de reatores com biomassa aderida a um material suporte possibilitam um maior tempo de retenção celular, mesmo em sistemas com TDH baixos, dessa forma os reatores apresentam maior estabilidade e melhor desempenho (SARTI et al., 2001). Diferentes configurações e condições operacionais vem sendo estudadas para aprimorar a eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio em sistemas de tratamento de efluentes.

Moura et al. (2012) operaram um reator de leito ordenado com alimentação contínua para avaliar a remoção de nitrogênio total e matéria orgânica de efluente sintético. O reator foi preenchido com cilindros de espuma de poliuretano como meio suporte e operado com aeração intermitentemente com ciclos de aeração de 2 horas seguidos de 1 hora sem aeração, e recirculação do efluente com taxa de 5 vezes a vazão de alimentação. No TDH de 12 horas o reator apresentou 82% de remoção do nitrogênio total e 89% de matéria orgânica.

Barana et al. (2013) operaram um reator, com as mesmas características do utilizado por Moura et al. (2012), no pós tratamento de efluente de reator UASB tratando água residuárias de abatedouro de aves. A alimentação do reator foi contínua (TDH de 24h) e a taxa de recirculação do efluente foi de 6 vezes a vazão de alimentação. Durante a operação foram variados os tempos de aeração e avaliada a eficiência de remoções de nitrogênio e matéria orgânica no reator, a melhor eficiência operacional foi verificada em ciclo de 3 horas, sendo 1 hora aerando e 2 h sem aeração, o qual proporcionou eficiência de remoção de nitrogênio total de 62%, matéria orgânica de 95% e de nitrificação superior a 90%.

Correa et al. (2018) avaliaram a remoção conjunta de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal em um reator de fluxo contínuo com leito estruturado em espuma de poliuretano, aeração intermitente e recirculação do efluente. O TDH do reator foi de 16 horas e a alimentação com esgoto sanitário bruto proveniente da estação de tratamento de esgoto sanitário – ETE Norte da cidade de Londrina. O estudo obteve eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio total de 90% e 68%, respectivamente.

Jenzura et al. (2018) operaram um reator com características similares ao utilizado por Barana et al. (2013), e avaliaram a eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio para mistura de 50% efluente sanitário bruto e 50% efluente tratado em UASB da estação de tratamento de esgoto sanitário - ETE Verde da cidade de Ponta Grossa. A taxa de recirculação

foi fixada em duas vezes a vazão de alimentação e variou-se o tempo de aeração/não aeração e o tempo de detenção hidráulica (12 h, 10 h e 8 h). A pesquisa apresentou significativo resultado quanto à remoção de matéria orgânica e nitrogenada, obtendo 92% e 88%, respectivamente, em TDH de 8 horas.

2.3.2 REATORES DE LEITO FIXO EMPACOTADO

Reatores de leito empacotado são formados por um meio suporte para o desenvolvimento da biomassa distribuídos de maneira aleatória. Podem apresentar fluxo ascendente ou descendente, sendo que o fluxo ascendente é comumente mais utilizado devido à sua facilidade operacional. Os filtros anaeróbios são um exemplo da aplicabilidade desta configuração de reator (SILVA et al., 2018; CHERNICHARO, 2016; DUARTE, 2018).

Os reatores com biomassa empacotada apresentam alta aplicabilidade e eficiência na remoção de nitrogênio, devido ao aumentando o tempo de retenção celular, propiciando um maior crescimento e acúmulo de microrganismos nitrificantes. Esse acúmulo de microrganismos no interior do reator propicia uma maior eficiência de remoção de nitrogênio, menor impacto a cargas de choque e menor alteração de temperaturas em compartimentos com menor dimensão (ROSTRON et al., 2001; MOURA et al., 2018).

Polak (2018) estudou um reator piloto (5,65 m³ de volume total, 1,5 m de altura de 3,2 m de altura) de leito empacotado com aeração intermitente, o leito era composto por estruturas chamada de Biobob®, utilizadas como suporte para adesão e fixação da biomassa. O reator foi operado nos TDHs de 12 horas e de 10 horas e taxa de recirculação 2 vezes a vazão. O reator foi alimentado por uma mistura de esgoto bruto e de efluente do UASB na proporção de 1:1. Nessas condições, os melhores resultados obtidos foram eficiência de 75% na redução de DQO e as taxas de remoção de NT foram entre 51-65%.

O mesmo reator também foi objeto de estudo de Oliveira (2020), que utilizou TDH de 10 horas e avaliou três condições diferentes de aeração: aeração contínua, 120 min aerando/60 min sem aeração e 60 min aerando/120 min sem aeração, sob TDH de 10 horas. O autor obteve eficiência de remoção de NT entre 61 a 81% e redução de DQO entre 73 e 87%.

Os reatores de leito empacotado, embora apresentem diversas vantagens, possuem pontos importantes a serem consideradas. Uma limitação significativa está relacionada à possibilidade de compactação do leito, o que pode resultar em uma diminuição da eficiência do reator ao longo do tempo (BHATIA et al., 2014). A heterogeneidade do fluxo através do leito

empacotado é outra desvantagem potencial, podendo levar a gradientes de concentração e redução da eficiência da transferência de massa (RASE & DENNEY, 2017).

Sistemas que operam com biomassa imobilizada em poliuretano e aeração intermitente tem sido uma opção para remoção de nitrogênio e matéria orgânica, em um único reator.

2.4 ECOTOXICIDADE EM ESGOTO SANITÁRIO

O esgoto sanitário pode conter uma variedade de poluentes tóxicos, dentre os agentes poluidores encontram-se elevadas concentrações de nutrientes, diversos patógenos, químicos, disruptores endócrinos, metais pesados e fármacos (WEAR et al., 2021). Alguns desses agentes poluentes apresentam características genotóxicas e mutagênicas, capazes de causar danos no DNA, causando prejuízos aos seres vivos expostos a esse tipo de poluição, incluindo a espécie humana, desencadeando problemas de saúde e podendo causar alterações hereditárias (GOLDONI et al., 2014; IQBAL et al., 2019).

Os ensaios de ecotoxicidade são importantes ferramentas para avaliar o potencial impacto dos efluentes no ambiente aquático e na vida selvagem. Esses ensaios envolvem a exposição de organismos representativos a diferentes concentrações de efluente de esgoto e a monitorização dos efeitos adversos em seus sistemas biológicos (MORALES, 2004). Nunes et al. (2017) demonstraram a eficácia desses ensaios ao identificar os efeitos tóxicos do esgoto, como a redução da taxa de crescimento e reprodução de organismos aquáticos.

Os testes de toxicidade utilizando *Allium cepa*, popularmente conhecida como cebola, são amplamente utilizados como uma ferramenta eficaz para avaliar a toxicidade de substâncias químicas e efluentes em estudos de ecotoxicologia. Nesses testes, as raízes das cebolas são expostas a diferentes concentrações de amostras a serem testadas e os efeitos tóxicos são observados com base em parâmetros como inibição do crescimento radicular, alterações morfológicas e danos no DNA (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Mishra e Srivastava (2019), demonstraram que a sensibilidade e a resposta rápida do *Allium cepa* a diferentes agentes tóxicos, o torna uma ótima opção para avaliar a toxicidade de compostos químicos em diversas áreas, incluindo estudos com esgoto. Testes utilizando *Allium cepa* oferecem uma abordagem simples, econômica e altamente sensível para a avaliação dos efeitos tóxicos de substâncias químicas e efluentes em organismos vivos (SRIVASTAVA e SRIVASTAVA, 2012). Os testes com o bulbo são utilizados devido ao fácil manuseio e por apresentar cromossomos grandes, facilitando a visualização e identificação das fases da divisão celular sensíveis quanto a toxicidade do meio (SILVA, 2021).

Os ensaios de ecotoxicidade em esgoto também podem ser utilizados para avaliar a eficácia de processos de tratamento de esgoto na remoção de compostos tóxicos. Correa et al. (2015) mostraram que o tratamento com processos avançados, como a ozonização, pode reduzir significativamente a toxicidade de efluentes de esgoto, fornecendo informações importantes para aprimorar os sistemas de tratamento existentes.

Kassa (2020) avaliou esgoto municipal não tratado e lançado em um córrego, e as amostras foram coletadas em diferentes trechos do córrego. Foram analisados a citotoxicidade (no número de raízes, comprimento da raiz, índice mitótico) e genotoxicidade (aberrações cromossômicas) em testes de *Allium cepa*, realizando diferentes diluições do esgoto. Na diluição máxima (100 mL) o índice mitótico (IM) foi reduzido para 1,80 de 12,59, em comparação ao controle negativo realizado com água.

Silva (2021) avaliou a eficácia na redução da toxicidade, realizando ensaios com *Allium cepa*, ETEs, uma com reator e filtros anaeróbios e outra de lodos ativados. A autora constatou-se que os afluentes de ambas as ETEs apresentaram indicativos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, mas com o tratamento os efluentes não apresentam toxicidade. Os efluentes das ETEs apresentaram IM de 11,5% e aberrações cromossômicas em torno de 0,3%, resultados estatisticamente iguais ao tratamento controle feito com água, demonstrando que o tratamento foi eficiente para diminuir a toxicidade do esgoto.

2.5 ANÁLISE METATAXONÔMICA PARA IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS REMOVEDORAS DE NITROGÊNIO

Para entender melhor quais processos bioquímicos estão ocorrendo na remoção de nitrogênio em diferentes processos e tipos de reatores, trabalhos recentes têm complementado seus resultados com a análise molecular. (MOURA et al., 2018; GU et al., 2018; CUI, KIM E KIM, 2018). A partir desta análise criteriosa diferentes grupos de bactérias presentes no meio podem ser identificadas, quantificadas e assim, correlacionar a presença de alguns gêneros com os resultados analíticos encontrados nos reatores.

A análise e identificação microbiana em ambientes naturais pode ser complexa devido à alta população bacteriana. Métodos de cultivo microbiano não são indicados pois não detectam todas as bactérias presentes no meio, portanto métodos baseados na biologia molecular são os mais indicados e mais aplicados (BRAMUCCI et al., 2003; CALDERÓN et al., 2011; GÓMEZ-SILVÁN et al., 2010).

Alguns dos métodos utilizados para identificação de bactérias removedoras de nitrogênio são: reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificar o gene 16S rRNA (GONZALEZ-MARTINEZ et al., 2011; GONZALEZ-MARTINEZ, 2013; GU et al., 2018; MOURA et al., 2018;), PCR da região V3-4 do gene 16S rRNA (HIEN et al., 2017; MA et al., 2017), Hibridização in situ por fluorescência- FISH (ZHANG et al., 2013; FIGUEROA et al., 2012; VASQUEZ-PADIN et al., 2010)

Trabalhos que avaliaram o processo NDS e realizaram a análise molecular identificaram diferentes grupos de bactérias. Gu et al. (2018) avaliaram a microbiota atuante em MBBR sob aeração intermitente, identificaram que em condições de aeração os gêneros *Sphaerotilus* e *Verrucomicrobium*, ambos aeróbios e heterotróficos, foram os mais abundantes. Os gêneros *Nitrosomonas* e *Devosia* foram importantes na desnitrificação, sob condições de aeração contínua. A população de *Verrucomicrobium* diminuiu com a redução do tempo de aeração e o gênero *Sphaerotilus* manteve-se predominante. Quando a aeração ficou reduzida (apenas 1h de aeração a cada 5 horas), o gênero *Ancalomicrobium*, bactéria anaeróbia, foi o mais encontrado.

Moura et al. (2018) analisaram as bactérias presentes no meio em um reator de leito estruturado sob aeração intermitente, concluíram que nas camadas externas, maior concentração de OD, os gêneros *Mycobacterium*, *Steroidobacter* e *Comamonas* foram os mais abundantes. No interior da espuma, foram identificados principalmente os gêneros *Gp4*, *Gp6* e *Incertae Sedis*. Segundo os autores esses microrganismos foram classificados como não definidos, mas condizem com sistemas fermentativos sob aeração intermitente.

Ma et al. (2017) avaliaram a microbiota em um reator SBBR sob diferentes concentrações de OD, as bactérias da classe *Gammaproteobacteria* foram as mais abundantes nos níveis de OD entre 4,5-2,5 mg O₂.L⁻¹, sendo o gênero *Acinetobacter* o mais encontrado. Bactérias pertencentes da classe *Betaproteobacteria* são as principais identificadas nos níveis mais baixos de OD (0,35 mg O₂/L), destacando-se os gêneros *Thaurea* e *Pseudomonas*.

Em processos ANAMMOX as principais bactérias identificadas foram as do gênero *Brocadia* e *Nitrospira*, bactérias oxidantes de nitrito, e o gênero *Nitrosomonas*, bactérias oxidantes de amônia, concluindo que os dois grupos de bactérias podem coexistir no mesmo reator (CUI, KIM E KIM, 2018; MA et al., 2018). Estudos que identificaram nitrificação parcial relatam as bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrospira* e *Nitrovibrio* dominantes na microbiota bacteriana (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al., 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é avaliar a remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de esgoto sanitário real em diferentes razões de EB (esgoto bruto) e EU (efluente proveniente do UASB), em dois reatores de bancada com diferentes disposições de leito, ordenado e empacotado, sob aeração intermitente.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência de remoção de matéria orgânica carbonácea, expressa em DQO, com alimentação em diferentes razões (v/v) de EB e EU.
- Avaliar a eficiência de remoção de NT com alimentação em diferentes concentrações de EB e EU.
- Avaliar a eficiência de nitrificação e desnitrificação nas diferentes condições testadas.
- Estimar a velocidade específica de nitrificação e desnitrificação com o uso de ensaios cinéticos em cada condição utilizada.
- Analisar a ecotoxicidade afluentes nas condições operacionais dos reatores.
- Pesquisar a diversidade microbiana presente na superfície dos Mini Biobobs[®], utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) para
- Identificar a diversidade microbiana presente nos Mini Biobobs[®] no de ambos os reatores através de análise metataxonômica.
- Estudar a hidrodinâmica dos reatores de leito ordenado e leito empacotado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

Os reatores de bancada avaliados neste estudo foram instalados no Laboratório de Estudos do Meio Ambiente (LEMA) do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

4.2 SUBSTRATO

Para realização do experimento foi utilizado esgoto sanitário, coletado duas vezes ao mês na ETE IAPÓ, situada à margem esquerda da rodovia PR 151, no município de Castro, estado do Paraná, operada sob concessão da Companhia de Saneamento do Paraná – SANEPAR. O substrato foi composto por diferentes proporções do efluente anaeróbio (proveniente do UASB, aqui chamado de EU) e do esgoto bruto coletado na saída da caixa de areia da ETE, aqui chamado de EB.

Após coletado, o efluente foi transportado até o laboratório de Tratamento de Efluentes do Centro de Tecnologia Agroalimentar, localizado na UEPG, campus Uvaranas. No laboratório as amostras foram caracterizadas físico-quimicamente, armazenadas e mantidas em temperatura de congelamento (-18 °C) em recipientes de polipropileno com capacidade para 5 litros.

4.3 INÓCULO E MATERIAL SUPORTE

Como inóculo foi utilizado o lodo proveniente de um reator de lodos ativados da ETE Belém, que trata esgoto sanitário, localizada em Curitiba, Paraná. O lodo de reatores de lodos ativados é rico em bactérias nitrificantes, que tem crescimento mais lento que as heterotróficas desnitrificantes, por isso a escolha deste inóculo.

Como material suporte para crescimento e fixação da biomassa foram utilizados Mini Biobobs[®], um dispositivo desenvolvido pela empresa Bioproj Tecnologia Ambiental. Este dispositivo é formado por uma estrutura externa em PEAD (polietileno de alta densidade) com 1,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de comprimento e parte interna preenchida por espuma de poliuretano com 90% de porosidade (Figura 2).

A inoculação seguiu a metodologia descrita por Zaiat et al. (1994). Para imobilização da biomassa, os Mini Biobobs[®] foram mergulhados em um recipiente e pressionados sob o lodo, para que o inóculo penetrasse na espuma.

Figura 2 - Mini Biobobs[®] utilizados como material suporte para biomassa.



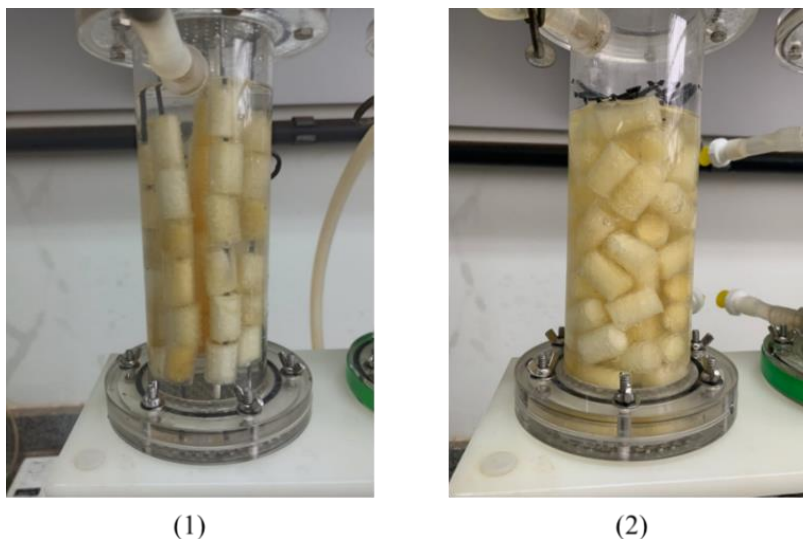
Fonte: Próprio autor, 2023.

4.4 APARATO EXPERIMENTAL

Para realização do experimento, foram construídos dois reatores cilíndricos em acrílico, com 22 cm de altura, 12 cm de diâmetro externo e 7 cm de diâmetro interno, volume total de 0,75 L e volume útil de 0,5 L. Os reatores foram preenchidos com Mini Biobobs[®], em cada reator foram adicionadas 56 unidades, previamente inoculados.

Um dos reatores foi construído em leito ordenado, o qual foi nomeado como “Structure Fixed Bed Reactor” (SFBR) (1) e o outro em leito empacotado, nominado “Packed Fixed Bed Reactor” (PFBR), distribuição aleatória (2) (Figura 3).

Figura 3- Reator de leito ordenado (SFBR) (1) e Reator de leito empacotado (PFBR) (2)



Fonte: Próprio autor, 2023.

Os reatores foram alimentados com o uso de uma bomba peristáltica de múltiplas entradas ISMATEC, modelo ECOLINE, com vazão programada de $0,50 \text{ L.h}^{-1}$. A temperatura mantida foi de 25°C através da recirculação de água por serpentina ao redor dos mesmos reatores. A aeração foi feita com o auxílio de dois aeradores de aquário BOYU, modelo SC—3500, conectados a uma mangueira e pedra porosa, ligados a um temporizador analógico para possibilitar uma condição de aeração intermitente.

A Figura 4 apresenta a foto do experimento dos reatores de bancada, destacando alguns elementos.

Figura 4 - Foto do aparato experimental dos reatores operados em escala de bancada com leito fixo ordenado e empacotado

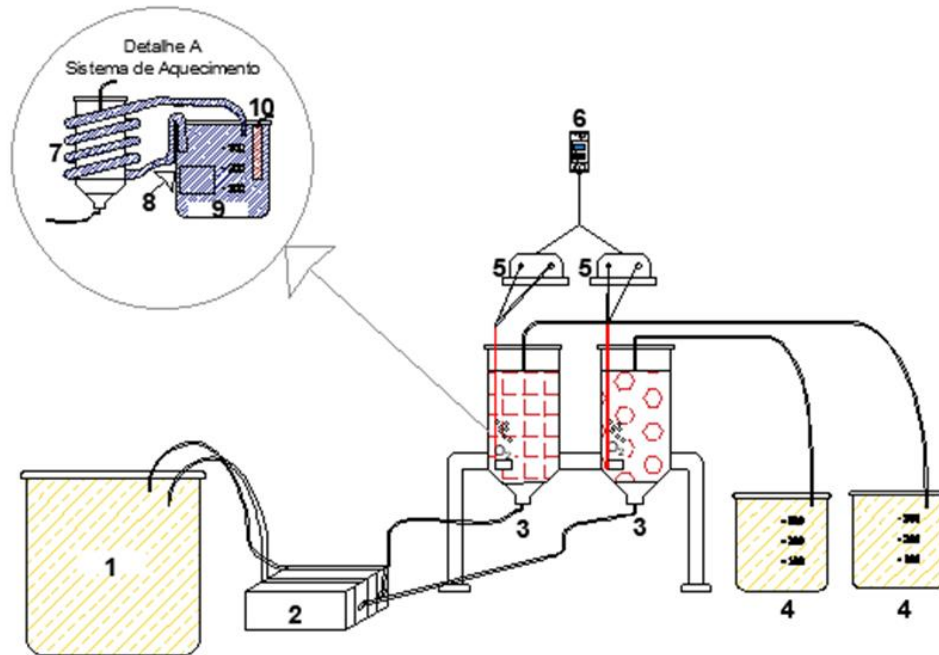


Legenda: 1: Afluente; 2: Bomba peristáltica; 3: Reator de leito fixo ordenado; 4: Reator de leito fixo empacotado; 5: Descarte de efluente; 6: Aeradores.

Fonte: Próprio autor, 2023.

Na Figura 5 está apresentado um esquema ilustrativo de todo o aparato experimental.

Figura 5- Esquema ilustrativo do aparato experimental dos reatores operados em escala de bancada com leito fixo ordenado e empacotado



Legenda: 1 - Recipiente de alimentação (afluente); 2 - Bomba peristáltica com múltiplas entradas; 3 - Reatores; 4 - Recipientes de descarte (efluente); 5 - Aeradores; 6 – Temporizador; 7 - Serpentina com água a 25°C; 8 - Bomba de aquário; 9 - Recipiente com água aquecida; 10 -Termostato.

Fonte: Próprio autor, 2023.

4.5 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO

Inicialmente os reatores foram alimentados com substrato compostos por 1:1 de EB:EU, operados em batelada durante 7 dias e sob aeração contínua, condições que possibilitam o desenvolvimento da biomassa nitrificante.

Essa combinação de substratos foi escolhida a partir da observação dos resultados obtidos nos trabalhos de Wendling (2018), Jenzura et al., (2018) e Oliveira (2016), que obtiveram boas eficiências de remoção de NT em seus experimentos.

Após o período de adaptação da biomassa, foram estudadas as condições experimentais descritas na Tabela 2. Foram estabelecidas condições fixas de TDH (10 horas) e tempo de aeração intermitente (composto por ciclos de 180 minutos, sendo 120 minutos aerando e 60 minutos não aerando). Este intervalo foi selecionado após os resultados obtidos no estudo de Oliveira (2020), o qual avaliou a remoção de nitrogênio diferentes tempos de aeração.

Tabela 2 – Condições experimentais utilizadas durante o experimento

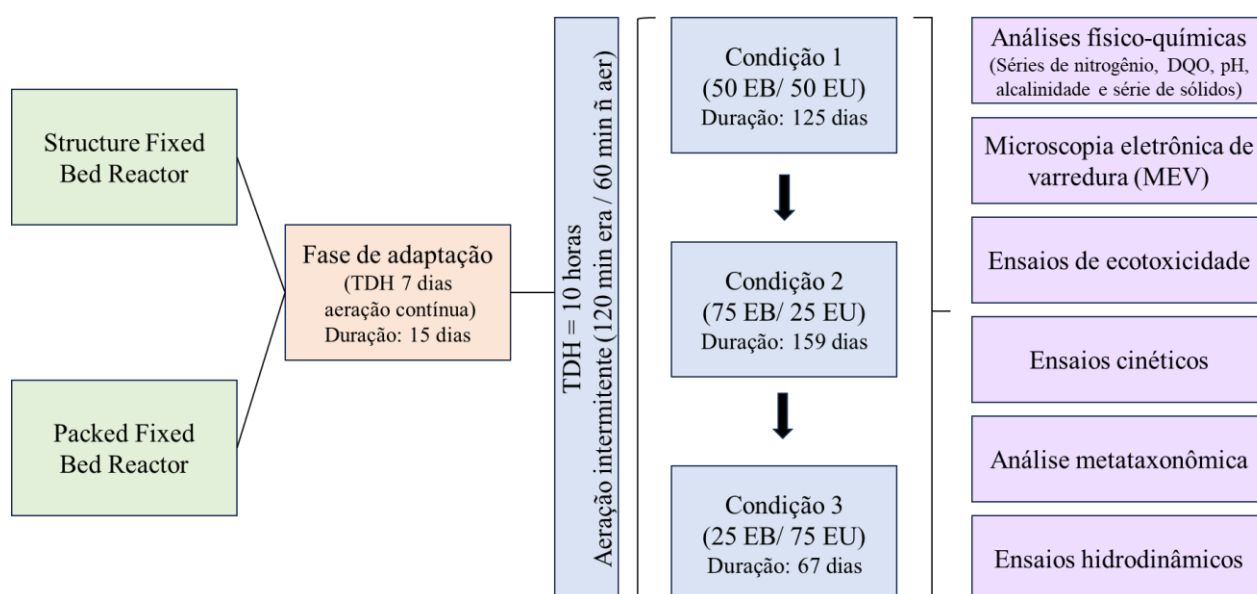
Condição	TDH (horas)	Mistura Afluente (v/v)	
		EB	EU
1	10	50	50
2	10	75	25
3	10	25	75

Legenda: EB – Esgoto Bruto; EU – Efluente anaeróbico de UASB

Fonte: O próprio autor, 2023.

A Figura 6 apresenta um fluxograma das condições experimentais e das etapas analíticas deste trabalho.

Figura 6 – Fluxograma do experimento



Legenda: EB – Esgoto Bruto; EU – Efluente de UASB

Fonte: O próprio autor, 2023.

4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para monitoramento dos reatores foram realizadas as análises físico-químicas no afluente e efluente, sendo elas: pH, DQO, NTK, $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$, sólidos totais, fixos e voláteis e sólidos suspensos, fixos e voláteis. As análises foram realizadas segundo metodologia descrita no *Standard Methods for the Evaluation of Water and Wastewater* (APHA, 2005) e a de alcalinidade foi feita segundo método descrito por Ripley et al. (1986).

4.7 CÁLCULO DAS EFICIÊNCIAS, ALCALINIDADE EFLUENTE TEÓRICA E ÍNDICES DE ECOTOXICIDADE

Para o cálculo da eficiência dos reatores na redução de DQO e remoção de NT e dos processos de nitrificação e desnitrificação foram utilizadas as seguintes equações.

$$\text{Red. DQO (\%)} = (DQO_a - DQO_e / DQO_a) \times 100 \quad (14)$$

$$\text{Rem. Nitrogênio Total (\%)} = (NTK_a - NTK_e - N.\text{nitrito} - N.\text{nitrato}) / (NTK_a) \times 100 \quad (15)$$

$$\text{Nitrificação (\%)} = (NTK_a - NTK_e) / (NTK_a) \times 100 \quad (16)$$

$$\text{Desnitrificação (\%)} = (NTK_a - NTK_e - N.\text{nitrito} - N.\text{nitrato}) / (NTK_a - NTK_e) \times 100 \quad (17)$$

Onde:

DQO_a = Demanda Química de Oxigênio Afluente;

DQO_e = Demanda Química de Oxigênio Efluente;

NTK_a = Nitrogênio Total Kjeldahl Afluente;

NTK_e = Nitrogênio Total Kjeldahl Efluente;

$N.\text{nitrito}$ = Nitrogênio na forma Nitrito;

$N.\text{nitrato}$ = Nitrogênio na forma Nitrato.

Para cálculo da alcalinidade teórica efluente, leva-se em conta a alcalinidade teórica demandada na nitrificação que segundo Metcalf & Eddy (2005) são 7,14 mg de alcalinidade expressos na forma de CaCO_3 por mg de nitrogênio amoniacal oxidado a outras formas de nitrogênio, e são gerados na desnitrificação 3,57 mg de alcalinidade da mesma forma expressos na forma de CaCO_3 por mg de nitrogênio removido. A Equação 18, apresenta o cálculo da alcalinidade teórica efluente.

$$\begin{aligned} \text{Alcalinidade Teórica Efluente} = & (Alc_A - (NTK_A - NTK_E) * 7,14 + \\ & (NTK_A - NTK_E - N.\text{Nitrito}_E - N.\text{Nitrato}_E) * 3,57) \end{aligned} \quad (18)$$

Onde:

Alc_A = Alcalinidade Total Afluente;

NTK_A = Nitrogênio Total Kjeldahl Afluente;

NTK_E = Nitrogênio Total Kjeldahl Efluente;

$N.\text{Nitrito}_E$ = Nitrogênio na forma de Nitrito Efluente;

$N.\text{Nitrato}_E$ = Nitrogênio na forma de Nitrato Efluente.

Para o ensaio de ecotoxicidade que abrange citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade foram utilizadas as seguintes equações:

$$IM = \frac{n^{\circ} \text{ de células em divisão}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (19)$$

$$IAC = \frac{n^{\circ} \text{ de células com aberrações}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (20)$$

$$IMUT = \frac{n^{\circ} \text{ de células com micronúcleos}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (21)$$

Onde:

IM = Índice mitótico

IAC = Índice de aberrações cromossômicas

$IMUT$ = Índice de mutagenicidade

4.8 ENSAIOS CINÉTICOS

De acordo com Metcalf & Eddy (2015) a velocidade aparente de reação é definida como a proporção à qual uma substância é formada ou consumida em um processo químico. E a velocidade de reação (r) pode ser definida de acordo com a seguinte Equação (VON SPERLING, 2007):

$$r = K \cdot C^n \quad (22)$$

Onde:

r = velocidade da reação ($M \cdot L^{-3} T^{-1}$)

k = constante da reação (T^{-1})

C = concentração do reagente (ML^{-3})

n = ordem da reação

Para o tratamento de efluentes as ordens de reação mais empregadas são as de ordem zero e primeira ordem, respectivamente, $n=0$ e $n=1$ (SÁ, 2019). Para as reações de ordem zero a velocidade é a mesma durante todo o tempo da reação e independe da concentração do

reagente. Enquanto nas reações que não são de ordem zero a taxa de reação é dependente à concentração do reagente, quanto maior a concentração de substrato, maior será a velocidade de reação (VON SPERLING, 2007).

Para determinação da constante de velocidade de oxidação de nitrogênio, na nitrificação, e da velocidade de remoção, na desnitrificação, foram realizados os ensaios cinéticos ao final de cada condição estudada. Os ensaios foram feitos nos próprios reatores alimentados em batelada. Para cada ensaio os reatores foram alimentados com um volume de 500 mL, o pH foi corrigido para ficar entre 7-8 e a alcalinidade também foi corrigida, quando necessário, com adição de bicarbonato de sódio 2 g L^{-1} diretamente na solução que foi alimentado cada reator. Ao final dos ensaios foram retirados três Mini Biobobs[®] de cada reator para determinar as concentrações de SST, SSV e SSF.

O método integral foi utilizado para a determinação da ordem da reação (n), em função das comportamento das concentrações do substrato (C) em função do tempo. E, posteriormente, a constante de velocidade (k) ($\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Foram plotados os dados de concentração de substrato (C) x tempo, caso aproxime-se de uma reta, tem-se cinética de ordem zero, senão, plota-se o $\text{Ln}(C)$ x tempo, e se aproximar-se de uma reta tem-se cinética de ordem 1. O tratamento dos dados foi realizado pelo software Origin.

Para obtenção da velocidade específica de nitrificação e desnitrificação ($k\theta$) ($\text{mgN gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$), o valor de k foi dividido pela concentração de SSV.

4.8.1 Nitrificação Via N-Amoniacal

Para o ensaio de nitrificação via N-amoniacal foi utilizado o mesmo afluente, variando a proporção de esgoto bruto e efluente anaeróbico, de acordo com a condição estudada. A aeração foi realizada com o auxílio de um aerador de aquário BOYU, modelo SC-3500, conectado a uma mangueira e uma pedra porosa, para manter a concentração de OD de $4,5 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de nitrogênio amoniacal foi determinada no início e durante os ensaios, as amostras foram coletadas a cada 30 minutos. Os ensaios foram encerrados quando a concentração de nitrogênio amoniacal ficou menor que 1 mg L^{-1} .

4.8.2 Nitrificação Via N-Nitrito

Nos ensaios de nitrificação via N-nitrito, foi utilizado o efluente resultante do ensaio anterior e adicionado nitrito de sódio (NaNO_2) para que a concentração de N-NO_2^- ficasse em

torno de 10 mg L^{-1} . A aeração foi mantida igual à do ensaio de nitrificação via N-amoniacal. As amostras para determinação de nitrito foram coletadas a cada 30 minutos até que não houvesse mais concentração de nitrito no meio.

4.8.3 Desnitrificação

Os ensaios de desnitrificação também foram realizados utilizando o efluente do ensaio de nitrificação via N-amoniacal e adicionado nitrato de sódio (NaNO_3) para que a concentração ficasse em torno de 10 mg L^{-1} de N-NO_3 . Também foi adicionado glicose para manter uma concentração de DQO teórica de 80 mg L^{-1} , de tal forma que a relação DQO/N fosse igual a 8. Para promover a mistura foi instalado um sistema de recirculação nos reatores utilizando uma bomba peristáltica ISMATEC, modelo ECOLINE. Para garantir a condição anóxica no ensaio, também foi adicionado a glicose conforme a concentração de OD no meio. Após atingir a concentração de OD menor que $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, que o ensaio foi iniciado. As amostras foram coletadas a cada 30 minutos e analisadas para determinação de nitrato, até que a concentração chegasse a zero.

4.9 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

Os ensaios de ecotoxicidade foram realizados em raízes de cebola (*Allium cepa*), e seguiram a metodologia descrita por Silva (2021).

Os bulbos das cebolas foram colocados em contato com 5 tipos de substratos: esgoto bruto (EB) coletado na ETE-Iapó, efluente do SFBR, efluente do PFBR, amostras de controle positivo (água destilada) e controle negativo (herbicida trifluralina na concentração $0,84 \text{ mg L}^{-1}$), o tempo total de crescimento das raízes foi de 72h, em BOD na temperatura de 28°C e na ausência de luz.

Após o crescimento das raízes, as mesmas foram selecionadas, medidas e na sequência as raízes foram imersas em solução Carnoy para interrupção do crescimento celular (50 minutos), lavadas e colocadas em ácido clorídrico $0,25\text{M}$ para hidrólise celular (135 minutos) e coradas em solução comercial Schiff (50 minutos). Em seguida as lâminas foram preparadas e observadas em microscopia óptica no aumento de 40x.

Na Figura 7 estão apresentadas as fotos dos procedimentos realizado nos ensaios.

Figura 7 – Tratamentos realizados com *Allium cepa* nos diferentes substratos.



Legenda: A - Controle negativo (água); B - Controle positivo (trifluralina). C - Efluente SFBR 1; D - Efluente PFBR; E – Esgoto Bruto.

Fonte: O próprio autor, 2023.

4.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Com objetivo de visualizar a variedade microbiológica aderida ao meio suporte utilizado no experimento, foram realizadas imagens de microscopia eletrônica antes e ao final do experimento. A análise foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) por emissão de campo (FEG, Modelo Mira 3, Marca Tescan) e o preparo da amostra foi de acordo com a metodologia adaptada de Gross (2014).

As espumas foram retiradas dos Mini Biobobs[®] e recortadas em formato retangular com área superficial de até 2 cm x 2 cm, em seguida foi realizada a fixação sob imersão utilizando a solução FAA (formaldeído, ácido acético e álcool etílico). As amostras ficaram submersas por 12 horas sob refrigeração. Após a fixação, foram realizadas as etapas de lavagem com

solução de tampão fosfato 0,1M, e a desidratação com o uso de álcool etílico 100%. Por fim, as amostras foram seca em estufas a baixa temperatura (35°C) por três horas.

4.11 AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA POR SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

Ao final da fase operacional dos reatores, foram extraídas amostras da biomassa das espumas dos Mini Biobobs[®] para análise da comunidade microbiana. As espumas foram lavadas com água deionizada e então pressionadas para extrair o máximo de lodo possível. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Excelsa II, Fanem) em tubos Falcon a 6000 rpm e descartado o sobrenadante. Este procedimento foi repetido até a obtenção de 2,5 a 3 mL de pellet. As amostras foram armazenadas em freezer e enviadas congeladas para o laboratório específico para realizar a análise.

O material foi enviado para a empresa Neopropecta localizada em Florianópolis, localizada no estado de Santa Catarina. A extração de DNA foi realizada utilizando-se a técnica de beads magnéticas, com um protocolo proprietário (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). Para identificação de bactérias foi realizada utilizando-se o sequenciamento de alto desempenho com a amplificação com primers para região V3-V4 do gene rRNA 16S, os primers utilizados foram 341F com sequência (CCTACGGGRSGCAGCAG), e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo proprietário (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). As bibliotecas foram sequenciadas utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o sequenciamento foi paired-end, com os kits V3 com 600 ciclos ou V2 com 500 ciclos. As sequências foram analisadas por meio do pipeline Sentinel.

4.12 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS

Com a finalidade de avaliar a o comportamento hidrodinâmico das duas configurações de reatores, foram realizados ensaios do tipo estímulo-resposta de acordo com a metodologia descrita por Ribicki (2022), onde utilizou-se como traçador uma solução de cloreto de sódio (NaCl) em água de torneira com concentração de 1,5 g.L⁻¹. Os reatores foram operados nas mesmas condições operacionais já descritas, com TDH teórico (TDHt) de 10 horas, alimentados por meio de uma bomba peristáltica de múltiplas entradas ISMATEC, modelo ECOLINE, com

vazão de $0,5 \text{ L.h}^{-1}$. Os reatores foram submetidos a aeração intermitente de 120 minutos aerando e 60 minutos não aerando, em ciclos de 180 minutos.

As amostras foram coletadas nas saídas dos reatores iniciando no tempo zero e em intervalos de 30 minutos. A condutividade elétrica (CE) foi aferida utilizando um condutivímetro (Asko® modelo AK51-V4), para determinar a concentração da solução. As amostras foram conservadas e analisadas em temperatura ambiente com média de $24 \text{ }^\circ\text{C}$, o equipamento possui o recurso ATC (automatic temperature compensation) para correção de variações decorrentes da temperatura. Foi desenvolvida uma curva de calibração com concentrações conhecidas da solução de NaCl e suas respectivas leituras de CE, onde $C=2,0018.CE+0,1065$ ($R^2=0,9964$).

Os cálculos para determinar o número de reatores de mistura completa em série (N) e o TDH médio foram realizados de acordo com as etapas descritas por Vuitik (2017). E para determinação do volume morto foram utilizadas a equação e fórmula descritas por Rubicki (2022).

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos durante todo o experimento foram 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 realizadas 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 CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE

Inicialmente, os reatores foram operados em baixo TDH (7 dias) para a adaptação da biomassa, este período durou 15 dias. Na sequência foram operados por 350 dias, sendo dividido em três condições: condição 1 (124 dias); condição 2 (159 dias) e condição 3 (67 dias). Na Tabela 3 estão apresentados os parâmetros dos afluentes em cada condição estudada nos reatores.

Tabela 3 - Caracterização média do afluente utilizado em cada condição

Parâmetros	Condição 1 (50/50)*	Condição 2 (75/25)*	Condição 3 (25/75)*
pH	7,8±0,3	7,8±0,3	7,6±0,2
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	298±33	213±39	162±31
DQO (mg.L ⁻¹)	292±20	489±26	192±25
NTK (mg.L ⁻¹)	61±14	56±16	49±10
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	50±8	39±7	27±5
ST (mg.L ⁻¹)	297±57	453±59	236±49
STF (mg.L ⁻¹)	163±33	324±48	78±25
STV (mg.L ⁻¹)	98±20	126±39	161±43
SST (mg.L ⁻¹)	45±3	84±24	35±15
SSF (mg.L ⁻¹)	32±16	68±25	7±2
SSV (mg.L ⁻¹)	27±13	37±9	25±10

* Proporção % esgoto bruto (EB)/% efluente anaeróbio (EU) (v/v)

A mistura (v/v) de esgoto bruto e efluente anaeróbio se justifica pela possibilidade de aumento da capacidade de tratamento da ETE, além de possibilitar o pós tratamento, visando a remoção de nitrogênio. Reatores do tipo UASB não propiciam as condições específicas para a remoção de nitrogênio total, desta forma o seu efluente possui concentrações significativas de NTK e nitrogênio amoniacal, próximas de 50 mg N-NH₄.L⁻¹, e apresentam baixas quantidades de DQO. Porém, para ocorrer a etapa final na remoção de nitrogênio, a desnitrificação, é necessária uma fonte doadora de elétrons, o qual o esgoto bruto poderá fornecer.

Ao observar os valores na Tabela 4, quanto maior a concentração de esgoto bruto na mistura, 25%, 50% e 75%, maiores os valores de DQO, 192±25, 272±20 e 489±26 mg.L⁻¹, respectivamente. Porém, os teores de NTK e N-NH₄⁺ tiveram uma pequena redução, comprovando que processos biológicos anaeróbios não são eficientes para remoção desses compostos.

Oliveira (2016) estudando o tratamento de efluente de esgoto sanitário bruto e efluente do UASB na proporção 1:1, obteve eficiência de remoção de nitrogênio total entre 50 e 78%. Jenzura et al. (2018), estudando TDH de 8, 10 e 12 horas, tratando o mesmo efluente obteve valores de eficiência de remoção de nitrogênio de 65% e eficiência de redução de DQO de 64 e 93%. Alterando a mistura entre efluente bruto e efluente anaeróbico, objetiva-se otimizar as eficiências de remoção.

5.2 REDUÇÃO DQO

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados de DQO afluente, DQO efluente dos reatores SFBR e PFBR e os valores percentuais de redução de DQO, nas três condições estudadas.

Tabela 4- Concentração média de DQO afluente e efluente nas condições estudadas

Condição	Afluente	Efluente DQO (mg L ⁻¹)		Redução de DQO (%)	
		SFBR	PFBR	SFBR	PFBR
1 (50/50)	292±20	37±15 ^a	34±12 ^a	87±13 ^a	88±15 ^a
2 (75/25)	489±26	127±16 ^b	126±14 ^b	74±4 ^a	74±3 ^a
3 (25/75)	192±25	68±14 ^a	73±15 ^a	65±6 ^b	62±9 ^b

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Ao analisar os valores de DQO efluente dos reatores, observa-se que a condição 2 difere estatisticamente das outras e foi a que apresentou maior valor final. Acredita-se que este valor esteja relacionado a maior carga orgânica do afluente, o qual era composto por 75% EB e 25% EU. Apesar deste valor maior e estatisticamente diferente, não afetou a porcentagem de redução de DQO.

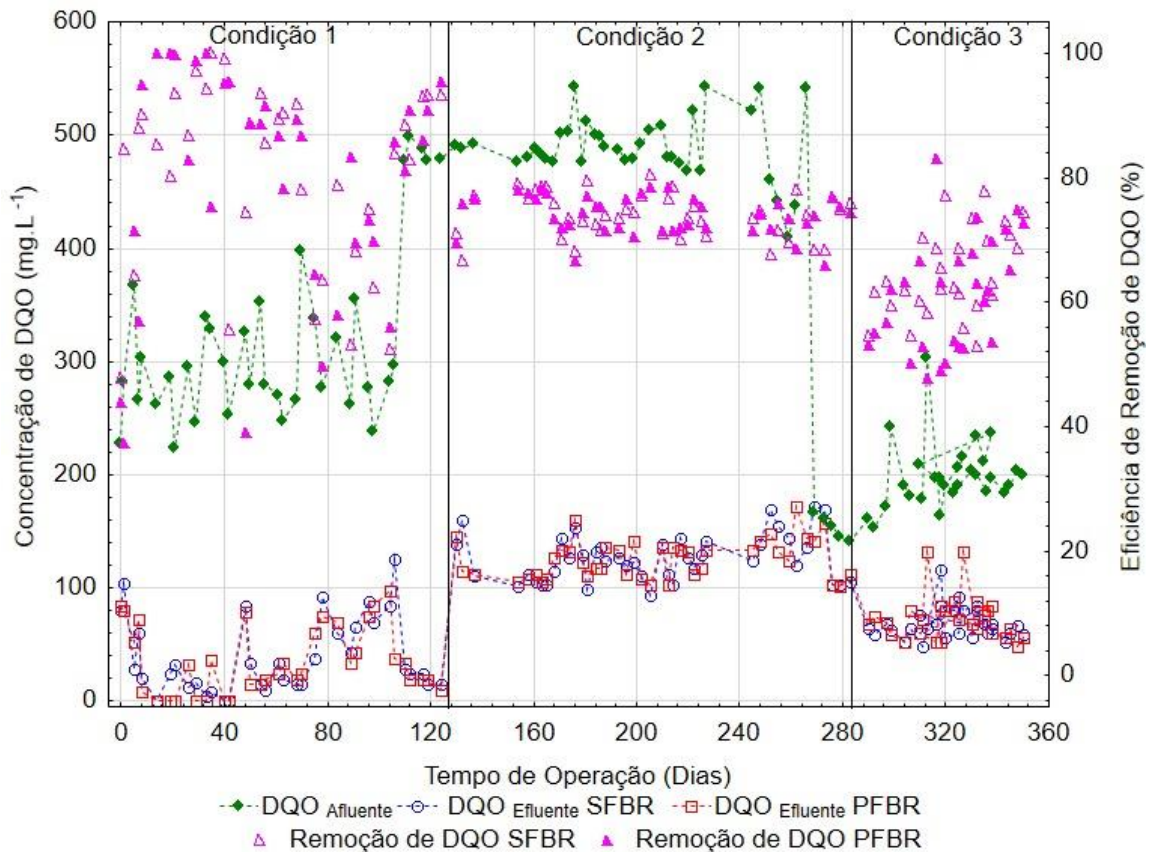
Todos os valores de DQO efluente estão dentro dos padrões de lançamento estabelecidos pelo órgão vigente. Na ETE Iapó, o padrão de lançamento de DQO deve ser menor que 150 mg L⁻¹, conforme determinado pela Portaria de Outorga número 1045/2020 (Instituto Águas e Terra do Paraná, 2020).

A redução de DQO apresentou valores acima de 70% nas condições estudadas 1 e 2. A condição 3, que tinha o menor percentual de matéria orgânica afluente foi o que apresentou diferença significativa nos testes de variância e o que apresentou menores valores de redução em ambos os reatores. A matéria orgânica presente no afluente da condição 3, devido a maior

proporção de EU, tende a ser menos biodegradável, o que explica as menores taxas de remoção encontradas nesta etapa.

Na Figura 8 é possível visualizar as concentrações de DQO afluente e efluente de ambos os reatores e os resultados de eficiência de redução de DQO na linha temporal do experimento, em cada condição.

Figura 8 – Gráfico temporal do comportamento da DQO nos reatores, afluente, efluente e eficiência na redução de DQO



Fonte: Próprio autor, 2023.

Quando comparados estatisticamente os reatores não apresentaram diferença significativa, apesar da diferença de configuração e disposição dos Mini Biobobs[®]. A condição 1 foi a que apresentou valor médio mais alto de redução de DQO (87% e 88%, respectivamente SFBR e PFBR). A condição 2 teve uma baixa variabilidade e a mesma taxa média de redução de DQO nos dois reatores (74%).

A condição 3 foi a qual teve as menores taxas de remoção e possivelmente a eficiência de redução de DQO pode ter sido afetada devido a competição pelo oxigênio dissolvido com outros microrganismos presentes no biofilme. Esta condição foi a que apresentou menor valor de DQO afluente. Em um mesmo ambiente as bactérias heterotróficas podem competir por

oxigênio, substrato e espaço no biofilme com as bactérias nitrificantes autotróficas (XIANG et al., 2020).

Outro fator que pode interferir nos resultados é em relação a biodegradabilidade da fração orgânica presente no EU quando comparada a EB. O processo anaeróbico que acontece no UASB ocorre em diferentes fases, incluindo a acidogênese e a metanogênese. Algumas etapas podem favorecer a formação de subprodutos mais persistentes ou complexos, reduzindo a biodegradabilidade geral do efluente (METCALF & EDDY, 2014). Assim, quando o afluente era composto por maior fração do EU, como na condição 3, este estava menos biodegradável, o que pode justificar os menores valores de redução de DQO encontrados nesta condição.

Em ambos os reatores, a concentração de matéria orgânica afluente influenciou na redução de DQO, as condições que apresentaram maior entrada de matéria orgânica no sistema, foram as que tiveram melhores resultados de eficiência de redução. Quanto maior a concentração de matéria orgânica no sistema, há mais substrato disponível para esses microrganismos, o que pode aumentar sua atividade e taxa metabólica, resultando em uma maior redução de DQO (WANG et al., 2015; METCALF & EDDY, 2014).

Trabalhos que também estudaram reatores de leito estruturado com aeração intermitente também obtiveram resultados acima de 70% de redução de DQO (BARANA et al., 2013; SANTOS et al., 2016; LEICK et al., 2017; CORREA et al., 2018; MOURA et al., 2018). Nestes estudos os intervalos de aeração eram maiores que o estipulado neste trabalho, demonstrando que em menor tempo de aeração também foi possível obter bons resultados de remoção de matéria orgânica. Menor tempo de aeração resulta em economia de energia em sistema de aeração intermitente e redução de custos de operação.

5.3 REMOÇÃO DE NT

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios e desvio padrão de NTK, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato do afluente e dos efluentes dos reatores SFBR e PFBR, e também os percentuais de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação, nas três condições estudadas.

Tabela 5 - Concentração média de NTK, N-NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻ afluente e efluente e eficiências de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação nas três condições estudadas

Condição / Reator	Afluente (mg L ⁻¹)		Efluente (mg L ⁻¹)				Remoção NT (%)	Nitrif. (%)	Desnitrif. (%)	
	NTK	N-NH ₄ ⁺	NTK	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻				
1	SFBR	60,3±8,9	50,1±6,7	13,1±5,7 ^a	9,1±4,3 ^a	6,7±3,2 ^a	14,9±4,3 ^a	58,3±15 ^a	78,7±13 ^a	52,1±16 ^a
	PFBR	60,3±8,9	50,1±6,7	12,8±5,9 ^a	8,9±4,9 ^a	4,8±2,7 ^a	15±5,5 ^a	59,7±11 ^a	78,6±11 ^a	54,6±14 ^a
2	SFBR	66,1±7,7	59,5±5,5	15,9±4,7 ^a	12,3±6,1 ^a	1,3±0,1 ^a	1,9±0,1 ^b	70,8±4,8 ^a	69,7±10 ^a	91,6±4,2 ^b
	PFBR	66,1±7,7	59,5±5,5	13,9±8,4 ^a	11,5±6,4 ^a	1,7±0,5 ^a	1,1±0,1 ^b	73,3±3,1 ^a	70,9±8,1 ^a	93,1±4,6 ^b
3	SFBR	49,4±6,8	36,9±4,6	7,2±2,1 ^b	5,3±2,1 ^b	0,11±0,1 ^b	25,2±4,4 ^c	22,9±9,2 ^b	82,6±7,5 ^b	27,4±9,7 ^c
	PFBR	49,4±6,8	36,9±4,6	7,1±2,2 ^b	5,7±1,5 ^b	0,2±0,1 ^b	24,0±6,1 ^c	25,1±7,6 ^b	84,6±4,2 ^b	28,9±9 ^c

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Relação EB/EU: Condição 1: 50/50; Condição 2: 75/25; Condição 3: 25/75

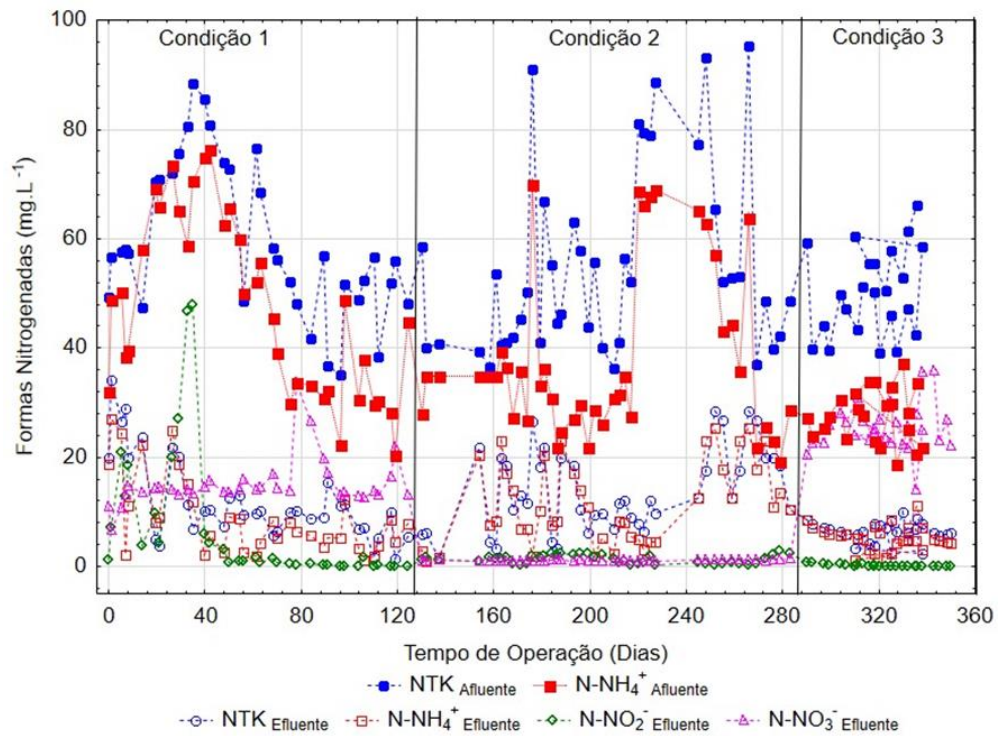
Analisando os resultados obtidos nas três condições avaliadas, foi possível obter valores de nitrogênio amoniacal abaixo dos valores estipulados pelo padrão de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/2011, cujo limite máximo é de 20 mg L⁻¹. Esta resolução esclarece que o padrão de lançamento para nitrogênio amoniacal não é exigido para sistemas de tratamento de esgotos, porém mostra que, caso a legislação venha a exigir a remoção deste nutriente, a ETE deverá complementar o tratamento existente com alguma tecnologia específica para remoção do mesmo.

Considerando o valor de lançamento estabelecido pela resolução do CONAMA, os reatores possibilitaram a remoção de nitrogênio amoniacal, e caso a legislação seja alterada e venha a exigir sua remoção para ETEs, as configurações estudadas poderiam ser utilizadas para tal propósito.

Avaliando estatisticamente os dois reatores não apresentaram diferença significativa entre eles, demonstrando que a configuração dos Mini Biobobs[®] não afetou as eficiências de remoção. As condições 1 e 2 não apresentaram diferenças significativas e os valores médios de remoção de NT foram de 58,3% e 70,8 % (SFBR) e 59,7% e 73,3% (PFBR). A condição 3 diferiu estatisticamente das outras condições e foi a qual apresentou menor valor de remoção de NT, sendo 22,7% para SFBR e 25,1% para PFBR.

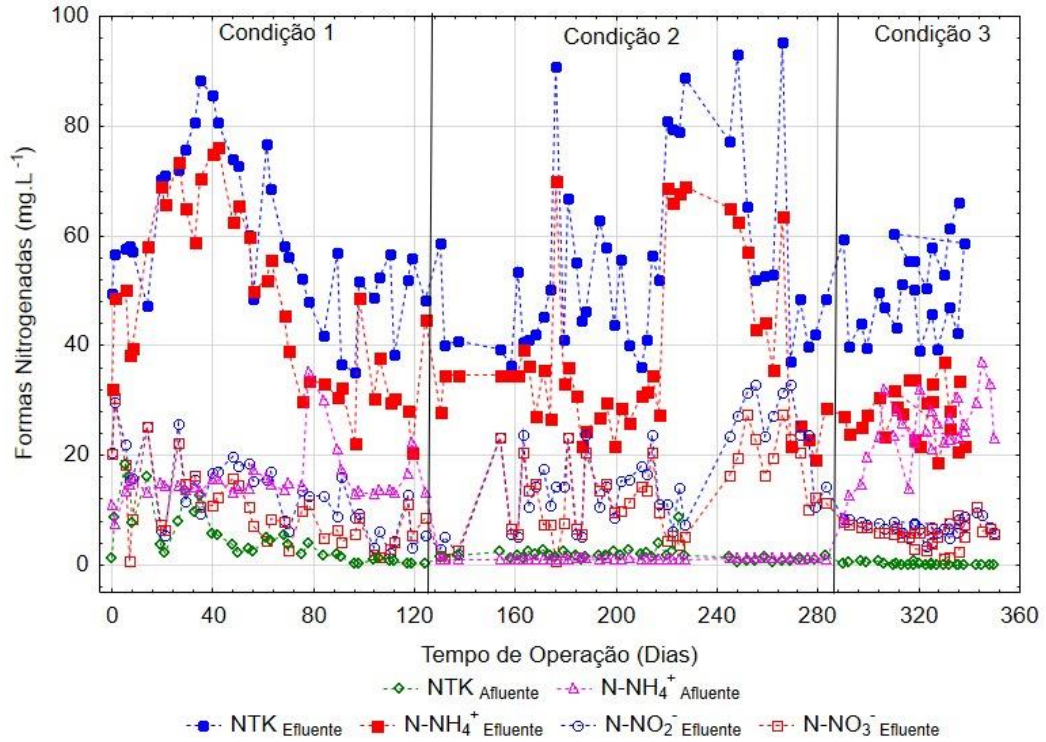
Nas Figuras 9 e 10 estão apresentadas as concentrações das formas nitrogenadas afluente e efluente em linha temporal do experimento no SFBR e no PFBR.

Figura 9 – Gráfico temporal das formas nitrogenadas do afluente e efluente no SFBR



Fonte: Próprio autor, 2023.

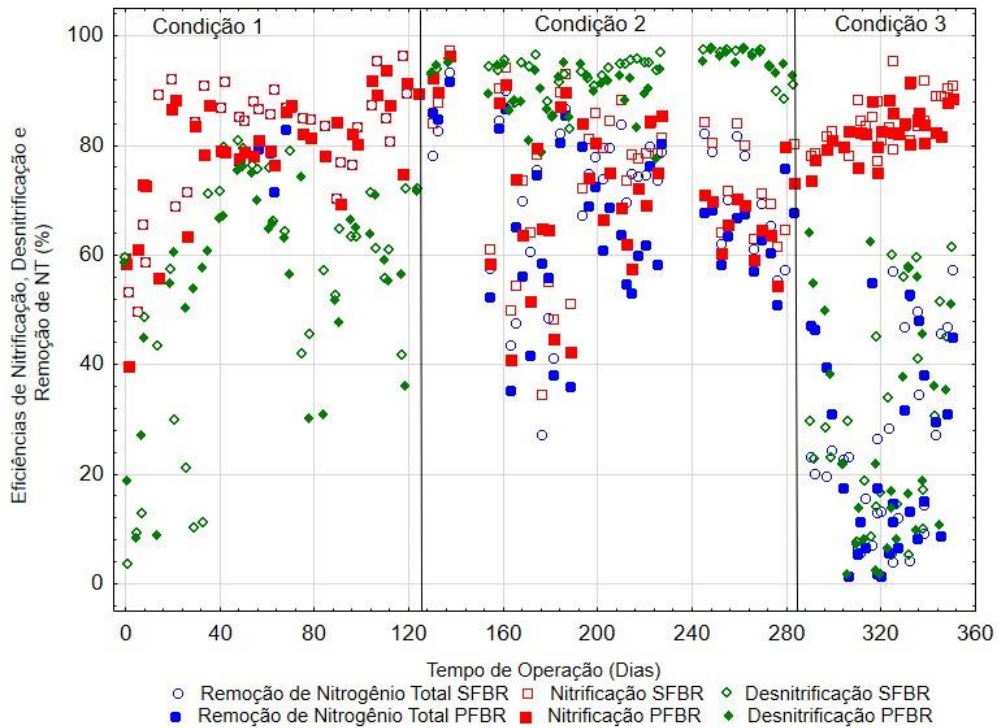
Figura 10 – Gráfico temporal das formas nitrogenadas do afluente e efluente no PFBR



Fonte: O próprio autor, 2023.

Na Figura 11 está apresentadas as eficiências de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação.

Figura 11 – Gráfico temporal das eficiências de remoção de NT, nitrificação e desnitrificação nos dois reatores



Fonte: O próprio autor, 2023.

Ao analisar a Figura 11 é possível visualizar que na Condição 1 a remoção de NT está relacionada à taxa de nitrificação, enquanto na Condição 3 à taxa de desnitrificação.

Na condição em que o afluente era composto por 50% EB e 50% EU, a maior parte do nitrogênio que entrou nos reatores foi nitrificado (79%) porém apenas metade dessa concentração foi desnitrificada. Isso pode ser justificado pela falta de matéria orgânica disponível para as bactérias desnitrificantes utilizarem para realizarem a reação de redução de nitrito a nitrogênio gasoso. Na Tabela 5 pode-se observar que ocorreu um acúmulo de nitrito no efluente, em ambos os reatores.

Já na condição 2 (relação EB/EU = 75/25) aconteceu o inverso, foi a condição que apresentou as maiores taxas de desnitrificação (91,6% SFBR e 93,1% PFBR), pois o efluente era rico em matéria orgânica. Em contrapartida, as taxas de nitrificação foram afetadas negativamente.

Um fator importante para o processo de remoção de nitrogênio é a relação C/N. Valores baixos desta relação afetam negativamente o processo de desnitrificação, resultando em baixa eficiência de remoção de nitrogênio (WANG et al., 2020). Enquanto altas relações de C/N favorecerem o crescimento e multiplicação das bactérias heterotróficas, podendo resultar em diminuição nas taxas de oxidação de nitrogênio amoniacal (DING, et al., 2020).

As relações de DQO/N nas condições 1, 2 e 3 foram de 4,8, 7,4 e 3,8, respectivamente. Os valores baixos desta relação nas condições 1 e 3 desfavorecem o processo de desnitrificação que não ocorreu de maneira satisfatória, já a relação apresentada na condição 2 favorece as atividades das bactérias desnitrificantes.

Segundo Mannina et al. (2017) para propiciar a remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada em mesma unidade operacional, é indicado que o efluente possua relação DQO/N próxima de 10, para garantir que a ação dos dois grupos de bactérias, as heterotróficas aeróbias e as heterotróficas desnitrificantes facultativas, sem que haja falta de doadores de elétrons.

Em sistemas onde bactérias heterotróficas aeróbias e nitrificantes autotróficas coexistem, essas tendem a competir pelo espaço no biofilme e também pelo OD no meio. Ambas se fixam na superfície externa do material suporte, neste caso a espuma de polietileno dos Mini Biobobs[®], e com o aumento da concentração de matéria orgânica no meio, as bactérias heterotróficas tendem a se proliferar mais rápido, causando depleção de OD no meio. Desta forma as nitrificantes autotróficas podem ficar sem oxigênio suficiente para realizar a reação, de modo a inibir a nitrificação (SUN et al., 2020; XIANG et al., 2020).

A condição 2, foi a que apresentou maior concentração de nitrogênio amoniacal no efluente, em ambos os reatores. Demonstrando que nesta etapa a nitrificação não ocorreu de forma satisfatória.

Pode-se visualizar a Figura 11 que, na condição 3, a nitrificação foi eficiente, atingindo valores médios de nitrificação de 82,6% no SFBR e 84,6% no PFBR. Nesta condição, ocorreu menor entrada de matéria orgânica no sistema, sendo que o afluente era composto por 25% esgoto bruto e 75% efluente anaeróbio. Desta forma, acredita-se que as bactérias nitrificantes autotróficas tiveram mais vantagem na competição pelo OD, o que favoreceu a nitrificação.

Porém, nestas condições, não restou matéria orgânica disponível para as bactérias desnitrificantes realizarem a reação de desnitrificação, apresentando baixas taxas de eficiência. É possível visualizar um alto acúmulo de nitrato no efluente (25,2 mg.L⁻¹ no SFBR e 24 mg.L⁻¹ no PFBR), assim, a remoção de NT foi afetada pela ineficiência da desnitrificação nesta etapa.

Analisando os valores de nitrato, as três condições apresentaram diferenças significativas entre si demonstrando que a etapa de desnitrificação foi afetada pela composição do afluente que foi utilizado em cada ensaio.

O tempo de aeração utilizado (a cada de 180 min: 60 min aerando e 120 minutos não aerando) também foi suficiente para as bactérias nitrificantes se desenvolverem e realizarem a reação de nitrificação, obtendo valores de eficiência acima 70% nas condições estudadas, em ambos os reatores. Os intervalos de aeração são importantes para possibilitar a coexistência e

ação das bactérias nitrificantes nos intervalos aeróbios e das desnitrificantes nos intervalos anóxicos, o que caracteriza a NDS.

Autores avaliando reatores de leito estruturado e aeração intermitente também destacaram o processo de NDS em seus reatores, obtendo taxas de nitrificação e desnitrificação satisfatórias (BARANA et al., 2013; WOSIACK et al., 2015; SANTOS et al., 2016; ALMEIDA et al., 2018; MOURA et al., 2018; AZEVEDO et al., 2021).

5.4 pH E ALCALINIDADE

Na Tabela 6 estão apresentados os valores médios e desvio padrão de pH e alcalinidade real do afluente efluentes dos reatores, nas três condições estudadas, e também o cálculo para alcalinidade teórica.

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão de pH, alcalinidade e o cálculo de alcalinidade teórica em cada fase de operação dos reatores.

Cond. (EB/EU)	pH		Afluente	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)				
	Afluente	Efluente		Efluente		PFBR		
		SFBR		PFBR	Real	Teórica	Real	Teórica
1 (50/50)	7,8±0,2	6,5±0,6	6,5±0,5	358±41	159±29	112	117±34	117
2 (75/25)	7,9±0,2	6,7±0,5	6,6±0,6	377±33	86±6	186	63±7	181
3 (25/75)	7,6±0,2	6,0±0,7	6,0±0,7	294±31	13±5	70	17±5	74

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Avaliando os valores de pH, todos os valores de afluente se mantiveram dentro da faixa ótima para nitrificação e desnitrificação. A faixa ótima de pH para o processo de nitrificação é entre 7,5 e 8,0, já para a ocorrência de desnitrificação, deve ser entre 6,0 e 8,0 (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Sistemas que operam sob nitrificação e desnitrificação simultânea apresentam um equilíbrio em relação a alcalinidade. Durante o processo de nitrificação ocorre um consumo de alcalinidade, 7,14 mg de CaCO₃ são consumidos para cada mg de N-NH₄⁺ oxidado. Já o processo de desnitrificação gera alcalinidade, havendo uma recuperação de 50% da alcalinidade consumida pela nitrificação, ou seja, a cada mg de NO₃⁻ reduzido a N₂ gasoso devolve ao sistema 3,57 mg de alcalinidade na forma de CaCO₃ (METCALF & EDDY, 2014; MOURA, et al., 2018). Desta forma, se a alcalinidade real medida do efluente for próximo a alcalinidade teórica, significa que está ocorrendo o processo de NDS.

Em todas as condições, pode-se observar uma redução de alcalinidade, evidenciando a ocorrência do processo de nitrificação, este processo libera íons H⁺ no meio, causando um

decréscimo do pH, o que também pode ser evidenciado na Tabela 6, tanto no SFBR, quanto no PFBR.

A única condição que teve os valores de alcalinidade real e teórica próximos foi a condição 1, a qual a alcalinidade foi consumida pelo processo de nitrificação e 50% desta recuperada pela desnitrificação, mantendo um equilíbrio no meio, e propiciando a ocorrência do processo NDS.

Na condição 3, como o processo de desnitrificação não foi eficiente, a alcalinidade foi consumida pelas bactérias nitrificantes para realizar a reação, porém não retornou ao meio, por isso podemos visualizar a baixa alcalinidade afluyente em ambos os reatores.

5.5 SÓLIDOS

Os valores de médios de sólidos totais, fixos e voláteis são apresentados na Tabela 7 e os resultados médios obtidos de sólidos em suspensão são apresentados na Tabela 8.

Tabela 7 – Valores médios de sólidos totais, fixos e voláteis do afluyente e efluyente

Cond. (EB/EU)	Afluyente			Efluyente					
	ST	STF	STV	SFBR			PFBR		
				ST	STF	STV	ST	STF	STV
	mg.L ⁻¹								
1 (50/50)	297±57	163±33	98±20	122±45	113±38	130±29	181±58	157±55	138±30
2 (75/25)	453±59	324±48	126±39	188±41	103±37	85±29	173±45	111±46	92±32
3 (25/75)	236±49	78±25	161±43	108±22	85±20	101±24	112±35	88±28	94±42

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Tabela 8 – Valores médios de sólidos em suspensão totais, fixos e voláteis do afluyente e efluyente

Cond. (EB/EU)	Afluyente			Efluyente					
	SST	SSF	SSV	SFBR			PFBR		
				SST	SSF	SSV	SST	SSF	SSV
	mg.L ⁻¹								
1 (50/50)	45±3	32±16	27±13	15±9	12±7	11±9	12±7	11±6	11±5
2 (75/25)	84±24	68±25	7±2	26±5	14±8	12±7	23±5	16±8	11±4
3 (25/75)	35±15	37±9	25±10	13±4	7±5	5±4	9±4	6±4	5±4

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

As concentrações de sólidos no reator foram superiores quando havia maior concentração de esgoto bruto nas amostras de afluente. Em todas as condições operacionais os teores de SST no efluente são menores que no afluente. Polak (2018) e Oliveira (2020) que estudaram um reator piloto com leito estruturado de Biobobs® e utilizando os mesmos afluentes deste trabalho apresentaram valores médios de 56% e acima de 60% de remoção de SST. Analisando estatisticamente, não houve diferença significativa na remoção de sólidos entre as condições estudadas e entre os reatores.

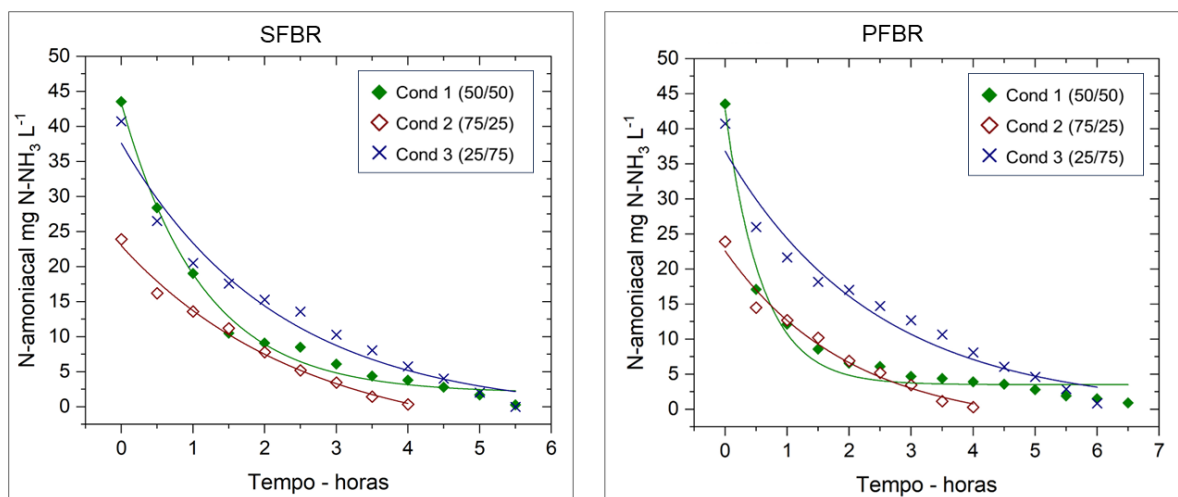
As vantagens de utilizar uma mistura de proporção v/v para alimentar os reatores, além de aumentar a capacidade de tratamento da ETE, viabiliza o pós tratamento, diminui a carga orgânica da planta e geração de sólidos, facilitando a operação e manutenção dos mesmos.

A condição de aeração intermitente, aerando apenas 480 minutos dentro de intervalo de 24 horas, apresenta uma vantagem, pois irá produzir menor quantidade de sólidos quando comparado com reatores estritamente aeróbios. Microrganismos aeróbios apresentam um maior rendimento em relação aos anaeróbios, dessa forma irão formar uma maior quantidade biomassa, a qual se aglutina para formar sólidos suspensos, que contribuem para o aumento da concentração de sólidos no sistema (METCALF & EDDY, 2014; RITTMAN e MCCARTY, 2001).

5.6 ENSAIOS CINÉTICOS

Na Figura 12 estão apresentados os perfis temporais de consumo de nitrogênio amoniacal, nos ensaios de nitrificação via $N-NH_4^+$ das condições 1, 2 e 3, dos dois reatores.

Figura 12 – Perfis temporais de nitrificação via $N-NH_4^+$ das três condições nos reatores



Legenda: SFBR - Structure Fixed Bed Reactor. PFBR - Packed Fixed Bed Reactor.

Fonte: O próprio autor, 2023.

Os dados obtidos de remoção de N-NH_4^+ foram ajustados ao modelo de primeira ordem, considerando o comportamento do consumo de nitrogênio amoniacal. Nessas reações, a velocidade é proporcional à concentração de NH_4^+ .

Observando os gráficos na Figura 12 pode-se observar claramente que a concentração de substrato (N-NH_4^+) *versus* tempo resultou em uma curva. A velocidade de consumo de N-NH_4^+ foi mais rápida no início dos ensaios, apresentando uma queda considerável à medida que as concentrações de N-NH_4^+ foram diminuindo. A velocidade da reação foi reduzida, quando as concentrações do substrato ficaram menores.

Por se ajustar ao modelo de primeira ordem, a velocidade de reação é diferente da constante de velocidade e cada ponto da curva tem uma velocidade diferente. Na Tabela 9 estão apresentados os parâmetros cinéticos dos ensaios que foram realizados para reação de nitrificação via N-NH_4^+ .

Tabela 9 – Parâmetros cinéticos de nitrificação em cada condição nos reatores

Cond	Ensaio	k1 (h ⁻¹)	C ₀ (mg.L ⁻¹)	Velocidade inicial de conversão (mgN-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹ .h ⁻¹)	Velocidade inicial de nitrificação via N-NH ₄ ⁺ (mgN-NH ₄ ⁺ .gSSV ⁻¹ .h ⁻¹)	R ²
1 (50/50)	SFBR	0,756	43,55	32,92	0,27135	0,91
	PFBR	1,101	43,55	47,95	0,55841	0,91
2 (75/25)	SFBR	0,610	23,90	14,58	0,16232	0,92
	PFBR	0,644	23,90	15,39	0,25195	0,97
3 (25/75)	SFBR	0,491	40,75	20,01	0,21308	0,95
	PFBR	0,403	40,75	16,42	0,28494	0,95

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor; k1 – Constante de velocidade; C₀ – Concentração inicial de N-NH_4^+ .

A velocidade inicial de conversão está diretamente relacionada à concentração inicial de N-NH_4^+ , assim as condições que apresentaram maiores concentrações foram, conseqüentemente, as que apresentaram maiores velocidades iniciais de conversão. Destaca-se que a Condição 2, com afluente com maior concentração de DQO, foi a que apresentou a menor velocidade inicial.

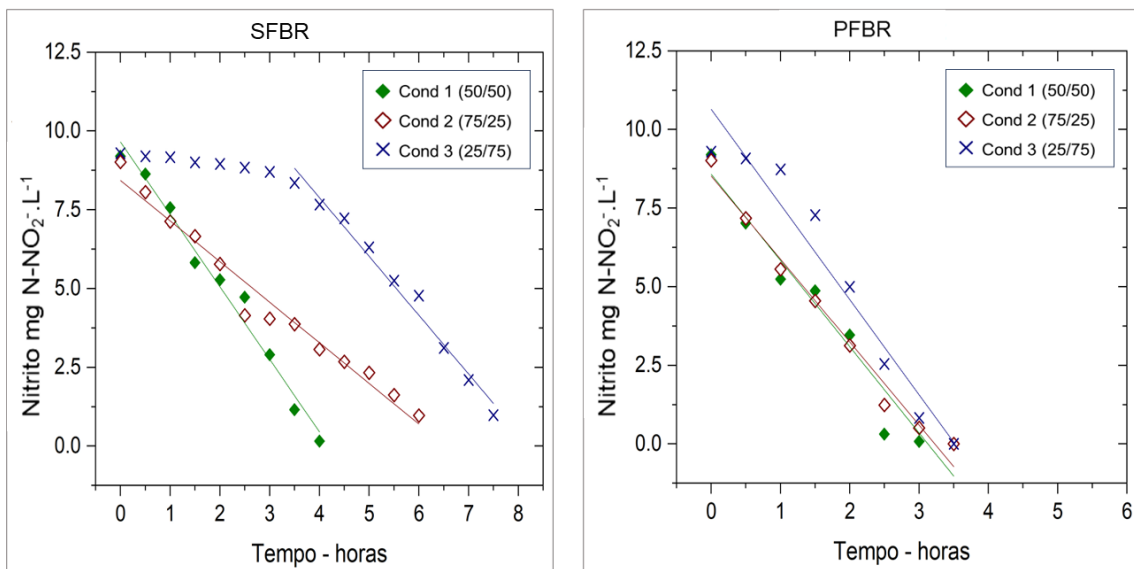
Souza (2014) e Zhu et al. (2014) destacam que relações C/N muito acima de 5 podem afetar negativamente a ação das bactérias nitrificantes. As concentrações iniciais de DQO para cada ensaio eram de: 254 mg L⁻¹ (Condição 1); 393 mg L⁻¹ (Condição 2) e 120 mg L⁻¹ (Condição 3), assim, a Condição 2 apresentou a maior relação C/N quando comparada com as outras condições estudadas.

Em sistemas que operam para remoção tanto de nitrogênio quanto de matéria orgânica, pode ocorrer competição pelo oxigênio entre as bactérias nitrificantes e as bactérias

heterotróficas aeróbias. Em situações que há maior teor de DQO, este último grupo de bactéria se beneficia, por isso, pode ocorrer uma queda na taxa de nitrificação (IANNACONE et al., 2019). Talvez tal situação pode ter influenciado os resultados da velocidade na Condição 2.

Os perfis temporais dos ensaios de nitrificação via N-NO_2^- estão apresentados na Figura 13.

Figura 13 – Perfis temporais de nitrificação via N-NO_2^- das três condições em ambos os reatores.



Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Fonte: O próprio autor, 2023.

Avaliando os gráficos da Figura 13 nota-se que os dados de concentração de nitrito versus tempo se aproximam de uma reta, o que caracteriza uma cinética de ordem zero. Nas reações de ordem zero a velocidade de reação não é afetada pela concentração de substrato, e a velocidade é constante durante toda a reação

O início lento da reação de nitratação na Condição 3 pode ser explicado devido ao fato de haver concentrações de nitrato no substrato utilizado para os ensaios. Como foi utilizado o afluente real restante do ensaio de nitrificação via N-NH_4^+ , foram detectadas as seguintes concentrações de nitrato: $9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Condição 1); $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Condição 2) e $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Condição 3). Possivelmente esta maior concentração de nitrato pode ter desacelerado o início da reação de nitratação.

Na tabela 10 estão apresentados os parâmetros cinéticos dos ensaios que foram realizados para reação de nitrificação via N-NO_2^- .

Tabela 10 – Parâmetros cinéticos de consumo de nitrito de cada condição nos reatores

Condição	Ensaio	Velocidade de nitrificação via	
		N-NO ₂ ⁻ (mgN-NO ₂ ⁻ gSSV ⁻¹ h ⁻¹)	R ²
1 (50/50)	SFBR	2,301	0,97
	PFBR	2,745	0,95
2 (75/25)	SFBR	1,689	0,97
	PFBR	2,640	0,98
3 (25/75)	SFBR	1,866	0,98
	PFBR	3,028	0,94

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

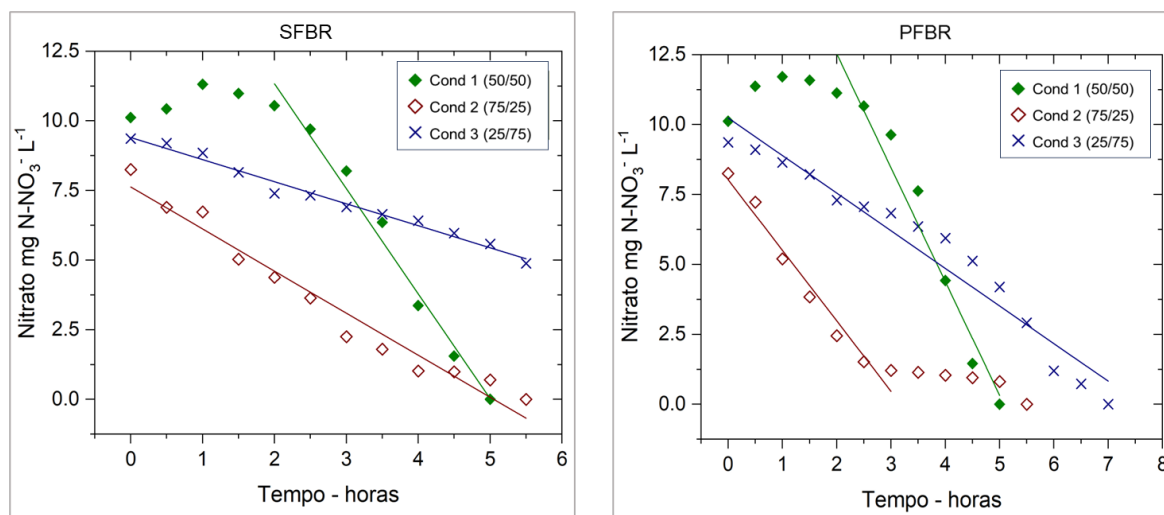
As velocidades de nitrificação via N-NO₂⁻ foram semelhantes nas três condições estudadas. Esses resultados são condizentes com as eficiências de nitrificação encontradas nos resultados nas análises físico-químicas. A Condição 2 foi a que apresentou menor taxa de nitrificação, sendo 69,7% para SFBR e 70,9% para PFBR. Acredita-se que nesta condição, devido a maior concentração de matéria orgânica no afluente, bactérias nitrificantes tiveram que competir com as bactérias heterotróficas aeróbias, e nessa condição eles não estavam dominantes.

Nas outras duas condições, as taxas de nitrificação subiram e ficaram entre 78% a 84%, e conseqüentemente as velocidades de nitrificação foram melhores nestas situações, onde as bactérias podem estar mais ativas do que as bactérias heterotróficas aeróbias.

Com base nos resultados físico-químicos, verifica-se que não houve acúmulo de nitrito nos efluentes, quando avaliadas as três condições estudadas. Indicando que possivelmente, os microrganismos oxidantes de nitrito estavam bem adaptados e atuaram de maneira satisfatória.

Na Figura 14 estão apresentados os perfis temporais de remoção de N-NO₃⁻ ao final das condições 1, 2 e 3, dos reatores SFBR e PFBR. E na Tabela 11 estão os resultados dos ensaios de desnitrificação.

Figura 14 – Perfis temporais de desnitrificação das três condições em ambos os reatores



Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Fonte: O próprio autor, 2023.

Tabela 11 – Parâmetros cinéticos de consumo de nitrato de cada condição nos reatores

Condição	Ensaio	Velocidade de desnitrificação ($\text{mgN-NO}_3^- \text{ gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	R ²
1 (50/50)	SFBR	3,770	0,98
	PFBR	4,072	0,95
2 (75/25)	SFBR	1,559	0,96
	PFBR	2,520	0,94
3 (25/75)	SFBR	0,792	0,98
	PFBR	1,345	0,96

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Assim como nos ensaios de nitrificação via N-NO_2^- , os dados de desnitrificação assemelham-se às reações de ordem zero. Nos gráficos é possível observar a formação de uma reta, portanto a velocidade de reação não é afetada pela concentração de substrato e constante durante todo o tempo de reação. Observando os gráficos na condição 1, nota-se que o consumo de nitrato não começou no início do teste.

Essa pequena geração de nitrato, cerca de $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ de N-NO_3^- para o SFBR e $1,6 \text{ mg L}^{-1}$ de N-NO_3^- para o PFBR, no início dos ensaios realizados na Condição 1 pode ser devido à concentração residual inicial de nitrogênio amoniacal, presente no substrato que era de $4,9 \text{ mg L}^{-1}$, pode ter sido oxidado a nitrato pela possível incorporação de oxigênio realizada durante a recirculação de efluente. A medição de OD foi realizada durante os ensaios, e os mesmos só foram iniciados quando atingiu a concentração abaixo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de OD.

As velocidades de desnitrificação apresentaram diferença em cada condição estudada. Sendo as maiores velocidades obtidas na condição 1, com 50% EB e 50% EU. As menores

velocidades de desnitrificação foram identificadas na condição 3, com 25% EB e 75% EU, a qual também apresentou piores taxas de desnitrificação (27,4% no SFBR e 28,9% no PFBR). A baixa velocidade de desnitrificação desta condição foi devido à insuficiente quantidade de matéria orgânica para as bactérias realizarem a reação completa.

Como os ensaios cinéticos foram realizados ao final do período de estudo de cada condição experimental, acredita-se que pode ter ocorrido adaptações e mudanças no comportamento da biomassa. Mudanças nas condições operacionais podem influenciar a atividade da biomassa. A longo prazo, microrganismos podem se adaptar às condições específicas do reator, podendo levar à uma seleção de cepas não tão eficientes, além da biomassa pode sofrer um declínio natural de sua atividade metabólica, resultando em uma redução da eficiência do sistema. (JONES et al, 2017; BROWN et al, 2019).

Moura (2014) avaliou um reator de leito estruturado com aeração intermitente (2 horas de aeração/1 hora sem aeração) utilizando esgoto sintético e TDH de 8 horas, e obteve 2,7 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹ de velocidade de nitrificação via N-NH₄⁺, 2,2 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹ de velocidade via N-NO₂⁻ e 3,8 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹ de velocidade de desnitrificação.

Outro estudo utilizando um reator semelhante foi de Santos (2014), que trabalhou com reator de leito estruturado e aeração intermitente operando com esgoto sintético em diferentes relações C/N. O autor obteve as velocidades de 5,48 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹, 4,97 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹ e 6,59 mgN.gSVV⁻¹.h⁻¹ para as reações de nitrificação via N-NH₄⁺, via N-NO₂⁻ e de desnitrificação, respectivamente.

Almeida (2016) avaliou o desempenho de um reator de leito fixo e fluxo ascendente (RLFFA) em escala de bancada submetido à baixa aeração e recirculação para o pós-tratamento do efluente de indústria de fabricação de ração animal, caracterizado por elevada carga de nitrogênio amoniacal. Na avaliação cinética da reação de nitrificação via N-NH₄⁺ o autor verificou que a reação teve ajuste de primeira ordem do modelo cinético e velocidade específica máxima para a nitrificação foi de 9,04 mgN.gSSV⁻¹.h⁻¹. O autor conclui que as condições operacionais do sistema inibiram o crescimento das bactérias oxidadoras de nitrito e favoreceu as oxidadoras de amônia

Os autores que apresentaram resultados semelhantes ao deste estudo, avaliaram sistemas para remoção simultânea de matéria orgânica e nitrogenada com aeração intermitente, porém neste estudo foi utilizado a mistura de esgoto bruto e efluente anaeróbico para realizar os ensaios, os quais são afluentes reais, enquanto outros estudos trabalharam com esgoto sintético.

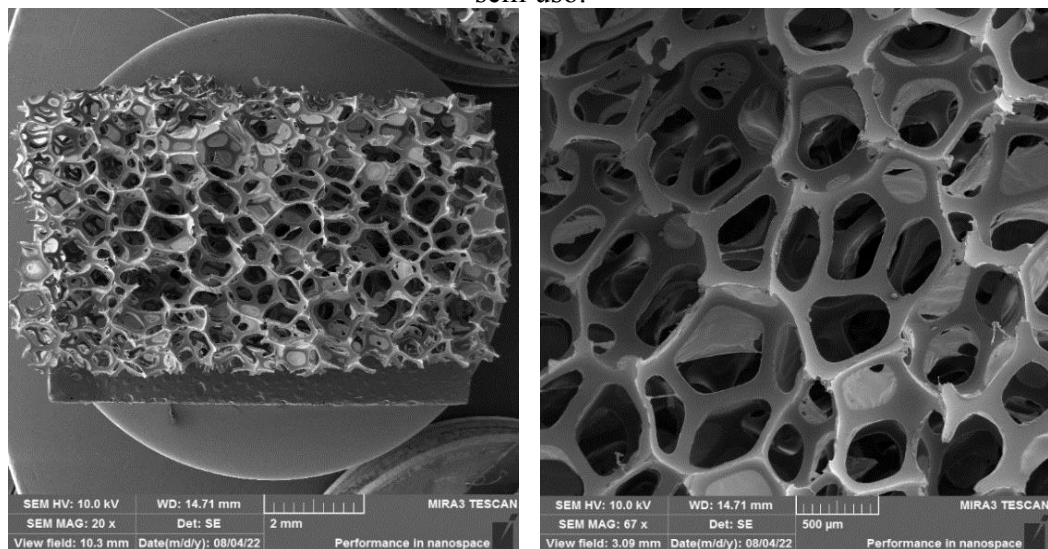
Outros autores relataram resultados de velocidade mais baixas que os encontrados neste trabalho também ao operar com efluentes não sintéticos. Lim et al. (2007) operaram um reator

com membrana e biomassa imobilizada para tratar esgoto sanitário e obtiveram velocidade de nitrificação de $1,2 \text{ mgN.gSVV}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Correa (2021) avaliou um reator de leito estruturado operado sob aeração intermitente, no tratamento de efluentes de laticínios e obteve $1,87 \text{ mgN.gSVV}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de velocidade de nitrificação.

5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens de microscopia eletrônica foram obtidas para avaliar a variedade microbiológica aderida ao meio suporte. As amostras foram coletadas após finalizar o estudo das três condições nos dois reatores. Na Figura 15 estão apresentadas as imagens do Mini Biobob[®] sem uso. A medição do diâmetro dos poros foi feita e obteve-se diâmetro médio dos mesmos de $376,07 \mu\text{m}$ e os espaços médios entre eles de $79,65 \mu\text{m}$.

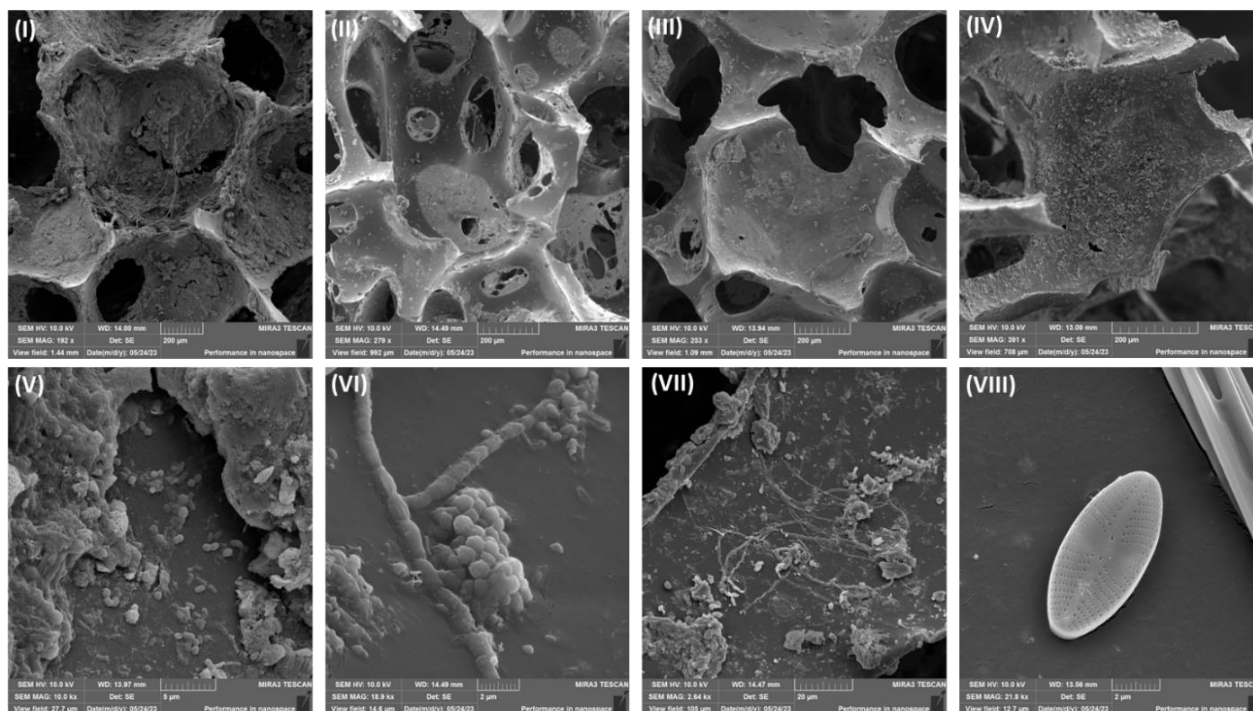
Figura 15 – Imagens da microscopia eletrônica de varredura das espumas dos Mini Biobobs[®] sem uso.



Fonte: O próprio autor, 2023.

Nas imagens de MEV é possível observar ao final do experimento um aumento da cobertura superficial das espumas dos Mini Biobobs[®], sendo encontrado estruturas semelhantes a bactérias nos formatos de cocos, bacilos e bactérias filamentosas, isoladas ou em colônias. Também foi possível identificar estruturas que se assemelham a fungos filamentosos e algas. Na Figura 16 estão apresentadas as imagens encontradas na análise de microscopia realizada.

Figura 16 - Imagens da microscopia eletrônica de varredura das espumas dos Mini Biobobs® dos reatores.



Legenda: I e IV – superfície da espuma do SFBR; II e III – superfície da espuma do PFBR; V – cocos e bacilos; VI - cocos e bacilos em colônia; VII - fungos filamentosos junto com cocos e bacilos e VIII – alga diatomácea.

Fonte: O próprio autor, 2023.

Avaliando visualmente, as imagens do SFBR apresentaram maior cobertura da superfície da espuma quando comparadas as imagens do PFBR, como observado nas Figuras 16-I a IV. As mesmas estruturas microbiológicas foram encontradas em ambos os reatores. Moura (2011), Santos (2014) e Santos (2019) operaram reatores utilizando a espuma de poliuretano como meio suporte, realizaram a análise de microscopia dos seus biofilmes e identificaram aglomerados de cocos semelhantes aos visualizados na Figura 16-V. Segundo os autores, a morfologia se assemelha a bactérias *Nitrosococcus*, gênero de bactérias que oxidam a amônia a nitrito (BARTOSSEK et al., 2021).

Na Figura 16-VII pode-se observar estruturas semelhantes a fungos, porém ao avaliar a superfície das espumas, a população de bactérias aderidas era bastante superior.

A visualização de algas nas amostras de biofilmes dos reatores é uma questão a se destacar, pois as algas podem desempenhar um papel na remoção de nitrogênio, através dos processos de assimilação e fixação. As algas podem absorver o nitrogênio presente no meio e utilizá-lo como nutriente para seu crescimento e desenvolvimento (HOWARTH et al., 2019; SMITH et al., 2019).

5.8 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

Na Tabela 12 estão apresentados os índices mitóticos (IM), de aberrações cromossômicas (IAC) e de mutagenicidade (IMUT) das células de *Allium cepa*, bem como o comprimento médio das raízes testadas no experimento, nas amostras de esgoto bruto, dos reatores de bancada e os controles positivo e negativo.

Tabela 12 - Valores de IM, IAC e IMUT das células de *Allium cepa* e o comprimento médio das raízes de cada tratamento

Tratamento	IM (%)	IAC (%)	IMUT (%)	Comprimento médio das raízes (cm)
Esgoto Bruto	1,4	0,22	0,02	1,12
SFBR	7,45	0,17	0	1,58
PFBR	6,91	0,15	0	1,72
Controle +	6,66	1,06	0,04	1,33
Controle -	3,77	0,24	0	1,17

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; FBR – Packed Fixed Bed Reactor.

Os resultados apresentados na Tabela 12 demonstram que o tamanho médio das raízes de cebola submetidas ao tratamento com esgoto bruto apresentou maior inibição de crescimento e menor comprimento. Por outro, lado as raízes submetidas ao efluente dos reatores, apresentaram maior crescimento, sendo 1,58 cm para o SFBR 1 e 1,72 cm para o PFBR. Da mesma forma podemos observar que o IM também apresentou maiores valores nos reatores (7,45 % para o SFBR e 6,91% para o PFBR) e o menor quando avaliado o ensaio com esgoto bruto (1,4%).

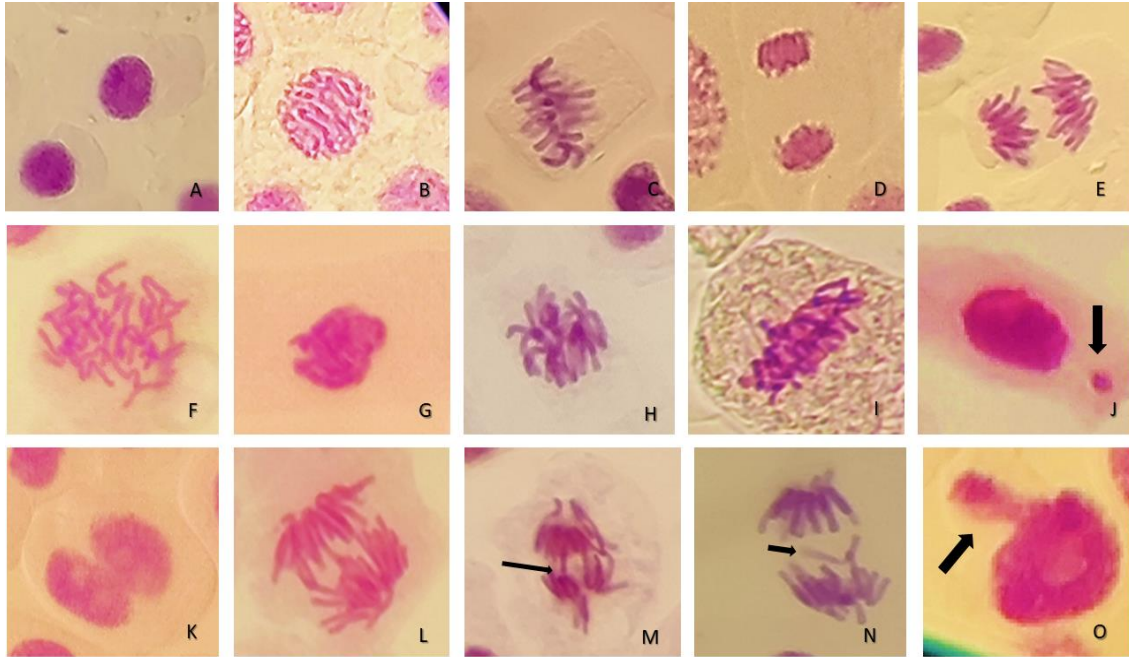
Pode-se levar em conta que o maior crescimento das raízes e o IM mais altos nos ensaios com as amostras dos efluentes dos reatores, pode ser devido a concentração de nitrato encontrada nessas amostras como visualizado na Tabela 5. O nitrato desempenha um papel importante no crescimento vegetal, é absorvido pelas raízes das plantas e transportado para as células, onde é reduzido para nitrito e, em seguida, convertido em amônia. A amônia é essencial para a síntese de aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados necessários para o crescimento e desenvolvimento vegetal. Além disso, o nitrato também desempenha um papel na regulação do crescimento celular, atuando como um sinalizador para a expressão de genes relacionados ao desenvolvimento (CRAWFORD e FORDE, 2002; KROUK et al., 2010).

Os valores apresentados na Tabela 12, mostram que existe uma redução na divisão celular no tratamento com esgoto bruto em relação ao tratamento dos reatores e controle negativo. A redução do IM ou seu aumento abrupto em relação ao controle negativo pode ocorrer devido a diversos fatores como: estresse intracelular causando danos ao DNA e impedindo que as células entrem em mitose, interferências negativas de substâncias tóxicas (inclusive metais pesados) presentes nos efluentes interferindo na síntese do DNA, problemas na formação de microtúbulos, deficiências na síntese de nucleoproteínas e nível reduzido de ATP para fornecer energia para o alongamento do fuso, dinâmica dos microtúbulos e movimentação cromossômica (LEME e MARIN-MORALES, 2009; HEMACHANDRA e PATHIRATNE, 2015; GUPTA et al., 2018; IQBAL et al., 2019).

Em relação ao IAC e IMUT, ambos apresentaram valores nos tratamentos de controle positivo (1,06 – 0,04) e esgoto bruto (0,22 – 0,02). Esses valores já eram esperados no controle positivo visto que o seu composto Trifluralina é um herbicida que contém diversas substâncias tóxicas ativas causam aberrações cromossômicas e anormalidades nucleares (CAMILO-COTRIM et al., 2022). Da mesma forma sabe-se que efluentes de esgotos sanitários apresentam misturas complexas constituídas por compostos altamente diversos, contando com resíduos industriais, tendo seus parâmetros físico-químicos alterados de acordo com a sua composição.

Nos resultados dos ensaios realizados com o esgoto bruto foi observado que este causou efeitos citotóxicos levando a alterações cromossômicas e mutações nas células da cebola. Neste tratamento, foram encontradas principalmente as alterações celulares C-metáfases, metáfase aderida, broto nuclear, ponte cromossômica e micronúcleo, ilustradas na Figura 17. Essas alterações também foram relatadas em ensaios realizados também com esgotos sanitários (LEME & MARIN-MORALES, 2009; IBEH e UMEHAM, 2018; KASSA, 2021).

Figura 17 - Células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*



A: interfase normal; B: Prófase normal; C: Metáfase normal; D: Telófase normal; E: Anáfase normal; F: C-metáfase; G: Metáfase aderida; H: C-metáfase; I: Metáfase poliplóide; J: Interfase com micronúcleo; K: célula Binucleada; L: Anáfase com ponte; M: Anáfase com ponte e cromossomos retardatários; N: Anáfase com quebra cromossômica; O: Interfase com broto nuclear.

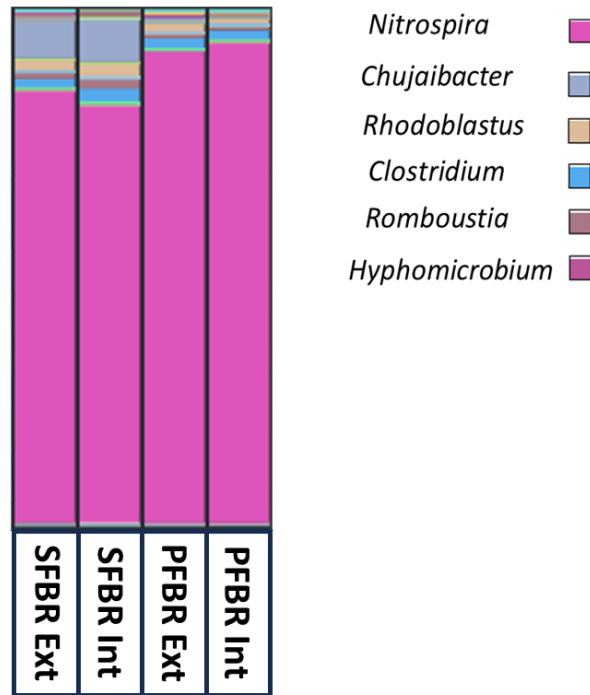
Fonte: Próprio autor, 2023.

O estudo realizado revela que o tratamento com os reatores causou uma diminuição no nível de ecotoxicidade proveniente do esgoto bruto, gerando um efluente tratado com índices significativamente menores de alterações à nível de DNA e índices maiores de crescimento celular.

5.9 ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA

A partir das sequências obtidas do gene ribossomal 16S rRNA das amostras de lodo pode-se constatar ao observar a diversidade microbiológica presente nos reatores estudados. Esta análise foi realizada para as amostras estudadas na Condição 3, a qual era composta por 25% esgoto bruto e 75% efluente anaeróbio. Na Figura 18 estão apresentados os principais gêneros encontrados nas amostras das espumas nas regiões externas e internas dos reatores SFBR e PFBR.

Figura 18 – Proporção da diversidade de gêneros encontrados nos reatores



Fonte: Próprio autor, 2023.

Legenda: SFBR – Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor

As amostras referentes aos Mini Biobobs® do SFBR geraram 52731 sequências para o lodo referente a parte interna da espuma e 51560 sequências para a parte externa da espuma. A análise mostra que a microbiota encontrada está dentro do Reino Bacteria (100%), majoritariamente nos Filos *Nitrospirae* (81,19 – 84,32%), *Proteobacteria* (11,86 – 13,06%) e *Firmicutes* (3,51 – 5,28%), respectivamente para a parte interna e externa da espuma. Os principais gêneros encontrados foram *Nitrospira* (81,19 - 84,32%), *Chujaibacter* (7,83 - 8,57%), *Rhodoblastus* (2,08 – 2,37%), *Clostridium* (1,61 – 2,50%), *Romboustia* (1,44 - 2,14%) e *Hyphomicrobium* (0,78 - 0,93%), novamente respectivamente na parte interna e externa da espuma.

Já as amostras referentes aos Mini Biobobs® do PFBR geraram 46845 sequências para o lodo referente a parte interna da espuma e 40469 sequências para a parte externa da espuma. A microbiota encontrada está dentro do Reino Bacteria (100%), majoritariamente nos Filos *Nitrospirae* (91,84 – 93,07%), *Proteobacteria* (2,56 - 4,21 %) e *Firmicutes* (3,31 – 3,44%) respectivamente parte interna e externa da espuma. E os principais gêneros foram *Nitrospira* (91,84 – 93,70%), *Rhodoblastus* (0,91 – 1,54%), *Clostridium* (1,77 – 1,90%), *Romboustia* (1,04 - 1,08%) e *Hyphomicrobium* (0,50 - 0,96%), (parte interna da espuma – parte externa da

espuma). Os outros gêneros detectados apresentaram um percentual menor que 0,2%, não sendo relevantes na atividade microbiana nos reatores.

Na Tabela 13 estão apresentadas as informações sobre as funções bioquímicas dos principais gêneros de bactérias encontrados nas amostras.

Tabela 13 - Características dos gêneros com maior abundância nas amostras de espuma interna e externa dos reatores SFBR e PFBR

Gênero	Receptores de elétrons			Fonte de carbono		Referência
	Oxigênio	Nitrito	Nitrato	Heterotróficos	Autotróficos	
<i>Nitrospira</i>	+	+	-	-	+	Daims et al (2015)
<i>Chujaibacter</i>	+	-	+	+	-	Kim et al (2015)
<i>Rhodoblastus</i>	-	-	+	+	+	Imhoff (2001) e Chen et al (2022)
<i>Clostridium</i>	-	-	+	+	-	Zhao et al (2016)
<i>Romboutsia</i>	-	-	+	+	-	Gerritsen et al (2019)
<i>Hyphomicrobium</i>	-	-	+	+	-	Oshiki et al. (2016)

Os gêneros *Clostridium*, *Romboutsia* e *Hyphomicrobium* são anaeróbios. Bactérias do gênero *Rhodoblastus* podem ser heterotróficas sob condições anóxicas, ou podem apresentar crescimento autotrófico sob condições anóxicas com o hidrogênio como doador de elétrons. Esse gênero é capaz de promover a desnitrificação, assim como o gênero *Hyphomicrobium* (MARTINEU et al, 2015; CHEN et al, 2022). *Clostridium* geralmente está associado a sistemas anaeróbios ou com aeração intermitente e também está relacionado à remoção de nitrogênio, pelo processo de desnitrificação (NIU et al., 2018; SOUZA et al., 2020; FRANZONI et al., 2021).

Dos 6 gêneros mais relevantes encontrados na análise metataxonômica, 5 deles são heterotróficos. Como o sistema também apresentava remoção de matéria orgânica, era esperado o desenvolvimento destes microrganismos. Devido ao regime de aeração intermitente, foi possível encontrar gêneros aeróbios, aeróbios facultativos e anaeróbios coexistindo.

O gênero mais abundante dentre a diversidade encontrada em ambos os reatores (partes internas e externas dos minis Biobobs[®]) foi o *Nitrospira*, sendo bastante relatado na literatura como um dos principais gêneros bacterianos encontrados em sistemas de tratamento de esgoto (REN et al., 2020; LATOCHESKI et al., 2022; CUI et al., 2023). Dentro do contexto da remoção biológica do nitrogênio, os representantes do gênero *Nitrospira* são geralmente

classificados como bactérias nitrificantes, nesse caso especificamente bactérias oxidadoras de nitrito (BON). Este gênero também possui a capacidade de realizar a nitrificação completa através do mecanismo Comammox (Complete Ammonia Oxidizing), no qual ocorre oxidação completa da amônia a nitrato via nitrito (CHEN et al., 2022; MEI et al., 2023).

Daims et al. (2015) relatam diversas pesquisas citando que o microrganismo codifica ambas as vias de oxidação da amônia e do nitrito, as quais são expressas concomitantemente durante seu crescimento pela oxidação da amônia em nitrato. Um organismo que pode também realizar a nitrificação completa produziria mais energia, assim, poderia ter vantagens de crescimento sobre as bactérias oxidantes de amônia e as bactérias oxidantes de nitrito (COSTA et al., 2006).

Os resultados encontrados que indicam a abundância do gênero *Nitrospira* em ambos os reatores são condizentes com as condições físico-químicas encontradas na Condição 3 deste estudo. Na qual a etapa de nitrificação teve uma boa eficiência, cerca de 82,6% para SFBR e 84,6% para PFBR, explicando a dominância deste microrganismo no biofilme.

O gênero *Chujaibacter* apresentou a segunda maior porcentagem e presente apenas nas amostras do SFBR. Rodrigues-Sanchez et al. (2018) relataram pela primeira vez a presença do gênero em sistemas de tratamento de esgoto, sugerindo uma função importante na ciclagem de nitrogênio através da degradação aeróbica da matéria orgânica. Outros autores reafirmam a sua relevância relacionando o gênero a seu potencial de oxidação de amônio, desnitrificação, decomposição de compostos orgânicos sulfurados, mineralização e fixação de nitrogênio. (RODRIGUEZ-SANCHEZ et al., 2018; HAO et al., 2021; ZHANG et al., 2022; PRASEDYA et al., 2022).

Wang et al. (2022) estudando um reator multicâmaras contínuo de fluxo pistonado com biofilmes fixos, contendo câmaras aeróbicas e anóxicas, identificaram que os gêneros *Chujaibacter* e *Nitrospira* foram dominantes nas câmaras aeróbicas. Os autores trataram tanto esgoto sintético quanto real e atribuíram a nitrificação ao gênero *Nitrospira*. Sato et al. (2021) avaliaram dois reatores separados, um para amonificação e outro para nitrificação, no reator em que ocorreu a nitrificação foi encontrado dominância do gênero *Nitrospira* e relataram que este microrganismo encontrado realiza o processo Comammox. Os autores também realizaram uma análise de co-ocorrência microbiana, para avaliar interações interespecíficas entre a microbiota do reator e identificaram uma interação positiva entre *Nitrospira* e *Chujaibacter*.

Algumas espécies de *Hyphomicrobium* estão envolvidas na desnitrificação, sendo encontradas em estações de tratamento de esgoto e sua presença pode estar associada a altas taxas de desnitrificação (OSHIKI et al., 2016; MARTINEU et al., 2015). Assim como os

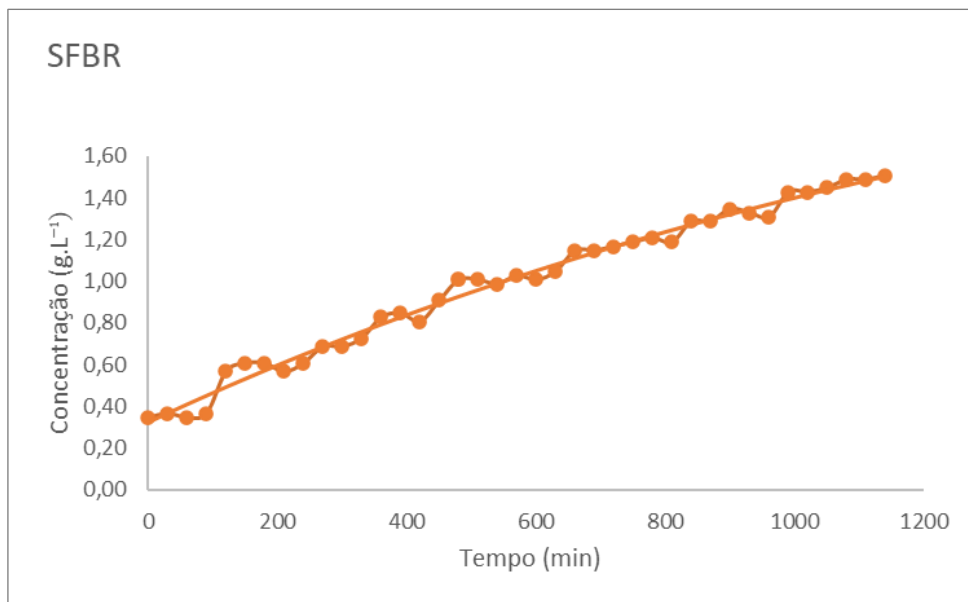
gêneros *Clostridium*, *Rhodoblastus* e *Romboutsia* são relatados como atuantes nesta etapa de remoção de nitrogênio. Porém de acordo os resultados obtidos na Condição 3, a desnitrificação foi insuficiente, apresentando eficiente média de 27,4% para o SFBR e 28,9% para o PFBR.

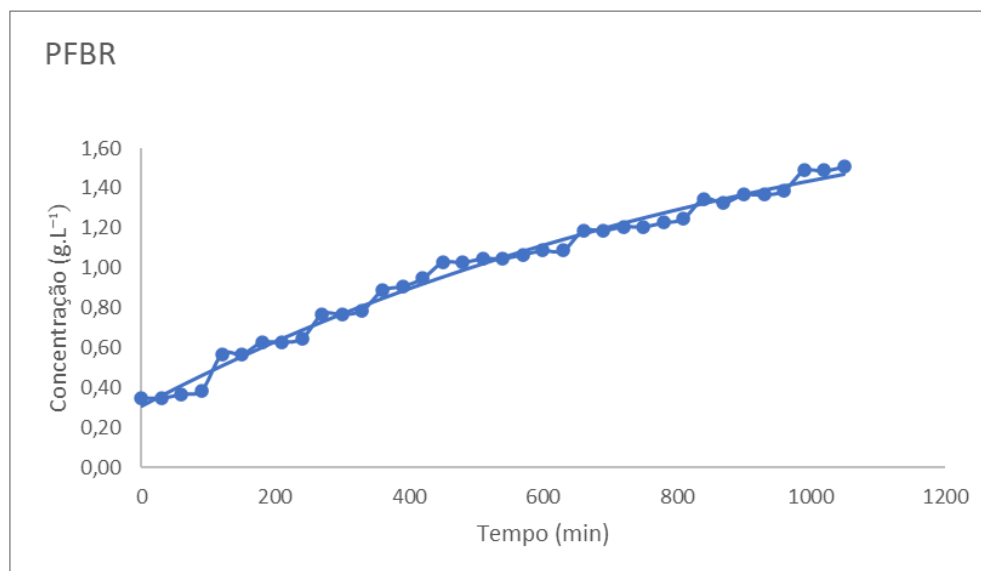
Sabe-se que a desnitrificação é um processo dependente de matéria orgânica, e na Condição 3, a qual era composta por 25% EB e 75% EU, não havia quantidade suficiente de matéria orgânica para o possível desenvolvimento das espécies heterotróficas desnitrificantes, por isso observamos uma baixa proporção da diversidade dessas espécies representadas por *Chujaibacter* e demais gêneros encontrados em pequenas proporções (*Rhodoblastus*, *Clostridium*, *Romboutsia*, *Hypomicrobium*, entre outros).

5. 10 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS

Na Figura 19 estão apresentadas as curvas (C) com e sem ajuste das concentrações da solução salina traçadora em relação ao tempo, dos ensaios realizados para SFBR e para PFBR.

Figura 19 – Curvas de concentração versus tempo para os reatores.





Legenda: SFBR - Structure Fixed Bed Reactor; PFBR – Packed Fixed Bed Reactor.
 Fonte: O próprio autor.

Na Tabela 14 estão apresentados os valores de tempo de detenção hidráulica teórica, tempo de detenção hidráulica média, número de reatores em série, volume ativo e volume morto de ambos os reatores.

Tabela 14 - Resultados de tempo de detenção hidráulica médio, número de reatores em série, volume ativo e morto obtidos nos reatores.

Reator	TDHt (h)	TDHm (h)	N	Va (mL)	Vm (mL)
SFBR	10	6,56	1,68	328	172
PFBR	10	5,72	1,56	286	214

TDHt: tempo de detenção hidráulica teórico, TDHm: tempo de detenção hidráulica médio, Va: volume ativo e Vm: volume morto.

Avaliando os valores obtidos de N, dois modelos de escoamento podem ser determinados. Considerando que N seja igual ou próximo a 1, o reator pode ser considerado de escoamento de mistura completa (CSTR). À medida que o valor de N aumenta, a mistura completa diminui, e o número de unidades em série aumenta. Valores de N superiores a 10 e que tendem ao infinito, aproximam-se de um modelo de fluxo pistonado (RFP) (VON SPERLING et al., 2020; OLIVEIRA, 2020).

Nos dois reatores estudados os valores de N ficaram próximo de 1, indicando que ambos podem ser considerados de mistura completa. Esse modelo de escoamento pode ter ocorrido devido ao regime de aeração intermitente empregado. Acredita-se que a potência da aeração nos intervalos em que o reator estava sob regime aerado foi eficiente para homogeneizar todo

o volume útil do reator. Nesses intervalos, é possível observar um acréscimo significativo na concentração da solução salina traçadora, como apresentado no gráfico sem ajuste na Figura 19. Enquanto que nos intervalos sem aeração, é possível visualizar uma fase estacionária ou um acréscimo mais lento na concentração.

Oliveira (2020) estudou a hidrodinâmica de um reator piloto com leito empacotado de Biobobs® determinou que o reator operou em fluxo pistonado, porém o fluxo de aeração era contínuo. Rubicki (2022), também avaliou a hidrodinâmica de um reator empacotado de Mini Biobobs® em fase aerada e não aerada em diferentes TDHs e taxas de recirculação. O autor observou que com a aplicação da aeração o valor de N aumentou quando comparado com as fases sem aeração. Segundo Moura (2018) a aeração introduz bolhas de ar que podem afetar o grau de mistura do reator.

Aquino (2017) avaliou dois reatores anaeróbios, um de leito estruturado e outro de leito compactado, no início e fim da operação. Inicialmente, os reatores apresentaram um comportamento de fluxo pistonado ($N > 10$) e TDHm próximo ao TDHt. Ao final da operação, ambos os reatores apresentaram diminuição do valor de N e do TDHm, segundo o autor esta situação pode ser justificada pelo aparecimento de zonas mortas, que podem estar relacionadas a falta de mistura no sistema devido a compactação do lodo.

Analisando os valores de TDH médios obtidos, podemos observar que o reator empacotado apresentou um TDH menor (5,72 h) que o reator de leito ordenado (6,56 h). Ambos os reatores apresentaram um TDH menor que o TDH teórico, o qual era de 10 horas. Segundo Oliveira (2020), o que pode contribuir para a redução do TDH real é a formação de zonas mortas no interior do reator. Essas zonas ocorrem devido a existência de caminhos preferenciais no escoamento, algumas regiões tem o percurso facilitado para o líquido, enquanto outras não participam efetivamente no processo de conversão principal. O aparecimento das zonas mortas é mais usual em reatores de leito empacotado devido à disposição aleatória do material suporte (RIBEIRO, 2007; ALBERTINI et al., 2012).

A configuração aleatória dos Mini Biobobs® resultou em um volume morto maior quando comparado com a distribuição ordenada (Tabela 14). Porém ao avaliar os resultados das eficiências de remoção de nitrogênios nas condições estudadas, não foi encontrado diferença significativa entre os reatores.

Pode-se concluir que, por ter cerca de 8,4% a mais de volume morto, o reator empacotado foi mais eficiente, pois atingiu os mesmos resultados na remoção de nitrogênio do que o reator ordenado. Possivelmente, os Mini Biobobs® na configuração empacotada, possibilite que o afluente entre mais em contato com as espumas no interior do material suporte,

pois todas as suas áreas estão livres no interior do reator. Enquanto que na configuração ordenada, apenas as laterais da espuma entram em contato com a afluyente.

5.11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os reatores avaliados neste estudo, com diferentes distribuições dos Mini Biobobs[®], um sendo leito empacotado e outro leito estruturado, atingiram bons resultados de remoção de matéria orgânica e nitrogenada. Analisando os resultados das análises físico-químicas, foi constatado que não houve diferença significativa entre os dois tipos de leito. Ambos os reatores tiveram os melhores resultados de remoção de nitrogênio quando operados na condição 2, a qual era composta por 75% EB e 25% EU. O PFBR apresentou 74% de redução de DQO e 73,3% remoção de NT, e o SFBR também obteve 74% de redução de DQO e 70,8% de remoção de NT. Nas outras duas condições estudadas, os reatores também apresentaram resultados semelhantes.

Nos ensaios cinéticos, novamente não houve diferença entre os dois reatores, assim como nas análises de MEV e na análise de ecotoxicidade. Nos dois reatores foram visualizadas as mesmas estruturas microbiológicas, bactérias no formato de cocos e bacilos. E ambos os reatores tiveram resultados próximo de IM e IAC, sendo o IM de 7,45% e 6,91%, respectivamente para o SFBR e PFBR e 0,17% e 0,15% para o IAC.

Na análise metataxonômica, o gênero *Nitrospira* foi predominante em ambos os reatores. Da microbiota encontrada, 82,75% era composta por *Nitrospira* no reator SFBR e 92,45% no reator PFBR. Tal bactéria está associada à nitrificação e corrobora com os resultados físico-químicos obtidos para os reatores na condição 3. Um gênero de bactérias estava presente apenas em um dos reatores, sendo o gênero *Chujaibacter*, compondo 8,20% da microbiota analisada no reator SFBR. Esta e as outras bactérias que foram identificadas em baixas proporções (*Rhodoblastus*, *Clostridium*, *Romboutsia*, *Hypomicrobium*) estão associadas a desnitrificação, a qual foi a etapa limitante.

A diferença identificada entre os reatores foi nos ensaios hidrodinâmicos, ambos os reatores apresentaram TDH real menor que o TDH teórico, o qual era de 10 h, sendo que o SFBR apresentou um TDHm de 6,56 h, valor menor que o obtido para o PFBR, o qual foi de 5,72 h. Dessa forma, o PFBR tinha volume útil menor que o SFBR, e mesmo com menor volume útil obteve os mesmos resultados de remoção de matéria orgânica e nitrogenada, concluindo que este reator foi mais eficiente.

6 CONCLUSÃO

Os reatores de bancada avaliados neste estudo promoverem a remoção de matéria orgânica e nitrogênio, nas duas configurações: ordenado e empacotado. Os dois reatores foram eficientes para redução de DQO, nas três condições estudadas os valores de DQO de efluente estavam dentro dos padrões vigentes exigidos pelo órgão ambiental. A Condição 1 (50 % EB/50 % EU) foi a que apresentou os melhores resultados para remoção de matéria orgânica, atingindo valores acima de 80%.

A diferente disposição dos meios suportes não interferiu na redução de DQO e de NT, apesar do PFBR apresentar melhores resultados. Em relação a remoção de nitrogênio, o destaque se deu na Condição 2 (75 % EB/25 % EU), apresentando resultados de remoção de NT de 70,8% e 73,3%, no PFBR e SFBR, respectivamente.

As imagens obtidas pelo MEV indicam que ocorreu colonização nos poros das espumas do meio suporte, podendo identificar estruturas semelhantes a bactérias nos formatos de cocos, bacilos e bactérias filamentosas, isoladas ou em colônias.

Nos ensaios de ecotoxicidade, constatou-se que o esgoto bruto comprometeu o crescimento das raízes e a replicação celular, comprovando a toxicidade deste ao crescimento e desenvolvimento de diversos organismos vivos. O tratamento do afluente nos reatores resultou em ensaios com poucas células com algum tipo de anomalia, possibilitaram o crescimento de raízes de cebola dentro do esperado e diminuíram os índices de aberrações e mutagenicidade.

A partir das análises de sequenciamento genético realizadas, pode-se confirmar os resultados encontrados na Condição 3. A maior proporção de sequências de bactérias encontradas pertence ao gênero *Nitrospira*, bactérias autotróficas responsáveis pelo processo de nitrificação. Por outro lado, sequências de bactérias heterotróficas desnitrificantes apareceram em baixas proporções, explicando a baixa taxa de desnitrificação nesta etapa.

Os ensaios hidrodinâmicos demonstraram que em ambos os reatores o TDHm foi menor que o TDHt devido a formação de zonas mortas no leito dos reatores. O PFBR apresentou menor volume útil quando comparado ao SFBR, mas obteve os mesmos resultados de remoção de nitrogênio, justificando que o leito empacotado foi mais eficiente.

Por fim, em ambos os reatores, afluente com razão 75/25 entre esgoto bruto e efluente anaeróbio foi a que apresentou melhores resultados de remoção de nitrogênio, possibilitando um pós-tratamento, visando a remoção de nitrogênio, assim como a possibilidade de aumento da capacidade de tratamento da ETE.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, C.; NAKHLA, G.; BASSI, A. A novel two-stage MBR denitrification process for the treatment of high strength pet food wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v.129, n.1-3, p.194-203, 2006.
- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1709-1721, 2006.
- ALBERTINI, A.V.P.; REIS, A.L.S.; TELES, F.R.R.; SOUZA, J.C.; ROLIM FILHO, J.L.; FREIRE, V.N.; SANTOS, R.P.; MARTINS, J.L.; CAVADA, B.S.; MARTINS, D.B.G.; MARTÍNEZ, C.R.; FILHO, J.L. The New Flow System Approach in Packed Bed Reactor Applicable for Immobilized Enzyme. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.l.], v. 79, p. 1-7, 2012.
- ALMEIDA, R. G. B.; SANTOS, C. E. D. dos; LÜDERS, T. C.; DEL NERY, V.; LEAL, C. D.; PEREIRA, A. D.; ARAÚJO, J. C.; DAVENPORT, R. J.; BARANA, A. C.; LOPES, D. D.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a structured-bed reactor treating animal feed processing wastewater: Inhibitory effects and bacterial community. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 133, p.108-115, set. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.019>.
- ANA. Agência Nacional de Águas. **Atlas Esgoto**, 2022. Disponível em: <http://www.snirh.gov.br/porta1/snirh/snirh-1/atlas-esgotos>.
- APHA. American Public Health Association, AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 th. Edition, Washington, 1998.
- AQUINO, S. de. **Biodigestão Anaeróbia de Vinhaça em Reatores de Leito Fixo Empacotado e Estruturado**. Tese (Doutorado) Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.
- AZEVEDO, C. S.; CORREA, C. Z.; LOPES, D.D.; PESCIM, R. R.; PRATES, K. V. M.C.; BARANA, A.C. Aeration and non-aeration cycles (AE/NA) time: influence in combined organic matter and nitrogen removal and features of biofilm. **Environmental Technology**, fev. 2021. <https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1882583>.
- BARANA, A. C.; LOPES, D. D.; MARTINS, T. H.; POZZI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; DEL NERY, V.; FORESTI, E. Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for post-treatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 453-459, 2013.
- BARRON, M. G.; CARLS, M. G.; HEINTZ, R.; RICE, S. D.; SANDHEINRICH, M. B. Evaluation of Fish Early Life-Stage Toxicity Models of Chronic Exposure to Complex Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Mixtures. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 899-912, 2010. doi: 10.1002/etc.109
- BARTOSSEK, R., NICOL, G. W., LANZEN, A., & KLENK, H. P. The ammonia-oxidizing bacteria comammox: emerging players in nitrogen cycling. **Trends in Microbiology**, v.29, p.769-779, 2021.

BHATIA, S., SONAWANE, S. S., JHA, M. K. Packed bed reactors: design and applications. **Chemical Engineering Communications**, v. 201, n.5, p. 605-661, 2014.

BRAMUCCI, M; KANE, H.; CHEN, M.; NAGARAJAN, V. Bacterial diversity in an industrial wastewater bioreactor. **Appl Microbiology Biotechnology**. v. 62, p. 594-600, 2003.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. 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 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. **Diário Oficial da União**: nº 92, Brasília, D.F, p. 89, 16 mai. 2011. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>.

BROWN, A. L., et al. Temperature and pH Effects on Microbial Biomass Characteristics in Industrial Bioreactors *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 112, n.11, p. 4579-4592, 2019.

CALDERÓN, K.; RODELAS, B.; CABIROL, N.; GONZALES-LOPES, J.; NOYOLA, A. Analysis of microbial communities developed on the fouling layers of a membrane-coupled anaerobic bioreactor applied to wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4618–4627, 2011.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, Á. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems : A global assessment. **Environment International**, v. 32, p. 831–849, 2006.

CAMILO-COTRIM, C. F.; BAILÃO, E. F. L. C.; ONDEI, L. S.; CARNEIRO, F. M. & ALMEIDA, L. M. What can the *Allium cepa* test say about pesticide safety? A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 32, p. 48088-48104, 2022.

CAMPOS, L. E. F.; PETTER, C. O.; KAUTZMANN, R. M. Filtro anaeróbico: uso de resíduos de construção como material suporte. **Revista de Ciências Ambientais**, v.2, n.1, p.5-13, 2008.

CARMONA, M. J. C.; AULER, J. O. C. Jr. Óxido Nítrico: Emprego na Prática Médica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.44:, n.5, p.321 - 330, 2004.

CASTRO E SOUSA, J. M.; PERON, A. P.; SILVA E SOUZA, L.; HOLANDA, M. M.; LIMA, A. M. V.; OLIVEIRA, V. A.; SILVA, F. C. C.; LIMA, L. H. G. M.; MATOS, L. A.; DANTAS, S. M. M. M.; AGUIAR, R. P. S.; ISLAM, M. T.; MELO-CAVALCANTE, A. A. C.; BONECKER, C.C; JÚLIO JUNIOR, H, F. Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, p. 301, 2017. <https://link-springercom.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s10661-017-6015-2#citeas>.

CHAN, Y. J.; CHONG, M. F.; LAW, C. L.; HASSELL, D.G. A review on anaerobic–aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v.155, n.1-2, p.1-18, 2009.

CHEN, S.; LING, J.; BLANCHETON, J-P. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. **Aquacultural Engineering**. v. 34, p. 179–197. 2006

CHEN, W.; TSAIB, C.; CHENG, S.; SUNG, S.; LIN, J. Treatment of campus domestic wastewater using ambient-temperature anaerobic fluidized membrane bioreactors with zeolites as carriers. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 136, n. September 2018, p. 49–54, 2019.

CHEN, Y.; LUO, J.; YAN, X.; CHEN, Y.; LI, R.; NI, J. Advances in nitrogen removal from wastewater: a review of recent developments. **Journal of Cleaner Production**, v. 186, p. 639–652, 2018.

CHEN, Y.; ZHANG, L.; DING, L.; ZHANG, Y.; WANG, X.; QIAO, X.; PAN, B.; WANG, Z.; XU, N.; TAO, H. Sustainable treatment of nitrate-containing wastewater by an autotrophic hydrogen-oxidizing bacterium. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 9, p. 100146, 2022.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores Anaeróbios**. v. 5, 2ª ed. Ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

CLIPPELEIR, H. DE; YAN, X.; VERSTRAETE, W.; VLAEMINCK, S.E. OLAND is feasible to treat sewage-like nitrogen concentrations at low hydraulic residence times. **Environmental Biotechnology**, v. 90, p. 1537–1545, 2011.

CORREA, A.; DALLAGO, R. M.; UMBUZEIRO, G. D. A.; FIGUEROA, R. A.; ZANONI, M. V. B. Evaluation of Ozonation Process Efficiency for the Treatment of Effluents from Kraft Pulp Mill. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 120, p. 52–58, 2015. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.05.019

CORREA, C. Z. **Remoção de matéria carbonácea e nitrogenada de efluente de laticínios em reator de leito estruturado operado sob aeração intermitente**. P. 178. Tese (Doutorado). Departamento de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

CORREA, C. Z.; PRATESA, K.V.M.C.; OLIVEIRA, E. F.; LOPES, D.D.; BARANA, A. C. Nitrification/denitrification of real municipal wastewater in an intermittently aerated structured bed reactor. **Journal of Water Process Engineering**, v. 23, p. 134–141, 1 jun. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.03.013>.

COSTA, E.; PEREZ, J.; KREFT, J.U. Why is metabolic labour divided in nitrification? **Trends in Microbiology**, v. 14, p. 213–219, 2006.

CRAWFORD, N. M.; FORDE, B. G. Molecular and developmental biology of inorganic nitrogen nutrition. **Arabidopsis Book**. v. 1, p. e0011, 2002. doi: 10.1199/tab.0011

CUI, F.; KIM, M.; KIM, M. An innovative U-shaped sludge bed anammox process for nitrogen removal. **Journal of Environmental Management**, v. 226, n. March, p. 437–447, 2018.

DAIMS, H., LEBEDEVA, E. V., PJEVAC, P., HAN, P., HERBOLD, C., ALBERTSEN, M., WAGNER, M. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature*, v. 528(7583), p. 504–509, 2015.

DAPENA-MORA, A.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; JETTEN, M. S. M.; MENDEZ, R. Stability of the anammox process in a gas-lift reactor and a sbr. **Journal of Biotechnology**, v. 110, n. 2, p. 159-170, 2004.

DINÇER, A. R.; KARGI, F. Kinetics of sequential nitrification and denitrification processes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, p. 37-42, 2000.

DING, F.; LIANG, D.; WU, Y.; LI, D.; BIAN, W.; LI, J. Effect of C/N on partial nitrification in an MBBR at low temperature. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v.6, p. 3391–3399, 2020. <https://doi.org/10.1039/d0ew00654h>.

DUARTE, N. C. **Efeito da concentração de matéria orgânica na desnitrificação em reator de leito empacotado e UASB**. Dissertação. Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Campinas, SP, 2018.

DU, R.; PENG, Y.; CAO, S.; WNAG, S.; WU, C. Advanced nitrogen removal from wastewater by combining anammox with partial denitrification. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 497–504, 2015.

FERREIRA, E. S. **Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica**. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 27. 2000, Porto Alegre. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2000.

FIGUEROA, M.; VÁZQUEZ-PADÍN, J. R.; MOSQUERA-CORRAL, A. CAMPOS, J. L.; MENDEZ, R. Is the CANON reactor an alternative for nitrogen removal from pre-treated swine slurry ? **Biochemical Engineering Journal**, v. 65, p. 23–29, 2012.

FRANZONI, R. M. Influência Da Oxigenação E Adição De Fonte Externa De Carbono na Remoção de Nutrientes e Contaminantes Emergentes em Sistema Biológico AOA. Dissertação (Mestrado). Engenharia Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2021.

FROMENT, G. F.; BISCHOFF, K. B.; DE WILDE, J. *Chemical Reactor Analysis and Design*. Wiley, 2011.

GALI, A.; DOSTA, J.; VAN LOSSDRECHT, M. C. M.; MAA-ALAVREZ, J. Biological Nitrogen Removal via Nitrite of Reject Water with a SBR and Chemostat SHARON / Denitrification Process. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.45, p. 7656–7660, 2006.

GARCIA, M. L.; LAPA, K. R.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Effects of bed materials on the performance of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor treating domestic sewage. **Journal of Environment Management**. v. 88, p. 1471–1477, 2008.

GERRITSEN, J.; HORNUNG, B.; RITARI, J.; PAULIN, L.; RIJKERS, G. T.; SCHAAP, P. J. A comparative and functional genomics analysis of the genus *Romboutsia* provides insight into adaptation to an intestinal lifestyle. **BioRxiv** [Preprint]. 10.1101/84551, 2019.

GOLDONI, A.; GOLFETO, C.; TEIXEIRA, J.; BLUMM, G.; WILHELM, C.; TELÖKEN, F.; BIANCHI, E.; SCHIMITT, J.; GEHLEN, G.; RODRIGUES, M.; SILVA L. Cytotoxic and

genotoxic evaluation and chemical characterization of sewage treated using activated sludge and a floating emergent-macrophyte filter in a municipal wastewater treatment plant: a case study in southern brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 72, n. 5, p. 1503-1509, 2014.

GÓMEZ-SILVÁN, C.; MOLINA-MUÑOZ, M.; POYATO, J.M.; RAMOS, A.; HONTORIA, E.; RODELAS, B.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. Bioresource Technology Structure of archaeal communities in membrane-bioreactor and submerged-biofilter wastewater treatment plants. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 7, p. 2096–2105, 2010.

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; POYATOS, J. M.; HONTORIA, E.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; OSORIO, F. Treatment of effluents polluted by nitrogen with new biological technologies based on autotrophic nitrification- denitrification processes. **Recent Pat Biotechnology**, v.5, n. 2, p. 74–84, 2011.

GONZÁLEZ-MARTINEZ, A.; CALDERÓN, K.; ALBUQUERQUE, A.; HONTORIA, E.; GONZÁLES-LÓPEZ, J.; GUIADO, I. M.; OSORIO, F. Biological and technical study of a partial-SHARON reactor at laboratory scale: effect of hydraulic retention time. **Bioprocesses Biosystem Engineering**. V.36, p. 173-184, 2013

GROSS, E. Curso Teórico Prático de Técnicas em Microscopia Eletrônica. **Apostila Técnica**. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2014.

GU, Y.; LI, T.; LI, H. Biofilm formation monitored by confocal laser scanning microscopy during startup of MBBR operated under different intermittent aeration modes **Process Biochemistry**, v. 74, p. 132-140, 2018.

GUPTA, K., MISHRA, K., SRIVASTAVA, S. & KUMAR, A. (2018). Cytotoxic assessment of chromium and arsenic using chromosomal behavior of root meristem in *Allium cepa* L. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 100, p. 803-808.

HAO, D. C.; WANG, L.; GAO, W.; XIE, H.; BAO, X.; JIA, Z. & WANG, L. Disentangling Effects of Moisture/gas Regimes on Microbial Community, Network Configuration and Nitrogen Turnover of Black Soil. **Eurasian Soil Science**, v. 54, n. Suppl 1, p. S42-S61, 2021.

HELLINGA, C.; SCHELLEN, A. A. J. C.; MULDER, J. W.; LOOSDRECHT, M. C. M. van; HEJNEM, J.J. The sharon process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 9, p. 135-142, 1998.

HEMACHANDRA, C. K.; PATHIRATNE, A. Assessing Toxicity of Copper, Cadmium and Chromium Levels Relevant to Discharge Limits of Industrial Effluents into Inland Surface Waters Using Common Onion, *Allium cepa* Bioassay. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. New York, v. 94, n. 2, p. 199–203, 2015.

HENDRICKX, T. L. G.; WANG, Y.; KAMPMAN, C.; ZEEMAN, G.; TEMMINK, H.; BUISMAN, C.J.N Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature. **Water Research**, v. 46, n. 7, p. 2187–2193, 2012.

HER, J.; HUANG, J. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. **Bioresource Technology**, v. 54, n. 1, p. 45–51, 1995.

HIBIYA, K.; TERADA, A.; TSUNEDA, S.; HIRATA, A. Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor. **Journal of Biotechnology**, v. 100, p. 23-32, 2003.

HIEN, N. N. et al. International Biodeterioration & Biodegradation Application of Oxygen Limited Autotrophic Nitritation / Denitrification (OLAND) for anaerobic latex processing wastewater treatment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 45-55, 2017.

HOWARTH, R. W.; MARINO, R.; COLE, J. J. Nitrogen as the dominant nutrient for eutrophication in freshwater ecosystems: sources, impacts, and management strategies. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 1198-1215, 2019.

HU, Z.; LI, Y.; HUANG, L.; LI, X.; ZHANG, Y. Impact of ammonia concentration on the anammox process: An overview. **Bioresour. Technology**, v. 192, p. 402-409, 2015. doi: 10.1016/j.biortech.2015.05.086.

IBEH, O. O.; UMEHAM, S. N. Genotoxicity assessment of three industrial effluents using the *Allium cepa* bioassay. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 3, p. 115-122, 2018.

IANNACONE, F. ; CAPUAB, F. DI; GRANTA, F. GARGANO, R.; PIROZZIB, F. ESPOSITO, G. Effect of carbon-to-nitrogen ratio on simultaneous nitrification denitrification and phosphorus removal in a microaerobic moving bed biofilm reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 250, n. September, p. 109518, 2019.

PARANÁ. **Portaria nº 1045/2020**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes da ETE Iapó. Instituto De Água E Terra - IAT; Paraná: Sanepar, 2020.

IQBAL, M.; ABBAS, M.; NISAR, J.; NAZIR, A. & QAMAR, A. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1-80, 2019.

IMHOFF, J. F. Transfer of *Rhodopseudomonas acidophila* to the new genus *Rhodoblastus* as *Rhodoblastus acidophilus* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 1863-1866, 2001.

ISAKA, K.; DATE, Y.; SUMINO, T.; YOSHIE, S.; TSUNEDA, S. Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtered reactor. **Biotechnological Products and Process Engineering**, v. 70, p. 47-52, 2006.

JENZURA, N. T.; WENDLING, A. C.; ZIELINSKI, A.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; BARNA, A.C. Prediction of total nitrogen removal in a structured-bed reactor for secondary and tertiary treatment of sanitary sewage. **Desalination and Water Treatment**, v. 126, p. 144-150, 2018.

JONES, M. P., et al. Long-Term Operation of Bioreactors: Impacts on Microbial Diversity and System Stability. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 1102, 2017.

JOSS, A.; SALZGEBER, D.; EUGSTER, J.; KONIG, R.; ROTTERMANN, K.; BURGER, S.;

FABIJAN, P.; LEUMANN, S.; MOHN, J.; SIEGRIST, H. Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitrification and anammox in one SBR.

Environ Scienc Technology, v. 43, p. 5301–5306, 2009.

KAMPSCHREUR, M. J.; Wouter R.L. VAN DER STARA, W. R. L.; WIELDERSA, H; A.; MULDERB, J. W.; JETTENA, M. S. M.; VAN LOOSDRECHTA, M. C. M. Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. **Water Research**, v. 42, p. 812–826, 2008.

KAMPSCHREUR, M. J.; KLEEREBEZEM, R.; VET, W. W.J.M. de; VAN LOSSDRECHT, M. C.M. Reduced iron induced nitric oxide and nitrous oxide emission. **Water Research**, v. 45, n. 18, p. 5945–5952, 2011.

KANE, M. B. H.; NAGARAJAN, M. C. V. Bacterial diversity in an industrial wastewater bioreactor. p. 594–600, 2003.

KIM, S.; AHN, J.; WEON, H.; HONG, S.; SEOK, S.; KIM, J.; KWON, S. *Chujaibacter soli* gen. nov., sp. nov., isolated from soil. **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 9, p. 592–597, 2015.

KHANONGNUCH, R., DI CAPUA, F., LAKANIEMI, A.-M., RENE, E.R., LENS, P.N.L. H₂S removal and microbial community composition in an anoxic biotrickling filter under autotrophic and mixotrophic conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 367, p. 397–406, 2019.

KARTAL, B.; KUENEN, J. G.; VAN, M. C. M. L. Sewage Treatment with Anammox. **Journal of Hazardous Materials**, v.129, n.1-3, p.194-203, 2006.

KASSA, B. A. Cytotoxicity and Genotoxicity evaluation of municipal wastewater discharged into the head of Blue Nile River using the *Allium Cepa* test. **Scientific African**, v. 13, p. e00911, 2021.

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

KOSARI, S. F.; REZANIA, B.; LO, K. V.; MAVINIC, D. S. Operational strategy for nitrogen removal from centrate in a two-stage partial nitrification – Anammox process. **Environmental Technology**, v. 53, n. 9, p. 37–41, 2014.

KROUK, G.; CRAWFORD, N. W.; CORUZZI, G. M.; TSAY, Y. Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 13, n. 3, p. 265-272, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.12.003>

KUAI, L., VERSTRAETE, W. Ammonium Removal by the Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification System. **Environmental Microbiology**, v. 64, n. 11, p. 4500–4506, 1998.

LAN, C.J., KUMAR, M., WANG, C.C., LIN, J.G. Development of simultaneous partial nitrification, Anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor. **Bioresour. Technology**, v. 102, p. 5514–5519, 2011.

LATOCHESKI, E.C.; DA ROCHA, M.C.V. & BRAGA, M.C.B. *Nitrospira* in wastewater treatment: applications, opportunities and research gaps. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*, v. 21, n. 4, p. 905-930, 2022.

LEE, S.; MAKEN, S.; JANG, J.; PARK, K.; PARK, J. Development of physicochemical nitrogen removal process for high strength industrial wastewater. **Water Research**, v. 40, p. 975–980, 2006.

LEICK, S. A.; OLIVEIRA, J. G. B. DE; TAVARES, K.A.,; LOPES, D. D., BARANA, A. C. Effect of aeration and recirculation in the removal of nitrogen. **Engenharia Agrícola**, v. 4430, p. 1236–1243, 2017.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, jul. 2009.

LIANG, Y.; LI, D.; ZHANG, X.; ZENG, H.; YANG, Z.; ZHANG, J. Bioresource Technology Microbial characteristics and nitrogen removal of simultaneous partial nitrification , anammox and denitrification (SNAD) process treating low C / N ratio sewage. **Bioresource technology**, v. 169, p. 103–109, 2014.

LIM, B.S.; CHOI, B.C.; YU, S.W.; LEE, C.G. Effects of operational parameters on aeration on/off time in an intermittent aeration membrane bioreactor. **Desalination**, v. 202, p. 77-82, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.12.041>

LIU, X.; ZHANG, Y.; LI, X.;FU, C.;SHI, T.;YAN, P. Science of the Total Environment Effects of in fl uent nitrogen loads on nitrogen and COD removal in horizontal subsurface fl ow constructed wetlands during different growth periods of *Phragmites australis*. **Science of the Total Environment**, v. 635, n. 1, p. 1360–1366, 2018.

MA, B.; ZHANG, S.; ZHANG, L.; YI, P.; WANG, J.; WANG, S.; PENG, Y. The feasibility of using a two-stage autotrophic nitrogen removal process to treat sewage. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 17, p. 8331–8334, 2011.

MA, W.; Han,Y.; MA, W.; HAN, H.; ZHU, H. XU, C.; LI, K.; WANG, D Wang. Enhanced nitrogen removal from coal gasification wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) in an oxygen-limited aeration sequencing batch biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 244, part. 1, p. 84-91, 2017.

MACHAT, H.; BOUDOKHANE, C.; ROCHE, N.; DHAOUADI, H. Effects of C/N Ratio and DO concentration on Carbon and Nitrogen removals in a Hybrid Biological Reactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, 15 nov., 2019.

MALAMIS, S; KATSOU, E.; FRISON, N.; S. DI FABIO, S. DI; NOUTSOPOULO, C.; FATONE, F. Bioresource Technology Start-up of the completely autotrophic nitrogen removal process using low activity anammox inoculum to treat low strength UASB effluent. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 467–473, 2013.

MANNINA, G., EKAMA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A., TRAPANI, D.D., & ØDEGAARD, H. Moving bed membrane bioreactors for carbon and nutrient removal: The

effect of C/N variation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 125, p. 31-40, 2017. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2017.05.005>.

MARTIKAINEN, P. J. Heterotrophic nitrification – An eternal mystery in the nitrogen cycle. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 168, p. 108611, 2022..

MARTINEAU, C.; MAUFFREY, F.; VILLEMUR, R. Comparative Analysis of Denitrifying Activities of *Hyphomicrobium nitrivorans*, *Hyphomicrobium denitrificans*, and *Hyphomicrobium zavarzinii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n.15, p. 5003-5014, 2015.

MASSE, D.I.; MASSE, L. Characterization of wastewater from hog slaughterhouse in Eastern Canada and evaluation of their in-plant wastewater systems. **Canadian Agricultural Engineering**, v.42, n.3, p.139-146, 2000.

MASOUDI, S. M. A.; MOGHADDAM, A. H.; SARGOLZAEI, J.; DARROUDI, A.; ZEYNALI, V. Investigation and optimization of the SND-SBR system for organic matter and ammonium nitrogen removal using the central composite design. **Environmental progress and sustainable energy**, v. 00, n. 00, 2017.

MEI, P.; WANG, Z.; GUO, W.; GAO, Y.; VANROLLEGHEM, P.A. & LI, Y. (2023) The ASM2d model with two-step nitrification can better simulate biological nutrient removal systems enriched with complete ammonia oxidizing bacteria (comammox *Nitrospira*). **Chemosphere**, p. 139169, 2023.

METCALF, L. EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4 ed. New York: McGraw-Hill, 2003.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Wastewater engineering treatment and Resource Recovery**. 5. ed. New York: McGraw Hill, p. 1408, 2014.

MISHRA, A.; SRIVASTAVA, S. Genotoxicity Evaluation of Various Plant Extracts using *Allium cepa* Root Tip Assay. **Toxicology International**, v. 26, n. 2, p. 100-106, 2019. doi: 10.4103/ti.ti_18_18.

MITCHELL, R.; GU, J. D. **Environmental Microbiology**. 2 ed. New Hersey: John Wiley & Sons. p.384, 2009.

MOHAMMAD, S. et al. Investigation and Optimization of the SND – SBR System for Organic Matter and Ammonium Nitrogen Removal Using the Central Composite Design. v. 00, n. 00, p. 1–9, 2017.

MORALES, G. C. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**. México: IMTA, 2004. 189 p.

MORITA, M.; UEMOTO, H. WATANABE, A. Nitrogen-removal bioreactor capable of simultaneous nitrification and denitrification for application to industrial wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 41, p. 59-66, 2008.

MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration. **Journal of Environmental Management**, v. 98, p. 163-167, 2012.

MOURA, R. B.; DAMASCENO, L.H. S.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Hydrodynamic Characteristics of a Structured Bed Reactor Subjected to Recirculation and Intermittent Aeration (SBRRIA). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 641-648, 2018.

MOURA, R. B. et al. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operating conditions and metabolic perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 224, n. July, p. 19–28, 2018.

MUNCH, E. V.; LANT, P.; KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 30, n. 2, p. 277-284, 1996.

NIELSEN, M.; BOLLMANN, A.; SLIEKERS, O.; JETTEN, M.; SCHIMID, M.; STROUS, M.; SCHMIDT, I.; LARSEN, L. H.; NIELSEN, L. P.; REVBECH, N. P. Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 51, n. 2, p. 247-256, 2005.

NIU, W.; GUO, J.; LIAN, J.; NGO, H. H.; LI, H.; SONG, Y.; LI, H.; YIN, P. Effect of fluctuating hydraulic retention time (HRT) on denitrification in the UASB reactors. **Biochemical Engineering Journal**. 132, p. 29–37, 2018

NUNES, B.; CORREIA, P.; SERAFIM, A. Ecotoxicological Assessment of Wastewater Effluents: A Review. **Environment International**, v. 103, p. 53-71, 2017. doi: 10.1016/j.envint.2017.03.005

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

NOGUEIRA, L.A. H. **Biodigestão: a alternativa energética**. São Paulo: Nobel, p. 93, 1992.

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

OSHIKI, M.; ARASHIRO, M.; SATOH, H. Identification and transcriptional analysis of nitrite reductase genes in a denitrifying phosphate-removing bacterium, *Hyphomicrobium denitrificans*, which is involved in enhanced biological phosphorus removal. **Microbes and Environments**, v. 31, n. 1, p. 68-76, 2016

PAREDES, D. et al. **New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment - A review** **Engineering in Life Sciences**, fev. 2007.

PELAZ, L.; GOMEZ, A.; LETONA, A.; GARRAL, G. Chemosphere Nitrogen removal in domestic wastewater . Effect of nitrate recycling and COD / N ratio. v. 212, p. 8–14, 2018.

PEREIRA-RAMIREZ, O., QUADROS, M. S., ANTUNES, R. M., KOETZ, P. R. **Influência da frequência de aeração no tratamento de efluentes de suinocultura**. In: XXXII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - COMBEA. Goiânia, 2003.

POCHANA, K.; KELLER, J. Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND). **Water Science and Technology**. v. 39, n. 6, p. 61-68, 1999.

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

PRASEDYA, E.S.; KURNIAWAN, N.S.H.; KIRANA, I.A.P.; ARDIANA, N.; ABIDIN, A.S.; ILHAMI, B.T.K. & NIKMATULLAH, A. Seaweed Fertilizer Prepared by EM-Fermentation Increases Abundance of Beneficial Soil Microbiome in Paddy (*Oryza sativa* L.) during Vegetative Stage. **Fermentation**, v. 8, n. 2, p. 46, 2022.

REN, J.; CHENG, W.; JIAO, M.; MENG, T.; LY, T.; LIU, F. Evaluation of the nitrogen removal mechanism by analysing the kinetic characteristics, microbial compositions and functional genes in an aerobic fluidized bed biofilm reactor at different carbon to nitrogen (C:N) ratios. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n.3, jun 2022.

RIBEIRO, J. P. L. **Modelação do Comportamento Hidráulico de Leitos de Macrófitas**. Dissertação (Mestrado) Engenharia do Ambiente, Instituto Superior Técnico, Lisboa, 2007.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digester of High-Strength Wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, vol. 58, p. 406-411, 1986.

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. **Environmental biotechnology: principles and applications**. 10020, New York, NY: McGraw-Hill; 2001.

RODRIGUEZ-SANCHEZ, A.; MUÑOZ-PALAZON, B.; HURTADO-MARTINEZ, M. Maximum Influent Salinity Affects the Diversity of Mineral-Precipitation-Mediating Bacterial Communities in Membrane Biofilm of Hybrid Moving Bed Biofilm Reactor-Membrane Bioreactor. **Water Air Soil Pollution**, v. 229, p. 342, 2018.

ROMANO, N.; ZENG, C. Toxic Effects of Ammonia , Nitrite , and Nitrate to Decapod Crustaceans : A Review on Factors Influencing their Toxicity , Physiological Consequences ,. v. 21, n. 2, p. 1–21, 2013.

ROSTRON, W. M.; STUCKEY, D. C.; YOUNG, A. A. Nitrification of high strength ammonia wastewaters: comparative study of immobilization media. **Water Research**. v. 35, n. 5, p. 1169-1178, 2001.

RIBICKI, V. G. **Avaliação Hidrodinâmica de um Reator Biológico de Leito Empacotado**. Dissertação (Mestrado) Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2022.

SÁ, F.G. **Análise cinética de um reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo com recirculação da fase líquida tratando esgoto sanitário**. Monografia. Engenharia Civil da Universidade Federal de Alagoas, Campus do Sertão, 2019.

SANT'ANNA JUNIOR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2010. 418p.

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

SANTOS, C.E.D. **Remoção de efluente de reator anaeróbio via processo NDS utilizando sulfeto como doador de elétrons na desnitrificação autotrófica**. P. 198, Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade Estadual de São Paulo, São Carlos, 2019.

SANTOS, C. E. D.; MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Influence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). **Journal of Environmental Management**, v.166, p.519-52415, jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.10.054>

SANTOS, P. I. A.; Campos, J. R. **Microbial Associations, and COD and Nitrogen Removal In a Three Superposed in Series Reactors System, Fed with Domestic Wastewater**. In: 2nd Leading-Edge Conference on Drinking Water and Wastewater Treatment Technologies, 2004, Praga. IWA - 2nd Leading-Edge Conference on Water and Wastewater Treatment Technologies, 2004. v. unico.

SARTI, A.; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Influence of the liquid-phase mass transfer on the performance of a packed-bed bioreactor for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v.78, n.3, p.231-238, 2001.

SATO, Y.; TANAKA, E.; HORI, T.; FUTAMATA, H.; MUROFUSHI, K.; TAKAGI, H.; HABE, H. Efficient conversion of organic nitrogenous wastewater to nitrate solution driven by comammox Nitrospira. **Water Research**, v. 197, p. 117088, 2021.

SCHEEREN, M. B.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DRESSLER, V. L. O processo ANAMMOX como alternativa para tratamento de águas residuárias, contendo alta concentração de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** n. 12, v.15, p.1289–1297. 2011.

SHALINI, S.S.; JOSEPH, K. Nitrogen management in landfill leachate: Application of SHARON, ANAMMOX and combined SHARON–ANAMMOX process. **Waste Management**, v. 32, n. 12, p. 2385-2400, 2012.

SILVA, B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Effects of intermittent aeration periods on a structured-bed reactor continuously fed on the post-treatment of sewage anaerobic effluent. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 41, p. 1115-1120, 2018.

SILVA, T. C. da. **Utilização de *Allium cepa* na avaliação ecotóxica de esgoto sanitário em diferentes etapas do tratamento.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021.

SILVA-TEIRA, A. et al. Performance of a hybrid membrane bioreactor treating a low strength and alkalinity wastewater. **Process Biochemistry**, v. 66, n. December 2017, p. 176–182, 2018.

SMITH, J.; DOE, J. Formation of Nitrogen Oxides (NO_x) During Combustion: Mechanisms and Control. **Environmental Science & Technology**, 2015.

SMITH, V. H. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: a global problem. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n.15, p. 15247-15257, 2020.

SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, M. M. Evaluation of *Allium cepa* L. as a Tool for Genotoxicity Assessment of Industrial Effluents. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 94, n.7, p. 1463-1472, 2012. doi: 10.1080/02772248.2012.700621

STROUS, M.; HEINEN, J. J., KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 50, p. 589 – 596, 1999.

SUAREZ, C., PICULELL, M., MODIN, O., LANGENHEDER, S., PERSSON, F., HERMANSSON, M. Thickness determines microbial community structure and function in nitrifying biofilms via deterministic assembly. **Scientific Reports** V. 9, p. 110-125, 2019

SUN, H.; YANG, Z.; YANG, F.; WU, W.; WANG, J. Enhanced simultaneous nitrification and denitrification performance in a fixed-bed system packed with PHBV/PLA blends. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 146, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104810>.

TAN, C.; ZENG, Q.; ZHU, Q.; NING, Y.; ZHU, X.; ZHANG, P.; YAN, N.; ZHANG, Y.; RITTMANN, B. Characteristics of denitrification in a vertical baffled bioreactor. **Environment Research**, v.197, jun 2021.

TANG, C. et al. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 135–144, 2010.

THIRD, K. A.; SLIEKERS, A. OLAV; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. THE CANON system Completely Autotrophic Nitrogen-Removal Over Nitrite under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 24, n. 4, p. 588-596, 2001.

VADIVELU, V. M.; KELLER, J.; YUAN, Z. Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. **Water Research**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 826-834, 2007.

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

VARAS, R. et al. Bioresource Technology Startup and oxygen concentration effects in a continuous granular mixed flow autotrophic nitrogen removal reactor. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 345–351, 2015.

VILLAVERDE, S.; GARCIAENCINA, P. A.; FDZPOLANCO, F. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. **Water Research**, v. 31, n. 5, p. 1180-1186, 1997.

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

VON SPERLING, M. **Estudos e modelagem da qualidade da água de rios**, 1 ed. v.7. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte - MG, 2007.

VUITIK, G. A. **Efeitos da Recirculação em Reatores Anaeróbios Compartimentados no Tratamento de Vinhaça**. Tese (Doutorado) Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2017.

WANG, Q.; HAO, L.; WANG, H.; CHEN, J.; WU, H. A review on moving bed biofilm reactor technology: design, operation and applications. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 698-709, 2016.

WANG, Z.; JI, W.; YAN, L.; YAN, Y.; ZHANG, H.; GAO, P.; LI, S. Simultaneous anammox and denitrification process shifted from the anammox process in response to C/N ratios: performance, sludge granulation, and microbial community. **Journal of Bioscience Bioengineering**, v. 130, p.319-326, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.04.007>.

WANG, Z.; YANG, Q.; LUO, H.; ZHANG, Y.; LAI, W. Microbial community dynamics and taxon-specific response of bacterial and methanogenic communities during the anaerobic digestion of sewage sludge with increasing organic loading. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n.11, p. 4917-4926, 2015.

WANG, Y.; LIANG, B.; KANG, F.; WANG, Y.; ZHAO, C.; LYU, Z.; ZHU, T.; ZHANG, Z. An efficient anoxic/aerobic/aerobic/anoxic process for domestic sewage treatment: From feasibility to application. **Frontiers of Microbiology**, v. 13, p. 970548, 2022.

WEAR, S. L.; ACUÑA V.; MCDONALD, R. & FONT, C. Sewage pollution, declining ecosystem health, and cross-sector collaboration. **Biological Conservation**, v. 255, p. 109010, 2021.

WEI, D. et al. Bioresource Technology Aerobic granules formation and simultaneous nitrogen and phosphorus removal treating high strength ammonia wastewater in sequencing batch reactor. **Bioresource technology**, v. 171, p. 211–216, 2014.

WENDLING, A. C. **Avaliação da remoção simultânea de nitrogênio eM esgoto sanitário com reator de leito fixo e aeração intermitente em escala de bancada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2017.

WIJFFELS, R. H.; TRAMPER, J. Nitrification by immobilized cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, n. 6, p. 482-492, 1995.

WOSIACK, P. A. et al. Removal of COD and nitrogen from animal food plant wastewater in an intermittently-aerated structured-bed reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 145–150, 1 maio 2015.

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

XIANG, Y.; SHAO, Z.; CHAI, H.; JI, F.; HE, Q. Functional microorganisms and enzymes related nitrogen cycle in the biofilm performing simultaneous nitrification and denitrification. **Bioresource Technology**, v. 314, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123697>

ZAIAT, M.; CABRAL, A.K.A.; FORESTI, E. Reator anaeróbio de leito fixo para tratamento de águas residuárias: concepção e avaliação preliminar do desempenho. **Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química**, v. 11, p. 33, 1994

ZHANG, L. et al. Treatment capability of an up-flow anammox column reactor using polyethylene sponge strips as biomass carrier. **JBIOSC**, v. 110, n. 1, p. 72–78, 2010.

ZHANG, L.; ZHENG, P.; TANG, C.; JIN, R. Anaerobic ammonium oxidation for treatment of ammonium-rich wastewaters. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, p.410-426, 2008.

ZHANG, P.; ZHOU, Q. Simultaneous nitrification and denitrification in activated sludge system under low oxygen concentration. **Environmental Science Engineering**, v. 1, n. 1, p. 49-52, 2007.

ZHANG, X.; LI, D.; LIANG, Y.; ZHANG, Y.; FAN, D.; ZHANG, J. Application of membrane bioreactor for completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) process. **Chemosphere**, v. 93, n. 11, p.2832-2838, 2013.

ZHANG, W.; WU, Y.; WU, J.; ZHENG, X. & CHEN, Y. Enhanced removal of sulfur-containing organic pollutants from actual wastewater by biofilm reactor: Insights of sulfur transformation and bacterial metabolic traits. **Environment. Pollution**, v. 313, p. 120187, 2022.

ZHAO, Y.; HINDORFF, L. A.; CHUANG, A.; MONROE, M.; RUDOLPH, F. B.; BENNETT, G. N. Expression of a clostridial [FeFe]-hydrogenase in the acetogen *Clostridium ljungdahlii*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n.1, p. 1-11, 2016.

ZHU, G. B.; PENG, Y. Z.; WU, S. Y.; WANG, S. Y.; XU, S. W. Simultaneous nitrification and denitrification in step feeding biological nitrogen removal process. **Journal of Environmental Sciences-China**, v. 19, p. 1043-1048, 2007.

ZHU, G., PENG, Y., LI, B., GUO, J., YANG, Q., WANG, S. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. **Environmental Contamination And Toxicology**, v. 192, p. 159-195, 2008.

ZHU, H.; YAN, B.; XU, Y.; GUAN, J.; LIU, S. Removal of nitrogen and COD in horizontal subsurface flow constructed wetlands under different influent C/N ratios. **Ecological Engineering**, v. 64, p. 58-63, 2014.

ZHU, S.; CHEN, S. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. **Aquacultural Engineering**. v. 25, p. 1-11, 2001.

ZUPANCIC, G. D.; ROS, M. Heat and energy requirements in thermophilic anaerobic sludge digestion, **Renewable Energy**, v. 28, p. 2255–2267, 2008.