

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

Clarissa Fernandes da Silva

**BACTÉRIAS NITRIFICANTES NO BIOFILME DE FILTRO BIOLÓGICO
PERCOLADOR DO TIPO ABERTO (FBPA) E SUA RELAÇÃO COM A REMOÇÃO
DE NITROGÊNIO AMONÍACAL**

Belo Horizonte

2011

Clarissa Fernandes da Silva

**BACTÉRIAS NITRIFICANTES NO BIOFILME DE FILTRO BIOLÓGICO
PERCOLADOR DO TIPO ABERTO (FBPA) E SUA RELAÇÃO COM A REMOÇÃO
DE NITROGÊNIO AMONÍACAL**

Monografia de especialização apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Engenharia Sanitária e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Marcos Von Sperling

Coorientador: Paulo de Castro Vieira

Belo Horizonte

2011

S586b

Silva, Clarissa Fernandes da.

Bactérias nitrificantes no biofilme de filtro biológico percolador do tipo aberto (FBPA) e sua relação com a remoção de nitrogênio amoniacal [recurso eletrônico] / Clarissa Fernandes da Silva. - 2011.

1 recurso online (61 f. : il., color.) : pdf.

Orientador: Marcos Von Sperling.

Coorientador: Paulo de Castro Vieira.

“Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Engenharia Sanitária e Tecnologia Ambiental da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais.”

Inclui bibliografia.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia Sanitária. 2. Tecnologia Ambiental – 3. Biofilme.
4. Nitrificação. I. Von Sperling, Marcos. II. Vieira, Paulo de Castro.
- III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia.
- IV. Título.

CDU: 628



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
Escola de Engenharia
Av. Antônio Carlos, 6627/4616 – BI 01 - 30270-901 - Belo Horizonte – BRASIL
Curso de Especialização em Engenharia Sanitária e Tecnologia Ambiental
Tel. (31) 3409-1038 – Fax (31) 3409-1768
E-mail especial@desa.ufmg.br

ESCOLA DE ENGENHARIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL

ATA DE DEFESA DO TRABALHO FINAL DE: **CLARISSA FERNANDES DA SILVA**

ORIENTADOR: MARCOS VON SPERLING
CO-ORIENTADOR: PAULO DE CASTRO VIEIRA

NÚMERO DE REGISTRO: 297

No dia 14 de dezembro de 2011, reuniu-se no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Escola de Engenharia da UFMG a Comissão Examinadora da Monografia, indicada pela Comissão Coordenadora do Curso de Especialização em Engenharia Sanitária e Tecnologia Ambiental, para julgar, em exame final, a Monografia intitulada

“AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS NITRIFICANTES EM UM FILTRO BIOLÓGICO
PERCOLADOR DO TIPO ABERTO”,

requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Engenharia Sanitária e Tecnologia Ambiental. Abrindo a sessão o Presidente da Comissão Examinadora, Prof. Marcos Von Sperling após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Monografia, passou a palavra ao aluno para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a argüição pelos examinadores, com a respectiva defesa do aluno. Logo após, a Comissão se reuniu a portas fechadas, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes notas de (0 a 100):

| Comissão Examinadora | | Notas | Trab. | Apres. | Total (0-100) |
|----------------------|------------------------------------|-------|-------------------|----------------|-------------------------|
| | | | Escrito (0-70) | Oral (0-30) | |
| Prof | Marcos Von Sperling | DESA | 58 | 27 | 85 |
| Profª | Erika Ferreira de Abreu Mac Conell | DESA | 55 | 30 | 85 |
| | | MÉDIA | 56,5 | 28,5 | 85 |

Pelas indicações, o aluno deve proceder às alterações sugeridas no trabalho, para a sua edição definitiva, a ser entregue no prazo de _____ dias. O resultado final foi comunicado publicamente ao interessado pelo Presidente da Comissão que, nada mais havendo a tratar, encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, assinada por todos os membros participantes da Comissão.

Belo Horizonte, 14 de dezembro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcos von Sperling pela orientação e confiança;

Ao amigo e coorientador Paulo Vieira pela orientação, suporte, ensinamentos e oportunidade de realizar este trabalho;

A Renata pela dedicação e ajuda no laboratório de microbiologia, que foram fundamentais;

A todos que colaboraram com as análises laboratoriais e de campo.

A minha família, amigos e todos que torcem pelo meu crescimento.

Muito obrigada!

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo quantificar as bactérias oxidadoras de amônia (*Nitrosomonas*) e oxidadoras de nitrito (*Nitrobacter*) em biofilme de um filtro biológico percolador do tipo aberto (FBPA), e sua relação com a nitrificação dos efluentes pós reator UASB, tratando esgoto doméstico. Para quantificar as bactérias nitrificantes, no biofilme do filtro, foi realizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). Os efluentes do reator UASB e do FBPA foram monitorados através dos parâmetros: N-amoniaco ($N-NH_4^+$), Nitrogênio Nitroso ($N-NO_2^-$) e Nitrogênio Nítrico ($N-NO_3^-$), determinados segundo metodologia proposta por APHA/AWWA/WEF (2005). As *Nitrosomonas* apresentaram estimativa de abundância variando entre 10^4 e 10^7 NMP/mL, enquanto as *Nitrobacter* apresentaram valores entre 10^3 e 10^7 NMP/mL ao longo dos 428 dias de operação monitorados. A redução da concentração de N-amoniaco e o aumento da concentração de nitrito e nitrato presentes no efluente do FBPA, juntamente com o aumento da formação do biofilme, indicam o estabelecimento da nitrificação, em suas duas etapas (nitritação e nitratação) separadas. Observou-se uma nitrificação mais consistente durante a segunda etapa de operação do FBPA. Acredita-se que o incremento da remoção de N-amoniaco esteja relacionado com a ventilação natural, aumentando a aeração no interior do FBPA, proporcionada pela ausência das paredes laterais do FBPA, bem como a mudança das taxas de COV e a expansão do volume do filtro.

Palavras-chave: *Nitrosomonas*. *Nitrobacter*. Biofilme. FBPA. NMP. Nitrificação.

ABSTRACT

This study aimed to quantify ammonia-oxidizing bacteria (*Nitrosomonas*) and nitrite-oxidizing bacteria (*Nitrobacter*) in the biofilm of an open trickling biological filter (FBPA) and to evaluate their relationship with the nitrification of the effluent from a UASB reactor treating domestic sewage. In order to quantify the nitrifying bacteria present in the filter biofilm, the Most Probable Number (MPN) technique was applied. The effluents from the UASB reactor and the FBPA were monitored using the following parameters: ammoniacal nitrogen (N-NH₄⁺), nitrous nitrogen (N-NO₂⁻), and nitric nitrogen (N-NO₃⁻), determined according to the methodology proposed by APHA/AWWA/WEF (2005). The estimated abundance of *Nitrosomonas* ranged from 10⁴ to 10⁷ MPN/mL, while *Nitrobacter* values ranged from 10³ to 10⁷ MPN/mL throughout the 428 days of monitored operation. The reduction in ammoniacal nitrogen concentration and the increase in nitrite and nitrate concentrations in the FBPA effluent, together with the increase in biofilm formation, indicate the establishment of nitrification in its two stages (nitritation and nitrataion). A more consistent nitrification process was observed during the second stage of FBPA operation. The increase in ammoniacal nitrogen removal is likely related to natural ventilation, which enhanced aeration within the filter due to the absence of lateral walls, as well as to changes in organic loading rates and the expansion of the filter volume.

Keywords: *Nitrosomonas*. *Nitrobacter*. Biofilm. FBPA. MPN. nitrification.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 3.1- Principais processos envolvidos na formação de um biofilme..... | 22 |
| Quadro 3.1- Síntese de fatores que afetam a formação e o estabelecimento de biofilmes..... | 23 |
| Figura 3.2 - Representação esquemática de um biofilme..... | 24 |
| Figura 3.3- Esquema de bactérias e outros microrganismos formando um floco de lodo ativado..... | 26 |
| Figura 3.4- Esquema de bactérias e outros microrganismos do biofilme de sistemas aderidos de biomassa..... | 27 |
| Figura 3.5- Principais componentes de um filtro biológico percolador e princípio em funcionamento..... | 29 |
| Figura 3.6- Tipos de meio suporte normalmente utilizados em FBP..... | 31 |
| Figura 3.8- Tipos de meio suporte alternativos utilizados em FBP..... | 31 |
| Figura 4.1- Sistema reator UASB +FBP Aberto existente no CePTS da UFMG/COPASA..... | 35 |
| Figura 4.2- Altura e sistema de alimentação do FBPA nas etapas avaliadas..... | 36 |
| Figura 4.3- Pontos de amostragem do biofilme no FBPA..... | 39 |
| Figura 5.1- Série temporal das densidades de Nitrosomonas no biofilme do FBPA..... | 45 |
| Figura 5.2.-Série temporal das densidades de Nitrobacter no biofilme do FBPA..... | 45 |
| Figura 5.3- Série temporal das concentrações de N-Amoniacal afluente e efluente do FBPA..... | 48 |
| Figura 5.4- Estatísticas das concentrações de N-Amoniacal afluente e efluente do FBPA..... | 49 |
| Figura 5.5- Série temporal das concentrações de Nitrito afluente e efluente do FBPA..... | 49 |
| Figura 5.6- Estatísticas das concentrações de nitrito afluente e efluente do FBPA..... | 50 |
| Figura 5.7- Série temporal das concentrações de nitrato do afluente e efluente do FBPA..... | 51 |
| Figura 5.8- Estatísticas das concentrações de nitrato afluente e efluente do FBPA..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 3.1- Distribuição relativa das formas de nitrogênio em função do estágio de poluição do corpo d'água | 5 |
| Tabela 4.1 - Características dos materiais de enchimento do FBPA..... | 37 |
| Tabela 4.2- Características do FPB aberto..... | 38 |
| Tabela 5.1 - Resultados médios das condições impostas ao FBPA nas etapas de operação.... | 43 |
| Tabela 5.2- Número mais provável de Nitrosomonas no biofilme no efluente do FBPA..... | 44 |
| Tabela 5.3- Número mais provável de Nitrosomonas no biofilme no efluente do FBPA..... | 44 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------|---|
| ANAMMOX | <i>Anaerobic ammonium oxidation</i> |
| BOA | Bactérias oxidadoras de amônia |
| BON | Bactérias oxidadoras de nitrito |
| CePTS | Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| COPASA | Companhia de Saneamento do Estado de Minas Gerais |
| COV | Carga orgânica volumétrica |
| DBO | Demanda bioquímica de oxigênio |
| DESA | Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental |
| EPS | Exopolissacarídeos |
| DQO | Demanda química de oxigênio |
| DBO | Demanda bioquímica de oxigênio |
| ETE | Estação de tratamento de esgotos |
| FBP | Filtro biológico percolador |
| FBPA | Filtro biológico percolador aberto |
| FISH | <i>Fluorescent in situ Hybridization</i> |
| N-amoniacal | Nitrogênio amoniacal |
| NTK | Nitrogênio total Kjeldahl |
| NMP | Número mais provável |
| OD | Oxigênio dissolvido |
| PBS | Tampão fosfato-salino |
| PCR | <i>Polymerase chain reaction</i> |
| SST | Sólidos suspensos totais |
| TAS | Taxa de aplicação superficial |
| UASB | <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |

Sumário

| | | |
|----------|--|--------------------------------------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 2 | OBJETIVOS | 9 |
| | 2.1 Objetivo geral..... | 9 |
| | 2.2 Objetivos específicos | 9 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 10 |
| | 3.1 Formas do nitrogênio na água..... | 10 |
| | 3.2 Importância ambiental do nitrogênio em sistemas aquáticos | 10 |
| | 3.3 Processos de remoção biológica do nitrogênio | 12 |
| | 3.3.1 Microbiologia da amonificação..... | 12 |
| | 3.3.2 Microbiologia da amonificação..... | 13 |
| | 3.3.3 Microbiologia da desnitrificação..... | 14 |
| | 3.3.4 Processo ANAMMOX | 15 |
| | 3.4 Características gerais dos biofilmes..... | 16 |
| | 3.5 Microbiologia do tratamento de esgotos..... | 20 |
| | 3.5.1 Biomassa em Suspensão..... | 20 |
| | 3.5.2 Biomassa aderida..... | 21 |
| | 3.6 Filtros Biológicos percoladores para o tratamento de esgotos..... | 23 |
| | 3.6.1 Material suporte..... | 25 |
| | 3.6.2 Composição de microrganismos do biofilme em FBPs | 27 |
| | 3.7 Técnica do número mais provável - estimativa das populações microbianas .. | 28 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 30 |
| | 4.1 Aparato experimental..... | 30 |
| | 4.2 Aparato experimental..... | Erro! Indicador não definido. |
| | 4.3 Coleta e preparo das amostras..... | 33 |
| | 4.4 Análises microbiológicas | 34 |
| | 4.4.1 Número mais provável de <i>Nitrosomonas</i> (BOA)..... | 35 |
| | 4.5 Análises físico-químicas | 37 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 38 |
| | 5.1 Condições de operação | 38 |
| | 5.2 Estimativa do NMP de bactérias nitrificantes..... | 39 |
| | 5.3 Análise das etapas de operação | 43 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 50 |
| 7 | RECOMENDAÇÕES..... | 51 |

| | |
|-------------------------|-----------|
| REFERÊNCIAS..... | 52 |
|-------------------------|-----------|

1 INTRODUÇÃO

Para a redução dos níveis de lançamento de nitrogênio nos esgotos, sistemas biológicos de tratamento são empregados, tais como filtros biológicos percoladores, biodiscos e o sistema de lodos ativados (SANTOS *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2007; PHILIPS, 2008; FONSECA 2009; USEPA, 2007; KIELING, 2004). Os processos de remoção biológica do nitrogênio encontram-se em aplicações crescentes por mostrar-se simples, eficazes, fáceis de serem projetados e operados quando comparados com sistemas de tratamento físico-químicos (FERREIRA, 2000).

Em sistemas de tratamento biológico, como no caso dos filtros biológicos percoladores (FBPs), as principais bactérias atuantes no processo de nitrificação são as do gênero *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. No entanto, bactérias do gênero *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrospira* foram encontradas em reatores com biofilme (USEPA, 2009).

Alguns trabalhos têm sido realizados com o objetivo de contribuir para a avaliação do comportamento dos biofilmes de FBPs (SANTOS, *et al.*, 2005; MISSAGIA 2010) e a sua relação entre as bactérias nitrificantes e o processo de remoção de nitrogênio amoniacal (N-amoniaco) (PERSSON, *et al.*, 2001; AGRA, 2007). A compreensão da comunidade bacteriana responsável pela nitrificação em FBPs é essencial para a otimização do projeto e operação desses sistemas, quando se almeja a remoção do N-amoniaco.

Neste sentido, está sendo pesquisada uma concepção inovadora de FBP, desenvolvida no DESA-UFMG e denominada filtro biológico percolador aberto (FBPA). Esta unidade não possui paredes laterais, o que permite uma circulação mais intensa do ar, com maior aporte de oxigênio para as bactérias nitrificantes. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo caracterizar e relacionar as principais bactérias nitrificantes (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*) com as eficiências de remoção do N-amoniaco (conversão a nitratos) para os primeiros resultados obtidos da investigação do FBPA.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral desta pesquisa é avaliar a quantidade de bactérias oxidadoras de amônia (*Nitrosomonas*) e oxidadoras de nitrito (*Nitrobacter*) no biofilme do filtro biológico percolador do tipo aberto (FBPA), e sua relação com a remoção de N-amoniacal.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* no biofilme do FBPA pelo método de NMP;
- Avaliar as concentrações de N-amoniacal, nitrito (N-nitroso) e nitrato (N-nítrico) para o período em estudo;
- Avaliar a relação entre as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* no biofilme do FBPA e as concentrações de nitrogênio monitoradas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Formas do nitrogênio na água

De acordo com von Sperling (2005), o nitrogênio é um parâmetro químico da qualidade da água, cujos constituintes responsáveis pela sua presença são encontrados sobre a forma de sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos. A sua origem natural se dá como constituinte celular de microrganismos, de proteínas, clorofila e vários outros compostos biológicos. A sua origem antropogênica se dá através de despejos domésticos e industriais, excrementos de animais e na composição de fertilizantes.

Segundo a USEPA (2009) e von Sperling, 2005 podemos encontrar o nitrogênio no meio aquático das seguintes formas:

- Nitrogênio molecular (ou gasoso) (N_2);
- Nitrogênio orgânico (dissolvido e em suspensão)
- Amônia livre (NH_3)
- Íon amônio (NH_4^+)
- Íon nitrito (NO_2^-)
- Íon nitrato (NO_3^-)

Em esgotos domésticos brutos, o nitrogênio é encontrado predominantemente sobre a forma de nitrogênio orgânico e amônia, sendo o somatório dessas concentrações denominado NTK – Nitrogênio Total Kjeldahl. O nitrogênio total (NT) corresponde ao somatório das concentrações de NTK, nitrito e nitrato (VON SPERLING, 2005; VON SPERLING *et al.*, 2009).

3.2 Importância ambiental do nitrogênio em sistemas aquáticos

O nitrogênio tem uma grande importância em termos de geração e do próprio controle da poluição em sistemas aquáticos (lênticos e lóticos), destacando-se os seguintes aspectos (VON SPERLING *et al.*, 2009):

Quanto à poluição das águas

- É elemento indispensável para o crescimento de algas, o que pode influenciar na ocorrência do processo de eutrofização de lagos, represas e estuários;
- Implica no consumo de oxigênio dissolvido no corpo receptor durante o processo de nitrificação (o que afeta a vida aquática);
- Tóxico aos peixes na forma de amônia livre;

- Está associado a doenças como a metahemoglobinemia (síndrome do bebê azul), na forma de nitrato.

Quanto ao tratamento de esgotos

- É um elemento indispensável ao crescimento de microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgotos;
 - Implica no consumo de oxigênio e alcalinidade durante o processo de nitrificação, que pode eventualmente ocorrer em uma ETE (Estação de Tratamento de Esgotos);
 - Durante o processo de desnitrificação, que pode eventualmente ocorrer numa ETE, implica na economia de oxigênio e alcalinidade (quando realizado de forma controlada), ou na deterioração da qualidade de sedimentabilidade do lodo.
 - Implica no consumo de oxigênio dissolvido no corpo receptor durante o processo de nitrificação (o que afeta a vida aquática);
 - Tóxico aos peixes na forma de amônia livre;
 - Está associado a doenças como a metahemoglobinemia (síndrome do bebê azul), na forma de nitrato.

Quanto ao tratamento de esgotos

- É um elemento indispensável ao crescimento de microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgotos;
 - Implica no consumo de oxigênio e alcalinidade durante o processo de nitrificação, que pode eventualmente ocorrer em uma ETE (Estação de Tratamento de Esgotos);
 - Durante o processo de desnitrificação, que pode eventualmente ocorrer numa ETE, implica na economia de oxigênio e alcalinidade (quando realizado de forma controlada), ou na deterioração da qualidade de sedimentabilidade do lodo.

Nas águas residuárias, o grau da estabilização da matéria orgânica pode ser estimado através da verificação da forma como estão presentes as formas predominantes do nitrogênio (VON SPERLING, 2005).

No esgoto fresco o nitrogênio está quase todo combinado sob forma de proteínas, aminoácidos e ureia, estando presente basicamente na forma de nitrogênio orgânico ou amoniacal. Em condições aeróbicas, quanto mais antiga a poluição, maior a presença de nitratos, uma vez que as concentrações de nitritos são normalmente mais reduzidas (JORDÃO & PESSÔA, 1995; VON SPERLING, 2005). Segundo Chernicharo (1997), o nitrogênio geralmente é o nutriente inorgânico requerido em maiores concentrações para o crescimento

dos microrganismos, sendo as principais fontes utilizadas a amônia e a porção de nitrogênio orgânico liberados durante a degradação.

3.3 Processos de remoção biológica do nitrogênio

O nitrogênio pode ser removido de esgotos sanitários por processos físicos, químicos ou biológicos. A vantagem dos processos biológicos está em oferecer custos relativamente baixos quando comparados aos outros (METCALF e EDDY, 1991).

O processo de remoção biológica de nitrogênio se baseia no ciclo natural da transformação do nitrogênio, ocorrendo em dois processos sequenciais: a nitrificação e a desnitrificação (JORDÃO E PESSOA, 1995).

Nos sistemas biológicos de tratamento de esgotos os processos usualmente empregados na conversão de nitrogênio são a amonificação e a nitrificação autotrófica; quando se deseja também a remoção do nitrogênio se soma a desnitrificação em ausência ou em baixa concentração de oxigênio (microaeração) (DOMINGUES, 2005).

3.3.1 Microbiologia da amonificação

Andrade *et al.* (1994) definem amonificação como a liberação da amônia a partir dos compostos nitrogenados, usados por um grupo diversificado de microrganismos heterotróficos como fonte de carbono e nitrogênio. O nitrogênio chega ao esgoto doméstico basicamente sob duas formas:

- (1) ureia, resultante da metabolização das proteínas e excretada na urina e
- (2) proteínas não assimiladas, excretadas nas fezes.

A ureia é rapidamente hidrolisada por bactérias, sob condições aeróbias ou anaeróbias, pela ação da enzima urease, gerando amônia e gás carbônico. As proteínas são convertidas a moléculas mais simples, peptídeos ou aminoácidos, pela ação de enzimas extracelulares produzidas por bactérias proteolíticas. Na sequência, ocorre o processo de deaminação, que dependendo das condições ambientais será oxidativa ou redutiva, intermediadas por bactérias aeróbias ou anaeróbias. Ambas reações produzem íon amônio (NH_4^+) e ácidos orgânicos (BITTON, 2005).

O processo de amonificação é rápido, tendo início já no sistema de coleta e interceptação do esgoto, fazendo com que já se encontre amônia no esgoto afluente ao sistema de tratamento (VON SPERLING, 2005).

3.3.2 Microbiologia da amonificação

Andrade *et al.* (1994) definem amonificação como a liberação da amônia a partir dos compostos nitrogenados, usados por um grupo diversificado de microrganismos heterotróficos como fonte de carbono e nitrogênio. O nitrogênio chega ao esgoto doméstico basicamente sob duas formas:

- (1) ureia, resultante da metabolização das proteínas e excretada na urina e
- (2) proteínas não assimiladas, excretadas nas fezes.

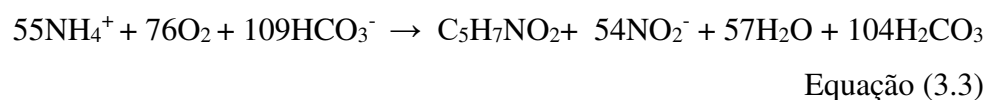
A ureia é rapidamente hidrolisada por bactérias, sob condições aeróbias ou anaeróbias, pela ação da enzima urease, gerando amônia e gás carbônico. As proteínas são convertidas a moléculas mais simples, peptídeos ou aminoácidos, pela ação de enzimas extracelulares produzidas por bactérias proteolíticas. Na sequência, ocorre o processo de deaminação, que dependendo das condições ambientais será oxidativa ou redutiva, intermediadas por bactérias aeróbias ou anaeróbias. Ambas reações produzem íon amônio (NH_4^+) e ácidos orgânicos (BITTON, 2005).

O processo de amonificação é rápido, tendo início já no sistema de coleta e interceptação do esgoto, fazendo com que já se encontre amônia no esgoto afluyente ao sistema de tratamento (VON SPERLING, 2005).

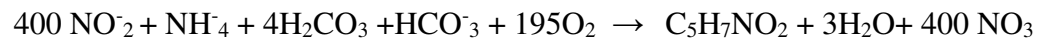
A nitrificação é um processo de duas etapas envolvendo dois diferentes grupos de microrganismos. Na primeira etapa - conhecida como nitritação - geralmente as bactérias do gênero *Nitrosomonas*, (embora outras como *Nitrosococcus* e *Nitrospira* podem contribuir para o processo), oxidam o nitrogênio amoniacal para nitrito. *Nitrobacter* é o gênero mais associado com a segunda etapa- a nitratação- contudo, outras bactérias, incluindo *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrospira* foram encontradas também na oxidação do nitrito (WATSON *et al.*, 1981 *apud* USEPA, 2002).

As Equações 3.3 e 3.4, que representam a oxidação do nitrogênio amoniacal (nitritação) e do nitrito (nitratação) podem ser usadas para estimar a geração de biomassa e o consumo de oxigênio dissolvido (USEPA, 1993).

a) Nitritação:



b) Nitratação:



Equação (3.4)

A velocidade máxima de nitrificação ocorre em concentrações de OD acima de 2 mg O₂/L. O aumento da concentração de biomassa nitrificante também aumenta a taxa de nitrificação. Fatores ambientais como pH, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, substâncias tóxicas ou inibidoras influenciam a taxa de crescimento dos organismos nitrificantes e, como consequência, a taxa de oxidação da amônia (METCALF & EDDY, 1991)

3.3.3 Microbiologia da desnitrificação

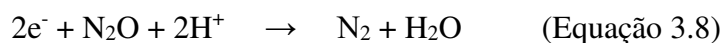
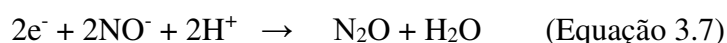
A desnitrificação é o processo de remoção de nitrogênio por meio da redução do nitrato (NO₃) a nitrogênio gasoso (N₂), que é realizada biologicamente sob condições de ausência de oxigênio.

Por ser regido pela atuação de organismos heterótrofos, o processo da desnitrificação necessita de matéria orgânica, como fonte de carbono, para sua síntese celular. Essa fonte de carbono pode ser fornecida por fontes internas (esgoto ou material celular) ou externas (como por exemplo, o metanol) (METCALF & EDDY, 1991).

Segundo Tchobanoglous *et al.* (2003), o processo de desnitrificação é realizado por uma variedade de microorganismos heterotróficos que estão normalmente presentes em processos biológicos aeróbicos. A maioria são bactérias facultativas aeróbias, com a capacidade de usar de oxigênio elementar, nitrato ou nitrito como aceptores terminais de elétrons para a oxidação de material orgânico.

As bactérias heterotróficas capazes de desnitrificação são constituídas pelos seguintes gêneros: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Nesseria*, *Paracoccus*, *Propionibacteria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* e *Vibrio*.

Na desnitrificação via nitrato, o nitrogênio passa por vários níveis de oxidação. A primeira etapa é a conversão de nitrato a nitrito e as demais etapas incluem produção de óxido nítrico, óxido nitroso e gás nitrogênio de acordo com as Equações 3.5 a 3.8:



Os três últimos compostos são gasosos e podem ser retirados para a atmosfera. Os microrganismos oxidam um substrato orgânico (fonte de energia) e os equivalentes de redução são transferidos para o nitrato, que atua como receptor final de elétrons na cadeia respiratória. Em consequência, para que se produza desnitrificação, é necessário um substrato oxidável e uma concentração adequada de nitrato (ZENATTI, 2007).

A taxa de desnitrificação é afetada por fatores ambientais como: temperatura, pH e concentração de OD. A desnitrificação ocorre em temperaturas na faixa de 10°C a 30°C. O pH ótimo está na faixa de 6,5 a 8,0 (METCALF & EDDY, 1991).

3.3.4 Processo ANAMMOX

Outro processo que remove o nitrogênio é o ANAMMOX que significa em inglês *Anaerobic Ammonium Oxidation*. Os microrganismos envolvidos neste processo são capazes de realizar a oxidação de N-amoniaco (doador de elétrons) a nitrogênio gasoso na ausência de oxigênio, sendo o nitrito o aceptor de elétron (MANDIGAN & MARTINKO, 2006).

Os organismos Anammox estão classificados no filo dos Planctomicetos, cinco dos quais foram denominados provisoriamente de *Candidatus Brocadia anammoxidans*, *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, *Candidatus Scalindua wagneri*, *Candidatus Anammoxoglobus propionicus* (KARTAL *et al.*, 2007) e *Candidatus Jettenia asiatica* (QUAN *et al.*, 2008), que se constituem em um grupo interessante de bactérias com muitas propriedades raras ou únicas. Elas apresentam morfologia de cocos com diâmetro menor que 1 µm (VAN NIFTRIK *et al.*, 2004), tempo de duplicação de aproximadamente 11 dias e são fisiologicamente distintas dos outros membros do grupo, pois são anaeróbias e quimiolitotróficas.

Em um trabalho realizado em um reator de batelada por Araújo *et al.* (2010), através de análise de hibridação *in situ* fluorescente (FISH) confirmaram a presença de bactérias Anammox (possivelmente *Candidatus Brocadia anammoxidans*), e observaram que estas representavam 53% do total de células presentes no reator.

Tal *et al.* (2006), em um estudo com filtros biológicos com água de recirculação de aquicultura marinha, através da técnica de PCR e FISH, confirmaram a presença de Anammox (Planctomycetales) no biofilme microbiano nos filtros de desnitrificação.

3.4 Características gerais dos biofilmes

Para Characklis e Marshall (1990), a definição de um biofilme é a de ser constituído de células imobilizadas em um substrato, frequentemente ligado a uma matriz orgânica de origem microbiológica. Uma definição mais completa, onde se incluem as comunidades microbianas que formam flocos suspensos é dada por Shneider (2008), descrevendo os biofilmes microbianos como comunidades de microrganismos que vivem em superfícies ou que vivem suspensas em solução e podem, ou não, estar envoltas por uma matriz de exopolímeros (EPS), onde a posição espacial relativa dos organismos individuais é fixa durante uma geração e relativamente fixa durante próximas gerações.

Os biofilmes, também conhecidos como “filmes microbianos”, são tipicamente constituídos por (IWAI & KITAO, 1994):

- Água;
- Microrganismos;
- Substâncias poliméricas extracelulares (EPS);
- Partículas retidas;
- Substâncias dissolvidas e adsorvidas.

Segundo Melo (2003), o biofilme é composto por cerca de 90% de água e as substâncias poliméricas extracelulares representam cerca de metade no cômputo total da biomassa. A concentração de células ativas e inertes em um biofilme situa-se entre 10^7 e 10^9 células.cm⁻², os microrganismos representam somente uma pequena parte do biofilme, cerca de 10%.

Os biofilmes possuem uma enorme diversidade de espécies microbianas, em que os microrganismos comumente encontrados são microalgas, fungos, protozoários, bactérias e vírus. Dos microrganismos frequentemente encontrados num biofilme, são as bactérias o grupo predominante. As elevadas taxas de reprodução, grande capacidade de adaptação e de produção de substâncias e estruturas extracelulares, são as principais características que fazem das bactérias organismos com grandes capacidades de produção de biofilme (BRYERS e CHARACKLIS, 1990).

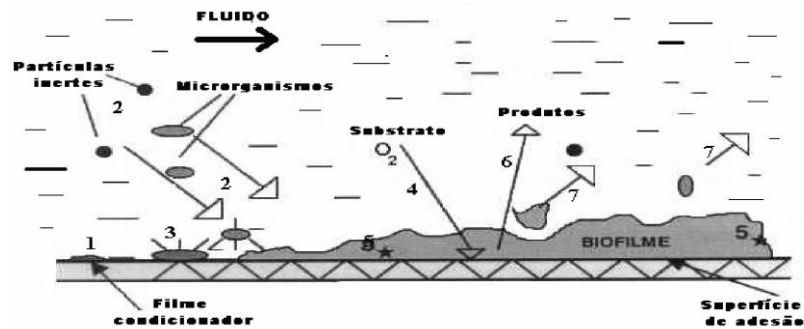
A fixação da biomassa em superfícies de contato acontece em três processos básicos: adsorção, adesão e aderência (estabilização da adesão celular). Consolidada a adesão microbiana, que é a etapa do processo de formação de matrizes heterogêneas sob superfícies de contato, os microrganismos se desenvolvem e produzem substâncias poliméricas extracelulares (frequentemente compostas por polissacarídeos e glicoproteínas), formando, portanto, uma nova matriz de origem biológica denominada biofilme (LESSARD e LE BIHAN, 2003).

Segundo de Melo (2003), os principais processos envolvidos na formação de um biofilme sobre uma superfície sólida em contato com um meio líquido são (Figura 3.1):

- (1) Adsorção de substâncias orgânicas dissolvidas a uma superfície sólida em contato com um meio aquoso, formando-se um “filme condicionador”;
- (2) Transporte de microrganismos e outras partículas do meio aquoso para a superfície sólida condicionada;
- (3) Adesão firme dos microrganismos à superfície;
- (4) Transporte de nutrientes da fase líquida para a interface líquido-biofilme, bem como no interior do filme microbiano;
- (5) Produção de biofilme devido ao consumo dos nutrientes, conseqüente crescimento e reprodução dos microrganismos aderidos e síntese de polímeros extracelulares;
- (6) Transporte de subprodutos do biofilme para o exterior;
- (7) Desprendimento de porções de biofilme devido a fenômenos de erosão superficial (eventos contínuos), abrasão (processos contínuos) e desprendimento, (eventos esporádicos).

O último processo (desprendimento) provoca a perda de biomassa fixa, enquanto os outros seis processos contribuem direta ou indiretamente para o crescimento da camada de biofilme.

Figura 3.1: Principais processos envolvidos na formação de um biofilme.



Fonte: Melo (2003).

Vários são os fatores que influenciam na formação e nas condições de estabilidade do biofilme. Os fatores físicos, químicos e biológicos afetam a composição das matrizes heterogêneas a partir do comportamento hidrodinâmico no meio, da concentração e tipo de substrato, e a partir da fisiologia das células.

Fatores como a ação eletrostática e o grau de hidrofobicidade da célula microbiana também foram apontados como de grande importância no processo de adesão inicial de microrganismos em superfícies sólidas (IWAI e KITAO, 1994), além de características das espécies microbianas e cepas citadas por Melo (2003). A tabela 3.1 mostra uma síntese dos fatores importantes associados à formação e estabelecimento de biofilmes.

Quadro 3.1 Síntese de fatores que afetam a formação e o estabelecimento de biofilmes.

| Fator interveniente | Característica | Aspectos recorrentes |
|---|----------------|---|
| Espécie e fisiologia microbiana | Biológica | Alguns microrganismos produzem maior quantidade de polímeros extracelulares, facilitando a aderência a superfícies sólidas. Compatibilidade hidrofílica ou hidrofóbica do microrganismo com a superfície sólida. |
| Rugosidade da superfície sólida | Física | Atua na formação primária do biofilme por dificultar o arraste de partículas e microrganismos. Atua na estimulação da produção de polímeros extracelulares. |
| Constituintes presentes, pH e temperatura do líquido em contato com o biofilme. | Química | A composição do substrato seleciona os microrganismos predominantes no biofilme. A concentração do substrato pode influenciar na estrutura do biofilme. O maior aporte de matéria orgânica tende a elevar a espessura da matriz biológica. O pH do líquido altera a ação eletrostática entre os microrganismos e a superfície de contato. Pode controlar o desenvolvimento de espécies predominantes como fungos e bactérias. A temperatura altera a atividade metabólica dos microrganismos, influenciando no tempo de crescimento dos microrganismos e estabelecimento do biofilme. |
| Condições hidrodinâmicas (velocidades e turbulências) | Física | Velocidades elevadas: retardam a formação primária do biofilme por tensões tangenciais. Após o estabelecimento do biofilme, elevadas velocidades e turbulências estimulam o crescimento de biomassa em virtude do aumento do fluxo de substrato. Geram biofilmes mais lisos, menos espessos e mais compactos. Velocidades baixas: sob elevadas concentrações o biofilme torna-se espesso, induzindo o aparecimento de zonas inativas pela dificuldade de transferência de massa. |

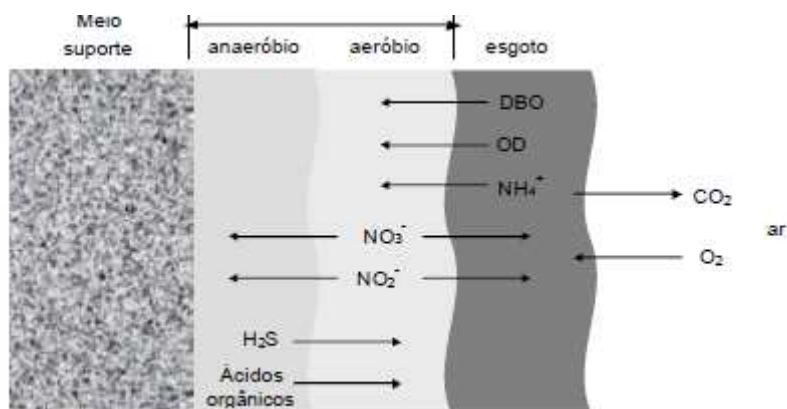
Fonte: Adaptado de Florêncio *et al.* (2009).

Os biofilmes que se encontram em ambientes naturais são de um modo geral heterogêneos contendo mais do que um microambiente distinto. No mesmo biofilme podem ser encontrados estratos aeróbios e estratos anaeróbios (CHARACKLIS, 1990).

A síntese de novas células promove o aumento da biomassa, prejudicando a passagem de oxigênio até as camadas internas, junto à superfície do meio suporte, onde o processo de oxidação passa então a realizar-se anaerobiamente (JORDÃO & PESSOA, 1995).

A Figura 3.2 apresenta de forma esquemática o consumo de substrato e a geração de subprodutos decorrentes das reações bioquímicas do processo de filtração biológica aeróbia

Figura 3.2: Representação esquemática de um biofilme.



Fonte: von Sperling (2005).

3.5 Microbiologia do tratamento de esgotos

Segundo Lessard e LeBihan (2003), o processo de tratamento biológico de efluentes procura imitar os processos naturais e pode ser feito por microrganismos aderidos ou suspensos.

No primeiro caso, a biomassa cresce sem nenhuma estrutura de sustentação e os organismos se concentram formando o floco que apresenta estrutura heterogênea contendo material orgânico adsorvido, material inerte das águas residuárias, material microbiano, células vivas e mortas. Já no crescimento aderido, a biomassa se desenvolve em um meio suporte, formando um biofilme. (VON SPERLING, 2005)

A busca de mais estrutura nos modelos de reatores de biofilme está sendo motivado pelo desejo crescente de especificidade no tratamento biológico de águas residuárias, incluindo a nitrificação, desnitrificação e remoção de substâncias tóxicas (BRYERS e CHARACKLIS, 1990).

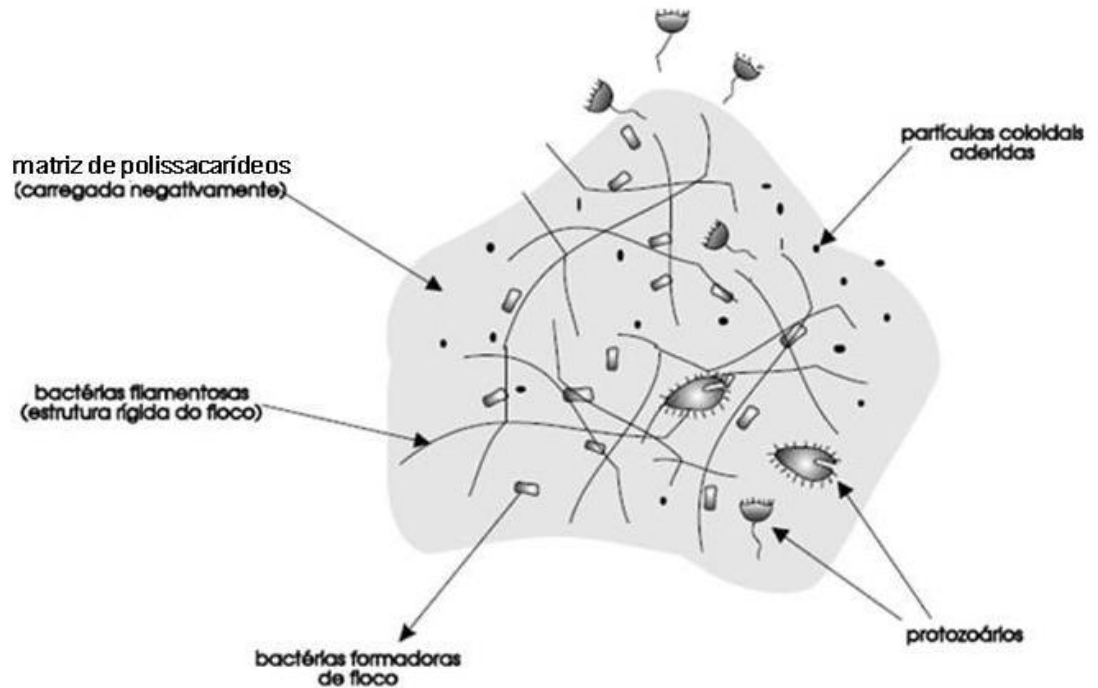
3.5.1 Biomassa em Suspensão

Nos sistemas de biomassa em suspensão, que têm como principal representante o sistema de lodo ativado e suas variantes, a imobilização ocorre na forma de lodo, onde os microrganismos se agregam, formando desde flocos dispersos até grânulos densos. Os microrganismos agregados formam um lodo floculento, que ocupa parcial ou quase totalmente o volume do reator (VON SPERLING, 2005).

Os agregados de flocos são responsáveis pela remoção de material poluente, e compreendem uma grande variedade de espécies microbianas. A mais prevalente e importante destes microrganismos são as bactérias, os protozoários e os metazoários. Fungos e vírus

também são encontrados, mas provavelmente contribuem pouco para o tratamento das águas residuais (HORAM, 2003).

Figura 3.3: Esquema de bactérias e outros microrganismos formando um floco de lodo ativado



Fonte: adaptado de von Sperling (2005).

3.5.2 Biomassa aderida

O tratamento de efluentes por biomassa aderida é caracterizado pela fixação de microrganismos em um meio suporte formando o biofilme em sua superfície (BITTON, 2005).

Bryers e Characklis (1990) avaliam que os sistemas de biomassa aderida para o tratamento de efluentes dependem de populações mistas de microrganismos, principalmente das bactérias que passam a ser imobilizada sobre ou dentro de um suporte inerte e a formar biofilmes ou agregados de biomassa.

Os reatores com biomassa aderida passaram a incluir, além dos filtros percoladores e os biodiscos, diversos tipos de reatores com leito suporte fixo ou móvel. Os processos com leitos móveis possuem meio suporte em permanente movimento, tendo força motriz de origem hidráulica ou mecânica (GONÇALVES *et al.*, 2001).

Figura 3.4: Esquema de bactérias e outros microrganismos do biofilme de sistemas aderidos de biomassa.



Fonte: adaptado de von Sperling (2005).

IWAI e KITAO (1994) fazem uma comparação entre sistemas com crescimento disperso e com crescimento aderido, e os seguintes aspectos relativos ao crescimento aderido são ressaltados:

- O reator pode ser operado com tempos de detenção hidráulica inferiores ao tempo de geração celular;
- A concentração de biomassa ativa pode ser superior à de sistemas com crescimento disperso;
- A velocidade de remoção de substrato pode ser superior à de sistemas com crescimento disperso;
- A coexistência entre microrganismos aeróbios e anaeróbios é maior que nos sistemas de crescimento disperso, porque a espessura do biofilme é usualmente superior ao diâmetro do floco biológico;
- As células estão fixas à fase sólida, enquanto o substrato está na fase líquida.
- Esta separação reduz a necessidade ou os requisitos para o estágio de clarificação posterior;
- Os microrganismos são continuamente reutilizados. Nos sistemas com crescimento disperso a reutilização só pode ser implementada através da recirculação da biomassa.

Lubberding (1995) explica a diferença potencial entre a atividade da biomassa dispersa e aderida, e conseqüentemente da velocidade de remoção de substrato. Segundo o autor, a biomassa dispersa possui uma densidade próxima à do esgoto, movendo-se praticamente na mesma direção e velocidade que o mesmo no reator. Em decorrência a biomassa permanece

exposta à mesma alíquota do líquido por um maior período de tempo, fazendo com que a concentração de substrato na vizinhança da célula seja baixa. Com baixas concentrações de substrato, a atividade bacteriana e a própria velocidade de remoção de substrato são mais baixas. Apenas a uma distância um pouco afastada da célula, a concentração de substrato é mais elevada. Considerando-se esta dependência entre concentração do substrato e atividade microbiana, torna-se evidente a importância representada pelo nível de mistura no reator.

Nos sistemas com biomassa aderida, a densidade do conjunto meio suporte-biomassa é bastante diferente da densidade do líquido no reator, possibilitando a existência de gradientes de velocidade entre o líquido e a camada externa do biofilme. Como resultado, as células estão continuamente expostas a novos substratos, potencialmente aumentando a sua atividade (VON SPERLING, 2005).

O estudo realizado por Santos (2006) apresenta resultados de filtro biológico percolador em escala real utilizando dois diferentes meios suporte plásticos (anéis randômicos e bloco *cross flow*) em função dos parâmetros DQO, DBO e SST.

Almeida (2007) apresenta resultados do efeito de diferentes tipos de meio suporte no desempenho de filtros biológicos percoladores aplicados como pós-tratamento de efluentes de reatores UASB, focando seu estudo na nitrificação. Outro estudo com filtros biológicos percoladores focando a remoção de nitrogênio foi realizado por Fonseca (2009), onde foi testado o desempenho da nitrificação considerando eficiência de molhamento do meio suporte, cargas aplicadas de DBO e $\text{NH}_4^+\text{-N}$, configuração geométrica do reator diversos fatores ambientais.

Philips (2008) utilizou em seu trabalho três reatores de biodiscos rotativos independentes, diferindo entre si apenas nos diferentes materiais suporte utilizados na confecção dos discos, para tratar efluentes com alta taxa de nitrogênio.

Spínola (2009) utilizou biofilmes aderidos em sistema células de fluxo para nitrificação de substrato sintético simulando efluente de UASB, submetidos a diferentes velocidades superficiais e taxas de carregamento.

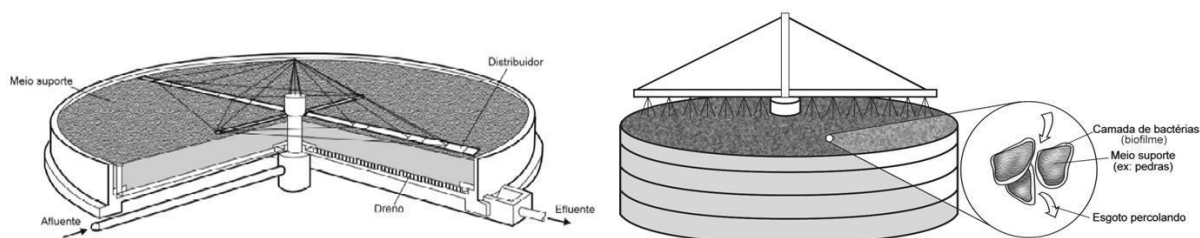
3.6 Filtros Biológicos percoladores para o tratamento de esgotos

Os Filtros Biológicos Percoladores (FBPs) são caracterizados como sistemas de tratamento aeróbio de esgoto. A tecnologia se baseia na aplicação contínua e uniforme dos esgotos por meio de distribuidores hidráulicos, que permitem que o líquido percole pelo meio suporte em direção aos drenos de fundo. O filtro biológico percolador funciona em fluxo

contínuo e sem inundação da unidade. São sistemas, permanentemente sujeitos à renovação do ar, que naturalmente circula nos espaços vazios do meio suporte, disponibilizando o oxigênio necessário para a respiração dos microrganismos, e por este motivo também são conhecidos como reatores de biofilmes (VON SPERLING, 2005; CHERNICHARO, 1997).

A Figura 3.6 mostra os principais detalhes de um filtro biológico percolador típico e o princípio de funcionamento e remoção dos constituintes do esgoto no reator.

Figura 3.5: Principais componentes de um filtro biológico percolador e princípio em funcionamento.



Fonte: von Sperling (2005).

Após a aplicação, os esgotos percolam pelo meio suporte em direção aos drenos do fundo. A percolação dos esgotos permite o crescimento bacteriano na superfície do material de enchimento, formando uma película fixa, chamada de biofilme. O esgoto passa sobre o biofilme, promovendo contato entre os microrganismos e o material orgânico (METCALF & EDDY, 1991).

O principal processo de degradação do poluente que chega aos filtros biológicos é a oxidação biológica. A matéria orgânica é absorvida na camada biológica, de modo a sofrer a degradação aeróbia nas camadas exteriores. À medida que os organismos crescem, a espessura da camada biológica aumenta e o oxigênio não consegue penetrar em todas as camadas, sendo consumido antes de atingir as faces interiores que se comportam anaerobicamente (CHERNICHARO, 1997).

O esgoto que percola pelo meio filtrante lava o filme microbiano, que o recobre e arrasta consigo os excessos de sólidos e o biofilme microbiano, de forma a haver sempre a substituição de novas camadas biológicas. A maior ou menor retirada de sólidos e formação de novos organismos são funções das cargas hidráulica e orgânica aplicadas (CHERNICHARO, 1997). O material desprendido é removido em unidade de decantação secundária, obtendo-se assim, um efluente final clarificado com baixas concentrações de matéria orgânica e sólidos em suspensão (VON SPERLING, 2005).

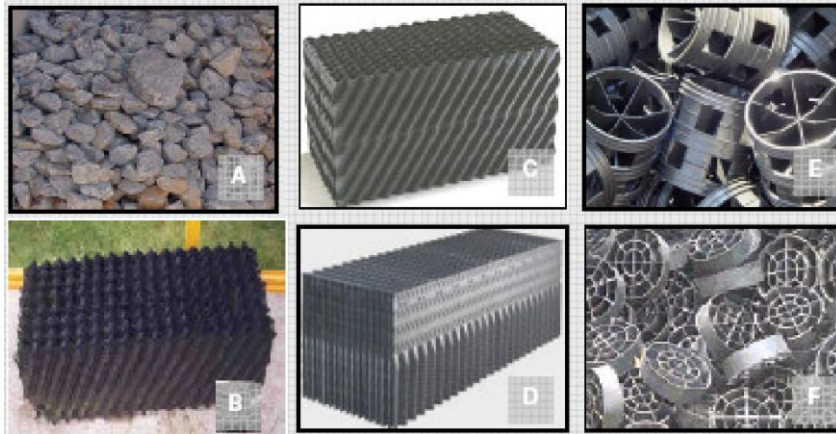
3.6.1 Material suporte

A seleção para o enchimento dos filtros biológicos (meio suporte) é de fundamental importância no desempenho do processo, uma vez que este é responsável pelo estabelecimento da biomassa. Esse material de enchimento deve apresentar as seguintes características, segundo Chernicharo *et al.* (1997).

- Elevado volume de vazios, visando evitar obstruções pelo crescimento do volume de sólidos e para garantir um adequado suprimento de oxigênio;
- Elevada área superficial, para aumentar a quantidade de microrganismos presentes e aumentar, conseqüentemente, a capacidade de remoção de matéria orgânica;
- Ser estruturalmente forte, para suportar o seu próprio peso e o peso do biofilme que cresce aderido às suas paredes;
- Ser suficientemente leve, para permitir reduções significativas nos custos de obras civis e para permitir construções mais altas que conseqüentemente ocupem menos área;
- Ser biológica e quimicamente inerte;
- Apresentar o menor custo possível por unidade de DBO removida.

Segundo Jordão & Pessoa (1995), existem diversos tipos de materiais que podem ser utilizados, tais como: pedra britada, escória de alto-forno, e de maneira mais eficiente, materiais sintéticos de plástico de várias formas e tamanhos. Os meios suporte comumente utilizados em FBPs são a pedra britada e os meios plásticos do tipo blocos *Crossflow* (verticais, 45 e 60°), blocos *Vertical Flow* e anéis randômicos. A Figura 3.7 ilustra os tipos de meio suporte normalmente utilizados em FBPs.

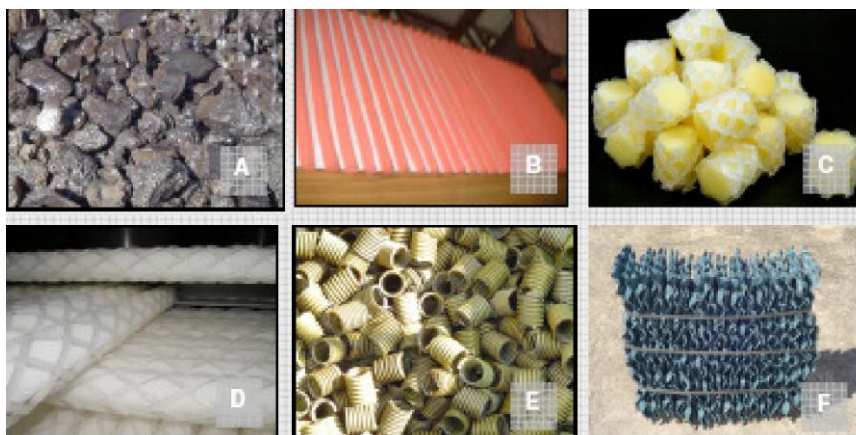
Figura 3.6: Tipos de meio suporte normalmente utilizados em FBP. (A) Pedra Britada (B) Bloco *Crossflow* 60° (C) Bloco *Crossflow* 45°, (D) Bloco *Vertical Flow*, (E) Anel Randômico (Ø 84mm) e (F) Anel Randômico (Ø 48mm). Fonte: Santos *et al.*, (2005); Almeida (2007).



Fonte: Adaptado de Almeida (2007).

Outros materiais de enchimento recentemente testados em pesquisas são reportados da literatura por Almeida (2007), como eletrodutos corrugados (fracionados em pedaços de 4 cm de comprimento), blocos de plástico corrugado (em fase de teste) e concepções do sistema *Downflow Hanging Sponge*. Os meios suporte alternativos comentados encontram-se ilustrados na Figura 3.8.

Figura 3.7: Tipos de meio suporte alternativos utilizados em FBP: (A) Escória de alto-forno, (B) DHS (“curtain-type”), (C) DHS (“random-packing”), (D) DHS (“arrayedpacking”), (E) conduíte corrugado (Ø 25,4 mm) e (F) Rotopac.



Fonte: Adaptado de Almeida (2007).

Ao contrário de outras tecnologias aeróbias que utilizam equipamentos mecanizados para aeração, os FBPs obtêm fornecimento de oxigênio por fenômenos naturais. A percolação

dos esgotos provoca diferenças de temperatura entre as partes externa e interna do FBP fazendo com que o ar dentro da unidade tenha uma densidade distinta daquela encontrada do lado de fora, gerando assim um fluxo de ar natural que pode ser ascendente ou descendente (JORDÃO & PESSÔA, 1995).

3.6.2 Composição de microrganismos do biofilme em FBPs

A biologia dos biofilmes em FBPs é compreendida por bactérias aeróbias, anaeróbias e facultativas, fungos, algas, rotíferos, protozoários, flagelados, ciliados, nematódeos e alguns artrópodes em diferentes estágios de desenvolvimento. As bactérias aeróbias são os organismos predominantes em biofilmes heterotróficos (METCALF & EDDY, 1991).

Bactérias aeróbias e anaeróbias decompõem a matéria orgânica do esgoto doméstico em biofilmes com depleção de oxigênio, sendo *Acromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e *Alcaligenes* as espécies mais encontradas. As bactérias filamentosas *Sphaerotilus natans* e *Beggiatoa* podem ser encontradas na camada viscosa (METCALF & EDDY, 1991).

Em um estudo realizado por Park *et al.* (2008), foi utilizado 4 reatores aeróbios de leito fixo, inoculados com lodo ativado de ETE e tratando água residuária sintética com concentrações médias de N-amoniaco de 26,8 mg. L⁻¹ e DBO de 67,3 mg. L⁻¹, para verificar o efeito de diferentes concentrações de OD (1;3;4;5 e 7 mg.L⁻¹) no biofilme nitrificante e concluíram que as maiores concentrações de OD resultaram no aumento da população de BOA e BON e das bactérias heterotróficas.

Missaglia e colaboradores (2010) compararam a microbiota presente no biofilme de quatro diferentes tipos de materiais de enchimento em um filtro biológico percolador onde o topo do FBP foi observada alta riqueza de espécies, em todos os compartimentos, enquanto o meio do reator apresentou baixa abundância de microrganismos. O aumento significativo da quantidade de células de *Nitrobacter* foi detectado do meio para o fundo de todos os FBP, em ambas as fases de operação (COV de 0,24 e de 0,38 kgDBO/m³. d), em consonância com as elevadas concentrações de nitrato e baixas concentrações de DBO também verificadas nesta porção dos filtros. Contudo, as abundâncias de células de BOA e *Nitrospira* permaneceram constantes. As diferentes composições e configurações dos materiais suporte proporcionam condições ambientais distintas, conduzindo ao desenvolvimento de vários perfis diferentes de distribuição e abundâncias de Bacteria, BOA e BON e *T. denitrificans*, sendo que o sistema preenchido com meio suporte DHS (*Downflow Hanging Sponge*), apresentou a maior abundância de todos os microrganismos investigados nas duas fases de operação.

Persson *et al.*, (2001) investigaram microbiologicamente o biofilme de um filtro biológico em escala real em diferentes profundidades e tempos de funcionamento, o gênero *Nitrosomonas* foi identificado como predominante das bactérias nitrificantes, sendo encontrado ao longo de todo o filtro e diferentes ocasiões de amostragem, os autores também observaram uma tendência na diminuição de abundância com a profundidade do FBP, assim como o potencial de oxidação de amônia.

Em um estudo experimental realizado por Agra e colaboradores (2009) foi investigado o desempenho da nitrificação em um reator aeróbio utilizando como meio suporte bucha vegetal (*Luffa cylindrica*), que apresentou um bom desempenho, proporcionando condições adequadas para aderência de microrganismos, especialmente aqueles responsáveis pela nitrificação. Pela observação das lâminas com amostras do lodo do reator verificou-se uma diversidade de microrganismos em atividade, dentre eles: protozoários ciliados, tecamebas do tipo *Arcella* em número elevado, além de micro-metazoários, como rotíferos, nematóides e Aelosomas. As análises físico-químicas mostraram que o reator apresentou uma grande eficiência de remoção de NTK (93%), N-amoniacal (95%) e Demanda Química de Oxigênio (80%).

3.7 Técnica do número mais provável - estimativa das populações microbianas

O método do Número Mais Provável (NMP) permite estimar a densidade da população microbiana sem uma contagem individual das células ou colônias. Microbiologistas frequentemente estimam o tamanho de populações com base na maior diluição na qual o crescimento pode ser obtido. Então, se o crescimento foi observado na diluição 10^{-4} , mas não na 10^{-5} , estima-se que o número de células viáveis deve estar entre 10^4 e 10^5 , o número de células viáveis é estimado estar entre 10^4 e 10^5 . O teste de várias alíquotas de uma série de diluições sucessivas, junto com cálculos estatísticos e interpolações, fornece estimativas muito mais precisas (ALEXANDER, 1982 *apud* KIELING, 2004).

O princípio do método foi proposto por Alexander & Klark (1982) para análise de solos, mas adaptado para outras amostras como para lodo. Os meios de cultura utilizados nesta análise são específicos para bactérias oxidadoras de amônio e oxidadoras de nitrito, possibilitando o desenvolvimento dos diversos gêneros bacterianos envolvidos em cada um destes grupos. No entanto, levando-se em conta que as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são as principais representantes do grupo de oxidadoras de amônio e de oxidadoras de nitrito, respectivamente, será feita referência apenas a estes dois gêneros, sem descartar a possibilidade de que outras bactérias podem também estar sendo quantificadas (KIELING, 2004).

Para enumerar *Nitrosomonas*, bactéria oxidadora de amônia, as diluições da amostra devem ser inoculadas em meio inorgânico contendo o íon amônio como fonte de nitrogênio. Caso estejam presentes *Nitrosomonas* na forma viável no inóculo, haverá crescimento e o nitrito será produzido, porém, é necessário não ter produção de nitrito nos tubos não inoculados (controle). Mesmo que o nitrito não seja encontrado, antes de afirmar que o teste é negativo, é necessário fazer o teste para nitrato, porque as bactérias oxidantes de nitrito convertem o nitrito produzido pelas *Nitrosomonas* em nitrato. Portanto, no caso de o nitrato ser encontrado, indica também a presença de *Nitrobacter*, bactéria nitrito-oxidante, mas, novamente, os testes nos tubos controle devem ser negativos. Na enumeração de *Nitrobacter*, o meio empregado deve ser livre de matéria orgânica e como fonte de energia é utilizado nitrito. A presença de *Nitrobacter* é dada pelo teste negativo (ausência) de nitrito e teste positivo nos tubos não inoculados (KIELING, 2004).

Pesquisas utilizando esse método para quantificação dessas bactérias em reatores têm sido realizadas na última década, dentre elas, as pesquisas desenvolvidas por Etchebere *et al.* (2001), Mendonça *et al.* (2001), Yun & Kim (2003), Kieling (2004), Philips (2008), Spínola (2009).

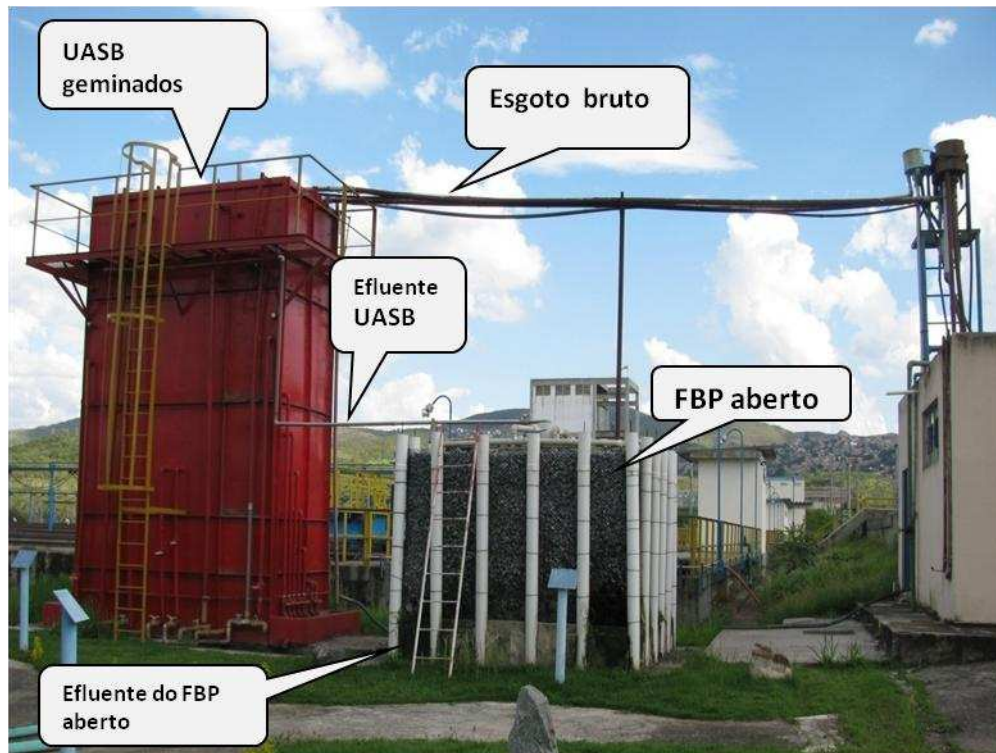
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aparato experimental

A pesquisa foi conduzida no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da Universidade Federal de Minas Gerais, localizado na ETE Arrudas (Estação de Tratamento de Esgoto da cidade de Belo Horizonte/MG).

O aparato experimental é constituído por um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) seguido por um filtro biológico percolador aberto (FBPA), apresentado na figura 4.1.

Figura 4.1: Sistema reator UASB +FBP aberto existente no CePTS UFMG/COPASA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O reator anaeróbio é constituído por dois reatores posicionados um ao lado do outro (geminados) com volume útil de $16,8 \text{ m}^3$ para cada reator. O esgoto é distribuído no fundo de cada unidade e deixa o reator UASB através de um decantador interno, localizado na parte superior da unidade.

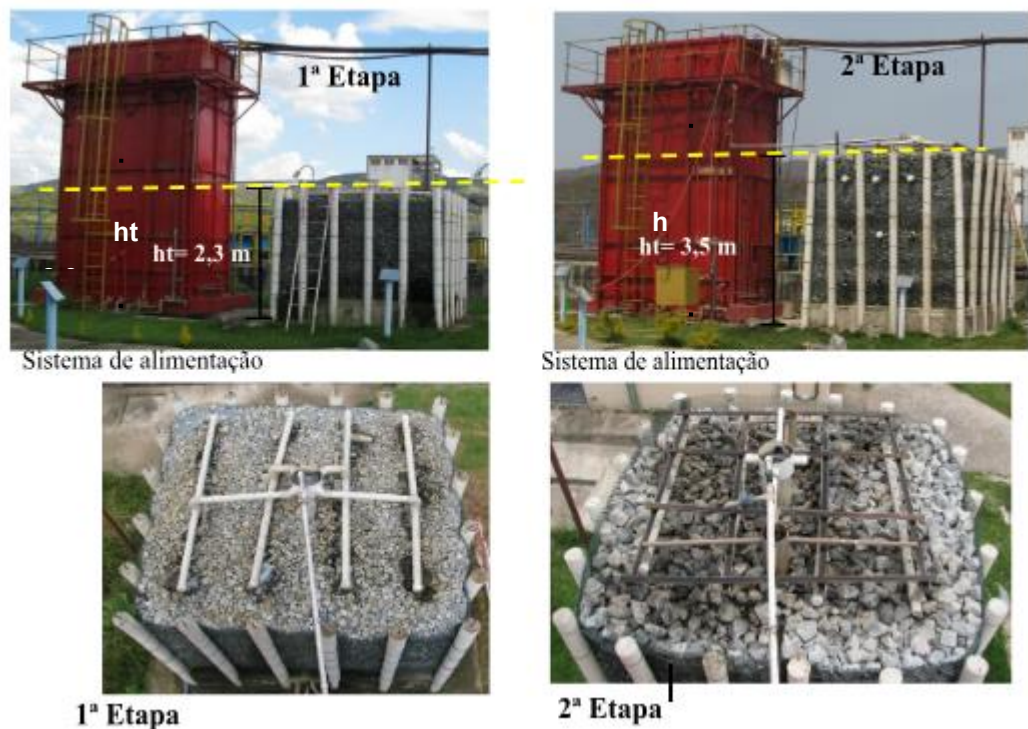
Para a remoção de nitrogênio amoniacal por nitrificação está sendo utilizado um filtro biológico percolador do tipo aberto (FBPA), sem paredes laterais, atuando como pós-tratamento do efluente de um reator UASB.

O efluente tratado no reator UASB é distribuído na parte superior do FBPA, onde o fluxo de esgoto passa a ter uma trajetória descendente através do material de enchimento. Os materiais de enchimento do FBPA são constituídos por brita nº 4 e pedra de mão com as finalidades de proporcionar meio suporte para o biofilme e a condição de sustentação e espalhamento do líquido, respectivamente.

O FBPA não possui laje e fundo falso. Devido às suas características trata-se de uma concepção inovadora, econômica em termos de redução do concreto, e que permite ampla ventilação pelas laterais, devido à inexistência de paredes.

O FBPA está sendo avaliado em duas etapas diferenciadas pela altura e pelo sistema de alimentação (Fig. 4.2), para a segunda etapa o FBPA será avaliado em diferentes fases operacionais. A altura total (ht) do meio suporte na 1ª etapa será de 2,3 m e 3,5 m para a 2ª etapa. O sistema de distribuição (alimentação) do afluente no FBPA na 1ª etapa foi constituído por tubos perfurados e na 2ª etapa por calhas com vertedores triangulares.

Figura 4.2. Altura e sistema de alimentação do FBPA nas etapas avaliadas.



As alturas do meio suporte para a primeira (E1) e segunda (E2) etapas foram de 2,3 m e 3,5 m, respectivamente. A configuração do meio de enchimento no FBPA para a primeira etapa foi com uma camada de 0,8 m de pedra de mão no fundo e acima uma camada de 1,5 m de brita nº 4. Para a segunda etapa da pesquisa foi adotada uma camada de 2,2 m de brita nº 4 no interior do FBPA, e duas camadas de pedra de mão com 0,8 m e 0,5 m no fundo e no topo do FBPA, respectivamente. Acredita-se que a configuração da segunda etapa possa promover uma maior área de fixação do biofilme e melhor espalhamento do líquido.

As principais características físicas dos materiais de enchimento são apresentadas na tabela a seguir (tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Características dos materiais de enchimento do FBPA.

| Tipo de material | Graduação ¹ (mm) | Porosidade (%) | Massa específica (kg/m ³) | Superfície específica (m ² /m ³) |
|------------------|--------------------------------|-------------------|---|---|
| Brita nº4 | 70 | 51 | 1245 | 64 |
| Pedra de mão | 185 | 50 | 1378 | 23 |

Fonte: Vieira (2010).

O sistema de distribuição (alimentação) do FBPA na primeira etapa foi constituído por tubos perfurados e na segunda etapa por meio de calhas com vertedores triangulares, com o intuito de melhorar as condições de molhabilidade. As principais características dimensionais do FBPA, em cada etapa são apresentadas na tabela 4.2.

Tabela 4.2: Características do FBP aberto.

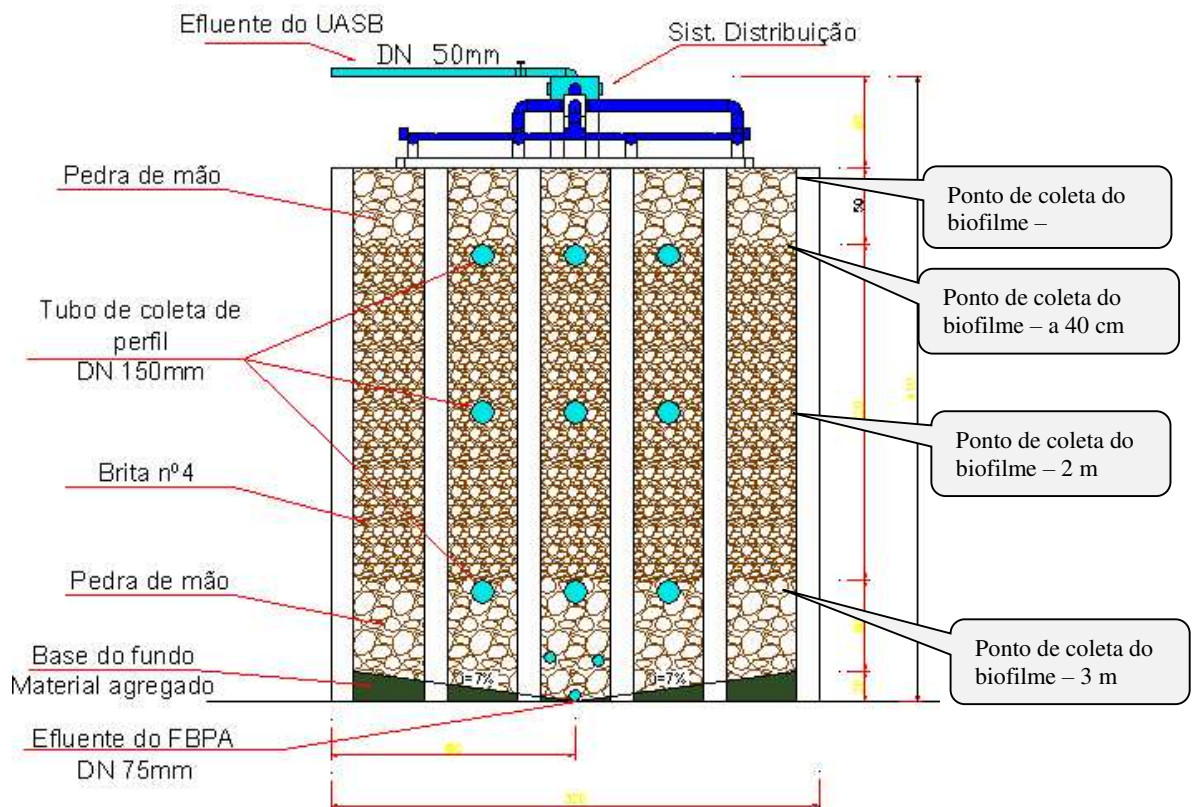
| Unidades | Parâmetro | 1ª Etapa | 2ª Etapa | |
|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|-------------|------|
| FBPA | Altura total (m) | 2,30 | 3,50 | |
| | Largura total (m) | 3,20 | 3,20 | |
| | Largura útil ¹ (m) | 2,80 | 2,80 | |
| | Área superficial (m) | 7,84 | 7,84 | |
| | Volume útil (m) | 17,9 | 27,3 | |
| | | 4 | | |
| Meio de enchimento | Pedra (Brita nº 4) | 1,50 | 2,20 | |
| | Pedra de mão | 0,80 | 1,30 | |
| Sistema de alimentação | Tubos perfurados | Comprimento (m) | 2,20 | - |
| | | Diâmetro (mm) | 75 | - |
| | | Quantidade | 4 | - |
| | Calhas vertedoras | Comprimento (m) | - | 2,3 |
| | | Diâmetro (mm) | - | 60 |
| | | Quantidade | - | 8 |
| Coleta do efluente | Canaleta | Comprimento (m) | - | 2,80 |
| | | Largura (m) | - | 0,30 |
| | | Altura (m) | - | 0,20 |

¹ Sem as vigas de sustentação.

4.2 Coleta e preparo das amostras

O biofilme gerado no FBPA foi monitorado quanto à abundância das bactérias nitrificantes (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*) nas diferentes etapas e fases de operação, com amostragens a cada dois meses. Na segunda etapa, o biofilme foi coletado em diferentes profundidades (superfície, até 0,4 cm, a 2 m e a 3 m) do meio suporte. A coleta do biofilme foi realizada pela lavagem do meio suporte com solução tampão, sendo coletados cerca de 2 litros do material suporte para cada ponto. O processo de extração do biofilme se deu através da lavagem das britas e pedras de mão com tampão fosfato PBS (Tampão Salina Fosfato). O líquido contendo o biofilme foi armazenado em frascos e transportado ao laboratório de microbiologia do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA- UFMG), sendo armazenado a cerca de 4°C.

Figura 4.3. Pontos de amostragem do biofilme no FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

4.3 Análises microbiológicas

Para determinação da densidade das bactérias nitrificantes foi utilizada a técnica NMP (Número Mais Provável) adaptada do método proposto por Alexander & Clark (1982, *apud* Kieling, 2004), uma vez que este é baseado em análise de solos. Os meios de cultura utilizados nesta análise são específicos para bactérias oxidadoras de amônia e oxidadoras de nitrito, possibilitando o desenvolvimento dos diversos gêneros bacterianos envolvidos em cada um destes grupos. No entanto, levando-se em conta que as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são as principais representantes do grupo de oxidadoras de amônia e de oxidadoras de nitrito, respectivamente, foi feita referência apenas a estes dois gêneros, sem descartar a possibilidade de que outras bactérias podem também estar sendo quantificadas.

4.3.1 Número mais provável de *Nitrosomonas* (BOA)

Preparo do material:

1. Meio Amônia-carbonato de cálcio para *Nitrosomonas*

Para 1000mL de água, foram adicionados 0.302g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1,0g de K_2HPO_4 ; 0,03g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,3 de NaCl; 0,3g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 3,33 g de CaCO_3 .

Desta solução foram transferidos 3 mL para tubos de ensaio e esterilizados em autoclave.

2. Reagente de *Griess-Ilosvay*

Foram dissolvidos 0,6g de ácido sulfanílico em 70mL de água destilada quente. Após resfriar a solução, foram adicionados 20mL de HCl concentrado, diluindo a seguir a mistura para 100mL com água destilada e misturando bem. Foram dissolvidos 0,6g de alfa-naftalamina em 10 a 20mL de água contendo 1mL de HCl concentrado, diluindo em seguida para 100mL com água. Foram dissolvidos 16,4g de $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em água e completado o volume da solução para 100mL com água. As soluções foram acondicionadas em vidros escuros, separadamente, e estocadas sob refrigeração.

3. Reagente de nitrato: Foram dissolvidos 50mg de difenilamina em 25mL de H_2SO_4 concentrado, sendo guardado em frascos protegidos da luz por no máximo 14dias.

4. Foram feitos brancos com água destilada.

Procedimento analítico:

A amostra do biofilme nitrificante foi submetida a uma agitação com pérolas de vidro, de modo a desagregar suas partes tanto quanto possível. Foram preparadas as diluições em série transferindo alíquotas de 1mL para cada um dos cinco tubos contendo meio estéril, a partir da mais alta diluição preparada.

Esse mesmo procedimento foi repetido para as outras quatro mais baixas diluições. Os tubos inoculados foram incubados por 3 semanas a 28 ° C, juntamente com uma sequência de tubos não inoculados (brancos), utilizados como controle.

Após o período de incubação, foi realizado o teste para nitrito, em cada tubo, usando o reagente de *Griess-Ilosvay*. Primeiramente, foram misturadas partes iguais dos três reagentes e, então, adicionadas três gotas da mistura na cultura a ser testada. Se ocorresse, em poucos minutos, o aparecimento de uma cor vermelho-púrpura, indicava a presença de nitrito, sendo o teste, portanto, positivo. Para os tubos que não apresentaram resultado positivo, era feito o teste para nitrato, adicionando uma gota do reagente de difenilamina. Se ocorresse desenvolvimento de uma cor azul o teste era considerado positivo para *Nitrosomonas*, significando que o nitrito produzido pelas *Nitrosomonas* tinha sido convertido pelas *Nitrobacter* em nitrato. Caso ocorresse teste positivo para nitrito ou nitrato nos tubos controle (brancos), significaria a ocorrência de alguma contaminação e o resultado obtido deveria ser desprezado.

4.3.2 Número mais provável de *Nitrobacter* (BON)

Preparo do material:

1. Meio Nitrito-carbonato de cálcio para *Nitrobacter*

Para 1000 ml de água destilada, foram adicionados 0,006g de KNO_2 , 1,0g de K_2HPO_4 , 0,3g de NaCl , 0,1g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,03g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0g de CaCO_3 e 0,3g de CaCl_2 .

A seguir, foram transferidos 3mL do meio para tubos de ensaio e esterilizados em autoclave por 15 minutos.

2. Reagente *Griess-Ilosvay* (conforme descrito no item 4.3.1).

3. Foram feitos brancos com água destilada.

Procedimento analítico:

A amostra de biofilme foi coletada do filtro biológico e preparada para a determinação através de agitação com bolinhas de vidro, de modo a desagregar seus constituintes tanto quanto possível. Foram preparadas as diluições em série transferindo alíquotas de 1mL para cada um dos cinco tubos contendo meio estéril, a partir da mais alta diluição preparada. Este mesmo procedimento foi repetido para as outras quatro diluições mais baixas. Os tubos inoculados foram incubados por 3 semanas a 28°C, juntamente com uma sequência de tubos não inoculados (brancos), utilizados como controle.

No final do período de incubação, foi testado apenas nitrito usando o reagente de *Griess Ilosvay*. O teste era considerado positivo para *Nitrobacter* se o meio não desenvolvesse coloração avermelhada (coloração característica de nitrito) e negativo se apresentasse coloração.

4.4 Análises físico-químicas

O monitoramento do esgoto e dos efluentes (UASB e FBPA) foi realizado com amostras simples e compostas – frequência de duas vezes por semana. Os parâmetros físico-químicos discutidos neste trabalho, N-amoniaco (N-NH_4^+), Nitrogênio Nitroso (N-NO_2^-), Nitrogênio Nítrico (N-NO_3^-) e Sólidos Suspensos Totais (SST), foram determinados segundo metodologia proposta por APHA/AWWA/WEF (2005).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Condições de operação

Os resultados apresentados neste estudo referem-se aos períodos de 07/04/2010 a 04/08/2010 e de 29/09/2010 a 08/06/2011 correspondentes à primeira e segunda etapas de operação do FBPA.

As principais condições impostas ao FBPA (Tabela 5.1), apresentadas por Vieira *et al.* (2011a), estabelecidas pelas vazões aplicadas, características do esgoto e condições de operação do reator UASB resultaram em cargas orgânicas volumétricas (COV) médias de 0,17 kg DBO/m³.d e 0,08 kg DBO/m³.d para a primeira e segunda etapa de operação do FBA, respectivamente. Observa-se que as COVs aplicadas em ambas as etapas estiveram dentro da faixa de 0,1 a 0,2 kg DBO/m³. d, preconizada como propícia para a ocorrência de nitrificação (METCALF & EDDY, 2003).

A relação DBO/NTK afluente ao FBPA, importante para nitrificação em filtro biológico percolador, resultou nos valores de 2,7 para a primeira etapa e 2,3 para a segunda etapa de operação (VIEIRA, *et al.*, 2011a), conforme a tabela 5.1. Valores de DBO/NTK inferiores a 3, geralmente indicam a possibilidade da predominância do processo de nitrificação em relação à oxidação da matéria orgânica, e conseqüentemente, uma maior presença de bactérias nitrificantes.

Tabela 5.1 – Resultados médios das condições impostas ao FBPA nas etapas de operação.

| Operação | Vazão (m ³ /d) | TAS (m ³ /m ² .d) | COV (kg DBO/m ³ .d) | DBO/NTK |
|----------------|------------------------------|--|-----------------------------------|------------|
| Etapa 1 | 32 (14) | 4,1 (1,5) | 0,17 (0,08) | 2,7 (0,49) |
| Etapa 2 | 32 (6) | 4,1 (0,8) | 0,08 (0,06) | 2,2 (0,31) |

(): desvio padrão.

5.2 Estimativa do NMP de bactérias nitrificantes

Nas tabelas a seguir (5.2 e 5.3) são apresentados os valores obtidos para as populações de bactérias oxidadoras de amônia (*Nitrosomonas*) e oxidadoras de nitrito (*Nitrobacter*) presentes no biofilme do FBPA em diferentes profundidades (superfície, até 0,40 m, 2 m e 3m) e no efluente do FBPA.

Tabela 5.2- Número Mais Provável de *Nitrosomonas* no biofilme no efluente do FBPA.

| Operação | Data da coleta | Dias de operação | Profundidades do biofilme amostrado | | | | Efluente (NMP/ml) |
|----------|----------------|------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------|-------------------|
| | | | Superfície (NMP/ml) | 0,40 m (NMP/ml) | 2,00 m (NMP/ml) | 3,00 (NMP/ml) | |
| Etapa 1 | 14/06/2010 | 66 | 2,2E+06 | 2,2E+05 | - | - | - |
| | 14/07/2010 | 99 | 1,8E+07 | 1,2E+05 | - | - | - |
| Etapa 2 | 15/10/2010 | 192 | - | 2,2E+02 | - | - | 1,6E+06 |
| | 09/02/2011 | 309 | - | 2,3E+03 | - | - | - |
| | 05/04/2011 | 364 | - | - | - | - | 8,4E+04 |
| | 04/05/2011 | 393 | - | 2,10E+03 | 1,60E+04 | 1,60E+06 | - |
| | 08/06/2011 | 428 | - | 1,60E+06 | 1,60E+06 | 1,60E+06 | 1,60E+04 |
| | | | | | | | |

Tabela 5.3- Número Mais Provável de *Nitrobacter* no biofilme no efluente do FBPA.

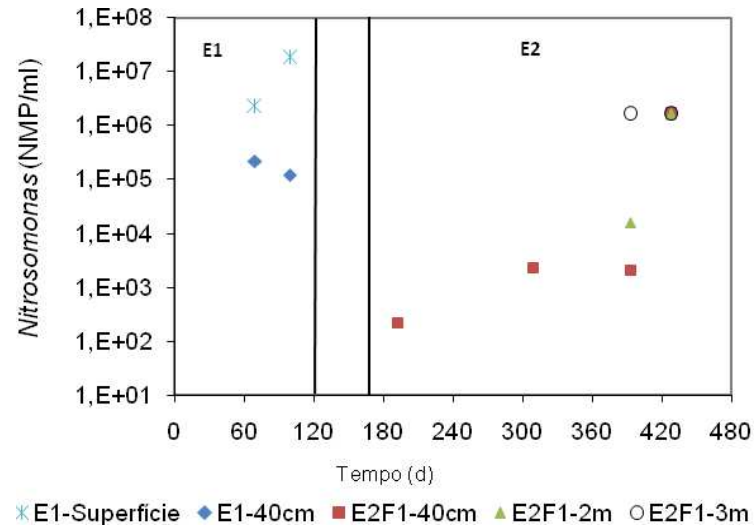
| Operação | Data da coleta | Dias de operação | Profundidades do biofilme amostrado | | | | Efluente (NMP/ml) |
|----------|----------------|------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------|-------------------|
| | | | Superfície (NMP/ml) | 0,40 m (NMP/ml) | 2,00 m (NMP/ml) | 3,00 (NMP/ml) | |
| Etapa 1 | 14/06/2010 | 66 | 1,6E+07 | 1,6E+07 | - | - | - |
| | 14/07/2010 | 99 | 1,6E+07 | *** | - | - | - |
| Etapa 2 | 15/10/2010 | 192 | - | 1,7E+03 | - | - | 1,6E+06 |
| | 09/02/2011 | 309 | - | 9,2E+06 | - | - | - |
| | 05/04/2011 | 364 | - | - | - | - | 1,6E+06 |
| | 04/05/2011 | 393 | - | 3,5E+03 | 2,2E+03 | 5,4E+03 | - |
| | 08/06/2011 | 428 | - | 1,6E+05 | 1,6E+04 | 2,8E+03 | 3,5E+03 |
| | | | | | | | |

*** Valor não identificado.

A coleta de biofilme na superfície foi realizada na etapa 1 (quando o FBPA tinha 2,5 m de altura), após a intervenção estrutural no FBPA para a etapa 2, com os dispositivos de coleta instalados, as coletas ocorreram nas profundidades de até 0,40 m, 2,00 m e 3,00 m. Para as profundidades de 2,00 m e 3,00 m foram realizadas coletas após 393 dias de operação do FBPA, durante a segunda etapa, devido ao desenvolvimento do biofilme nos dispositivos de amostragem instalados.

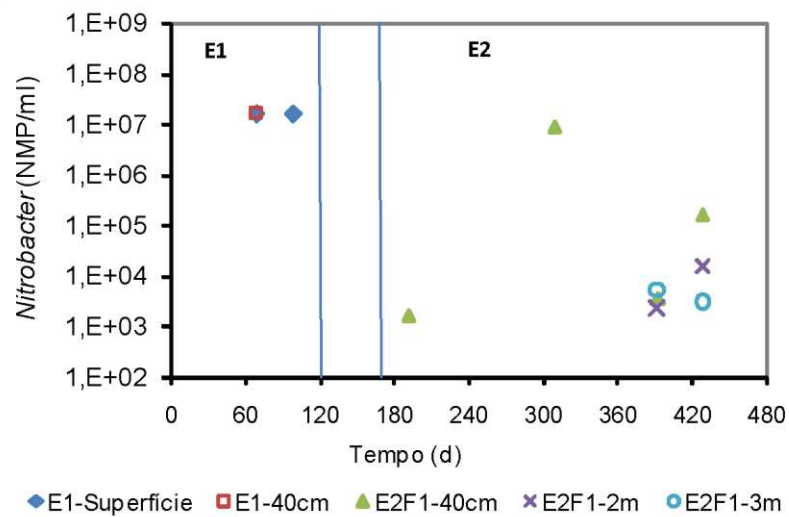
Nas figuras 5.1 e 5.2 são apresentadas as séries temporais das densidades de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* no biofilme amostrado em diferentes profundidades do FBPA.

Figura 5.1: Série temporal das densidades de *Nitrosomonas* no biofilme do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 5.2: Série temporal das densidades de *Nitrobacter* no biofilme do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O estudo realizado por Spínola (2009), utilizando biofilmes aderidos em sistema de células de fluxo, submetidos a diferentes velocidades superficiais e taxas de carregamento de efluente sintético (simulando efluente de reator UASB), apresentou a estimativa em NMP/mL para bactérias oxidadoras de amônia na ordem de 10^4 e 10^5 NMP/mL e de bactérias oxidadoras de nitrito na ordem de 10^2 e 10^4 NMP/mL. Yun & Kim (2003), em um reator de biofilme, obtiveram valores de $4,7 \times 10^5$ NMP/mL e $3,8 \times 10^4$ NMP/mL, para bactérias oxidadoras de amônia e de nitrito, respectivamente, em condições operacionais de 500 mg N-NH₄⁺/L e concentração média de OD de 6 mg O₂/L.

Os valores da estimativa de NMP/mL de bactérias nitrificantes encontrados no presente estudo (variação de 10^2 e 10^7 NMP/mL para *Nitrosomonas* e 10^3 e 10^7 NMP/mL *Nitrobacter*) apresentaram-se, em alguns períodos, um pouco acima dos valores encontrados na literatura, sendo que este fato pode ter relação com a oxigenação proveniente da ventilação natural nas paredes abertas do FBPA. Conforme observado por Vieira *et al.* (2011a), as taxas de aplicação de COV e da relação DBO/NTK podem ter conduzido a menores taxas de crescimento de microorganismos heterotróficos, e desta forma, diminuindo a competição por oxigênio e espaço no meio suporte com os microorganismos nitrificantes.

Gonçalves *et al.*, 2001 comentam que em muitos sistemas aeróbios, a velocidade de transferência de oxigênio para as células é o fator limitante, o qual determinará a velocidade de conversão biológica. Desta forma, a eficiência no fornecimento de oxigênio dissolvido (OD) para as bactérias nitrificantes se torna um fator preponderante. Neste sentido, Florêncio *et al.* (2009), destacam o papel da ventilação natural, que tem sido uma alternativa suficiente para o fornecimento de oxigênio para a manutenção das condições aeróbias do biofilme em FBPs.

Os valores de NMP/gSST, aqui avaliados para efeito de comparação com a literatura, foram analisados nas coletas realizadas após 189 dias de operação da segunda etapa do FBPA, apresentaram maiores valores de densidade para as bactérias oxidadoras de amônia, em uma variação entre 10^4 e 10^7 NMP/gSST, enquanto que para *Nitrobacter* esta variação foi entre 10^3 e 10^7 NMP/gSST. Esta relação também foi observada no estudo realizado em escala piloto por Philips (2008), em sua estimativa de bactérias nitrificantes no monitoramento durante 460 dias de operação em 3 reatores de biodiscos com diferentes materiais suporte, onde encontrou valores entre 10^6 e 10^9 NMP/gSST para *Nitrosomonas* e entre 10 e 10^4 NMP/gSST para *Nitrobacter*. Segundo a autora este fato se deu, provavelmente, pela limitação de oxigênio dissolvido e altas concentrações de amônia livre aplicadas em seu sistema.

Analisando os valores das densidades das bactérias nitrificantes, observa-se uma tendência de ocorrerem valores maiores para *Nitrosomonas* conforme a profundidade do filtro, e uma tendência a apresentar valores maiores de *Nitrobacter* próximo à superfície do FBPA.

LAANBROEK & GERARDS (1993) afirmam que as bactérias oxidadoras de nitrito são mais afetadas que as oxidadoras de amônio pelas baixas concentrações de oxigênio no meio, por apresentarem maiores valores de constante de afinidade pelo oxigênio (K_m). Considerando que o K_m representa o inverso da afinidade, quanto maior o K_m maior é a dificuldade da célula se ligar ao oxigênio para processar a reação. Então, em baixas concentrações de oxigênio, as bactérias oxidadoras de nitrito não conseguem competir pelo oxigênio com as oxidadoras de amônia, sendo esperado um maior desenvolvimento das células de *Nitrosomonas* em relação às de *Nitrobacter*. Desta forma, nas maiores profundidades do filtro pode ter ocorrido uma maior competição por oxigênio dissolvido entre as bactérias oxidadoras de amônia e nitrito.

Outro fator que pode ter influência na densidade das bactérias nitrificantes é a existência da competição entre organismos heterótrofos e bactérias nitrificantes por substrato e espaço nos biofilmes, fato este de grande importância, pois os organismos heterótrofos podem crescer muito rapidamente, e assim predominar na superfície do biofilme. Desse modo, além do consumo de oxigênio pelas bactérias heterotróficas, elas ainda podem funcionar como uma barreira, o que representa uma desvantagem para o crescimento das bactérias nitrificantes (NOGUEIRA *et al.*, 2002). Assim, acredita-se que com a diminuição da concentração de DBO ao longo da profundidade do filtro, também diminui o desenvolvimento das bactérias heterotróficas, aumentando a disponibilidade de oxigênio para as bactérias nitrificantes.

Também pode-se observar que o biofilme do filtro após a intervenção estrutural apresentou uma diminuição em sua densidade, conforme foi observado nos valores de 10^2 NMP/mL para *Nitrosomonas* e 10^3 NMP/mL para *Nitrobacter*. Entretanto, pode-se observar que ao longo do tempo, o biofilme parece se estabelecer, visto que os valores apresentaram as maiores (*Nitrosomonas* variando de 10^3 e 10^6 NMP/mL e *Nitrobacter* log de 10^6 NMP/mL). A análise do efluente também pode demonstrar uma estabilização (valores entre 10^4 e 10^6 NMP/mL para *Nitrosomonas* e 10^3 e 10^6 NMP/mL para *Nitrobacter*), uma vez que, segundo Melo (2003), o desprendimento de porções de biofilme devido a fenômenos de erosão superficial é um dos últimos passos do processo de estabilização do biofilme em superfícies sólidas.

5.3 Análise das etapas de operação

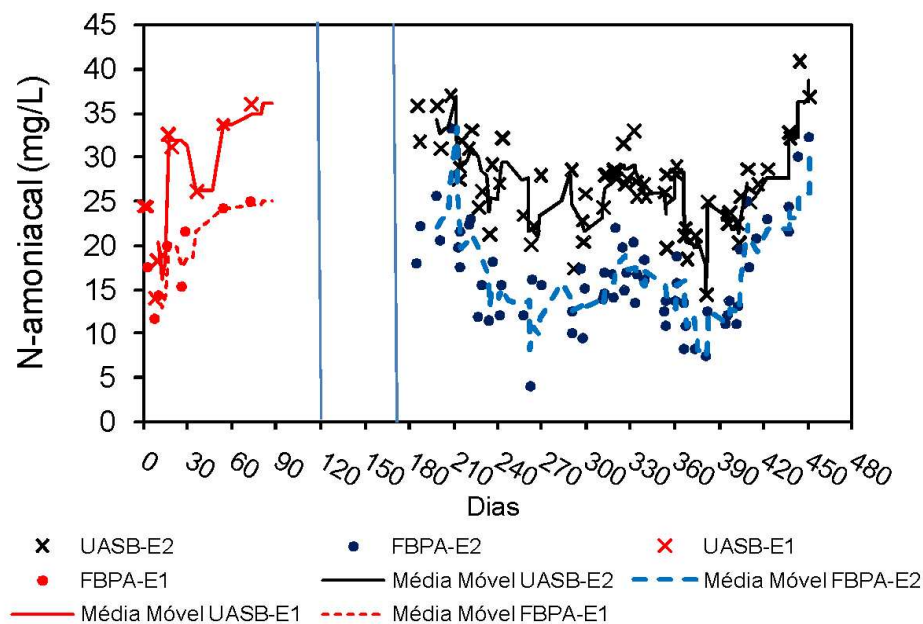
NITROSOMONAS

Durante a primeira etapa de operação do FBPA, após 66 dias do início do monitoramento, as densidades de *Nitrosomonas* identificadas no biofilme foram de $2,2 \times 10^6$ NMP/mL e $2,2 \times 10^5$ NMP/mL para a superfície e a 0,40 m de profundidade, respectivamente.

Após 99 dias de operação do FBPA, os valores encontrados de *Nitrosomonas* na superfície do FBPA foram de $1,8 \times 10^7$ NMP/ml e de $1,2 \times 10^5$ NMP/mL a 0,40 m de profundidade.

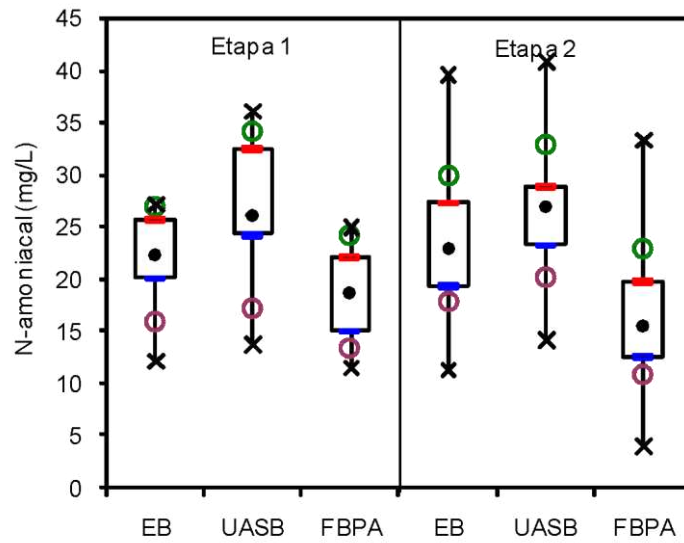
Durante esta etapa, o N-amoniaco no efluente do FBPA apresentou o valor mediano de 19 mg/L, percentil₁₀ de 13 mg/L e percentil₉₀ de 24 mg/L. Já no efluente do reator UASB, as concentrações de N-amoniaco apresentaram o valor mediano de 27 mg/L, percentil₁₀ de 13 mg/L e percentil₉₀ de 24 mg/L. Nas figuras a seguir são apresentadas a série temporal (com média móvel de 4 termos) e a estatística das concentrações de N-amoniaco afluente e efluente do FBPA. Podemos observar que as concentrações de amônia no efluente UASB, assim como no FBPA apresentaram um aumento após 393 dias de monitoramento, data (mês de maio) ao qual se relaciona ao período seco, onde o esgoto afluente à ETE Arrudas é mais concentrado. Ao passo que durante o período chuvoso essas concentrações são diluídas pela entrada da chuva no sistema de esgotamento sanitário.

Figura 5.3: Série temporal das concentrações de N-amoniaco afluente e efluente do FBPA



Fonte: Elaborado pelos autores.

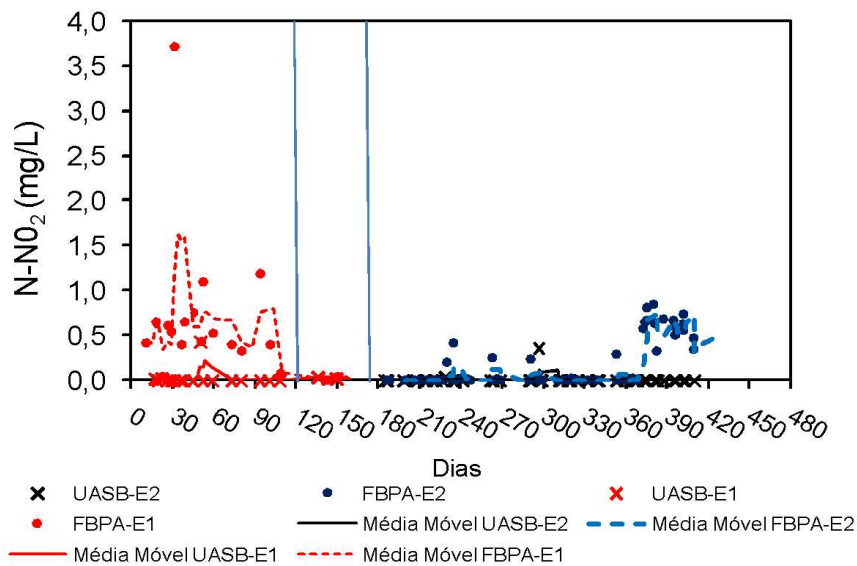
Figura 5.4: Estatísticas das concentrações de N-amoniaco afluente e efluente do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

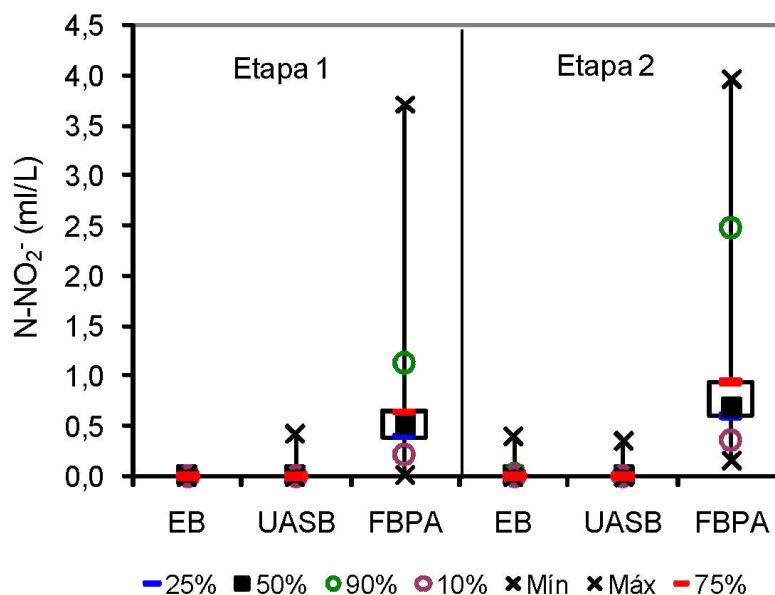
As concentrações de nitrito apresentaram o valor mediano de 0,520 mg/L, percentil₁₀ de 0,464 mg/L e percentil₉₀ de 1,126 mg/L no FBPA. As concentrações de nitrito no efluente do reator UASB apresentaram o valor mediano de 0,004mg/L, percentil₁₀ de 0,002 mg/L e percentil₉₀ de 0,018 mg/L.

Figura 5.5: Série temporal das concentrações de Nitrito afluente e efluente do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 5.6: Estatísticas das concentrações de Nitrito afluyente e efluente do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Desta forma, observa-se que os resultados de densidade de *Nitrosomonas* se relacionam com as concentrações de N-amoniaco e de nitrito, apresentando uma redução da concentração de N-amoniaco (consumo) e aumento na concentração de nitrito (produção), caracterizando assim, a primeira etapa da nitrificação, a nitritação, conforme o processo citado por Jordão e Pessoa (1995), USEPA (2009) e von Sperling (2005), em que há conversão da amônia em nitrito por bactérias oxidadoras de amônia (BOA).

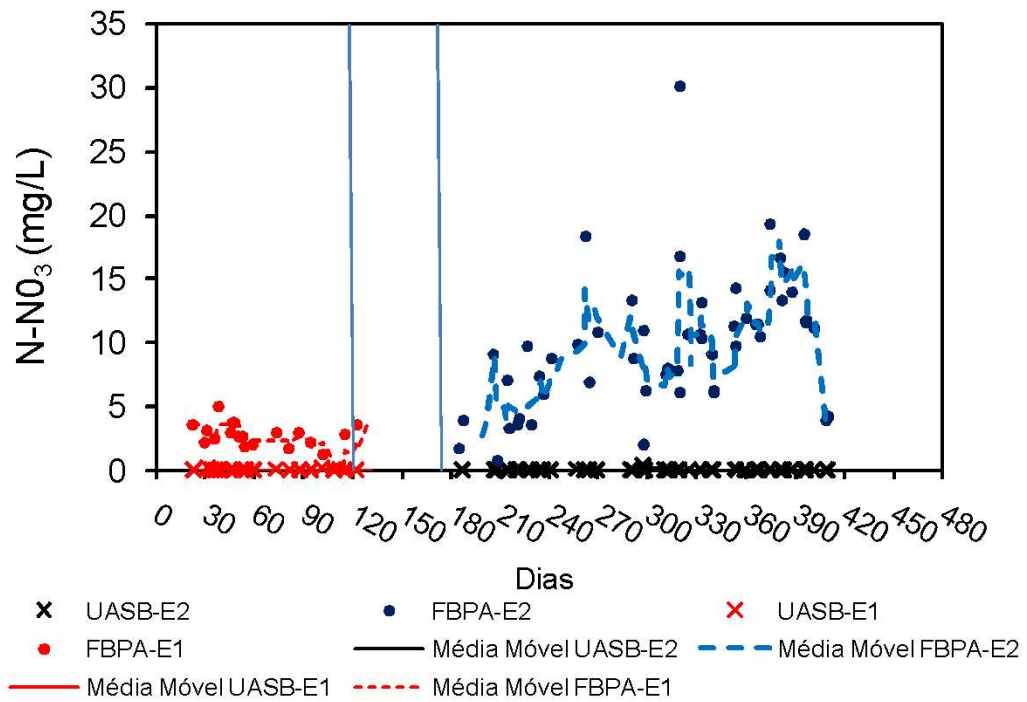
Na segunda etapa do monitoramento, após a intervenção estrutural do FBPA, o valor encontrado de *Nitrosomonas* após 17 dias de operação, para profundidade até 0,40 m, foi de $2,2 \times 10^2$ NMP/mL.

Após 134 dias do início da operação do FBPA a densidade de *Nitrosomonas* na profundidade de até 0,40 m, foi de $2,3 \times 10^3$ NMP/mL. O efluente do FBPA apresentou o valor de $1,6 \times 10^6$ NMP/mL, e $8,4 \times 10^4$ NMP/mL aos 189 dias de operação do filtro.

Os valores encontrados aos 218 dias de monitoramento, durante a segunda etapa, foi de $2,1 \times 10^3$ NMP/mL, $1,6 \times 10^4$ NMP/mL e $1,6 \times 10^6$ NMP/mL, nas profundidades até 0,40 m, 2 metros e 3 metros respectivamente.

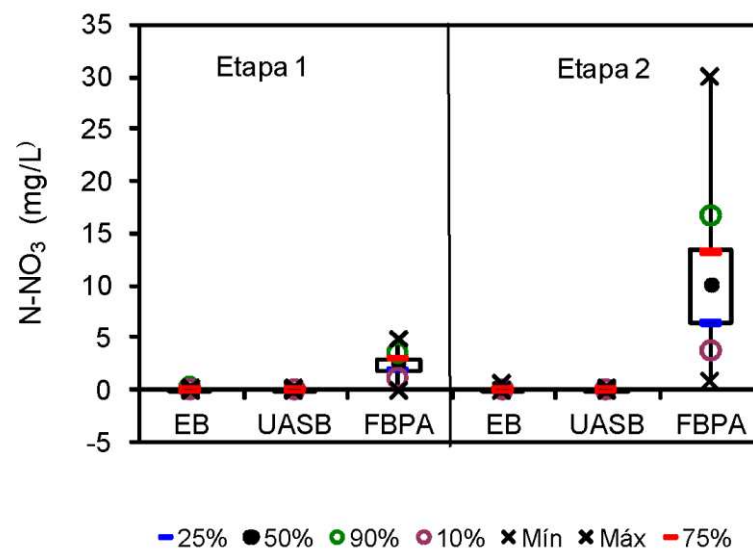
Após 253 dias de operação do filtro, os valores encontrados foram de $1,6 \times 10^6$ NMP/mL para profundidade até 0,40 m, assim como para 2 e 3 metros. O efluente do FBPA apresentou valor de $1,6 \times 10^4$ NMP/ml. a série temporal das concentrações do afluyente e do efluente do FBPA e pela Figura 5.8, onde as estatísticas das concentrações de nitrato são apresentadas.

Figura 5.7: Série temporal das concentrações de Nitrato do afluente e efluente do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 5.8: Estatísticas das concentrações de Nitrato afluente e efluente do FBPA.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Para esta etapa (2), o N-amoniaco do FBPA apresentou valor mediano de 16 mg/L, percentil₁₀ de 11 mg/L e percentil₉₀ de 22 mg/L no FBPA. Já o efluente do reator UASB apresentou valor mediano de 26 mg/L, percentil₁₀ de 13 mg/L e percentil₉₀ de 24 mg/L.

No FBPA, o nitrito apresentou valor mediano de 0,841 mg/L, percentil₁₀ de 0,397 mg/L e percentil₉₀ de 2,770 mg/L, e o efluente do reator UASB apresentou valor mediano de 0,002 mg/L, percentil₁₀ de 0,001 mg/L e percentil₉₀ de 0,009 mg/L.

Observa-se que a abundância de *Nitrosomonas* para a segunda etapa, assim como verificado na primeira etapa, juntamente com as concentrações de N-amoniaco e nitrito (observando-se o consumo de N-amoniaco e produção de nitrito), caracteriza o processo da nitrificação.

A constatação da ocorrência do processo de nitrificação foi reforçada pelo incremento na produção de nitrato no FBPA, conforme se pode observar na Figura 5.7, onde é apresentada

NITROBACTER

Durante a primeira etapa do monitoramento do FBPA, após 66 dias de início de monitoramento, a densidade de *Nitrobacter*, identificada no biofilme apresentou valores, em ambas profundidades (superfície e 0,40 m), acima de $1,6 \times 10^7$ NMP/mL.

Após 99 dias de operação do FBPA, a densidade de *Nitrobacter* na superfície do FBPA foi de $1,6 \times 10^7$ NMP/mL, enquanto na profundidade a 0,40 m apresentou valor acima do limite de detecção pelo método para quantificação.

Para esta etapa 1, o nitrato apresentou valor mediano de 2,65 mg/L, percentil₁₀ de 1,08 mg/L e percentil₉₀ de 3,59 mg/L, no FBPA. O efluente do reator UASB apresentou valor mediano de 0,04 mg/L, percentil₁₀ de 0,02 mg/L e percentil₉₀ de 0,13 mg/L.

Desta forma, observa-se que os resultados de densidade de *Nitrobacter* se relacionam com as concentrações de nitrato (produção de nitrato), caracterizando assim, a segunda etapa da nitrificação, a nitratação, conforme o processo citado por Jordão e Pessôa (1995), USEPA (2009) e von Sperling (2005), caracterizado pela conversão do nitrito em nitrato por bactérias oxidadoras de nitrito (BON).

Na segunda etapa do monitoramento, após a intervenção estrutural do FBPA, o valor encontrado de *Nitrobacter* após 17 dias de operação, para profundidade até 0,40 m, foi de $1,7 \times 10^3$ NMP/mL.

Após 134 dias do início da operação do FBPA a densidade de *Nitrobacter* na profundidade de até 0,40 m, foi de $9,3 \times 10^6$ NMP/mL. O efluente do FBPA apresentou o valor

de $1,6 \times 10^6$ NMP/mL, assim como o valor da amostra analisada aos 189 dias de operação do filtro.

Os valores encontrados aos 218 dias de monitoramento, durante a segunda etapa foi de $3,5 \times 10^3$ NMP/mL, $2,2 \times 10^3$ NMP/mL e $5,4 \times 10^3$ NMP/mL, nas profundidades até 0,40 m, 2 metros e 3 metros respectivamente.

Após 253 dias de operação do filtro, os valores encontrados foram de $1,6 \times 10^5$ NMP/mL para profundidade até 0,40 m, $1,6 \times 10^4$ NMP/mL a 2 metros de profundidade e $2,8 \times 10^3$ NMP/mL a 3 metros de profundidade. O efluente do FBPA apresentou valor de $3,5 \times 10^3$ NMP/ml.

Para a etapa 2, o nitrato apresentou valor mediano, no FBPA, de 9,93 mg/L, percentil₁₀ de 3,68 mg/L e percentil₉₀ de 16,33 mg/L, e o efluente do reator UASB apresentou valor mediano de 0,02 mg/L, percentil₁₀ de 0,01mg/L e percentil₉₀ de 0,06 mg/L.

Observa-se que os valores de abundância de *Nitrobacter* para a segunda etapa, assim como observado na primeira etapa, junto com as concentrações de nitrato, ocorrendo uma produção do composto, caracteriza o processo da nitratação, conforme também observado por Vieira *et al.* (2011b).

Conforme observado por Vieira *et al.*, (2011b), pela análise visual das séries temporais de amônia (Figura 5.3 e 5.4), depois do segundo mês de operação, é observado que as concentrações tendem a se estabilizar, ao passo que, ao mesmo tempo, o nitrato apresenta um aumento de produção, indicando o estabelecimento da nitrificação. Segundo os autores, este fato pode estar associado com o aumento da formação do biofilme, em espessura e população microbiológica, já que foi observado um aumento na abundância de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* no biofilme do FBPA, juntamente com um aumento da densidade de bactérias oxidadoras de amônia (*Nitrosomonas*) com a profundidade do filtro. Ainda segundo os autores, a nitrificação parcial foi provavelmente reforçada devido a ventilação natural presente nas paredes abertas do filtro.

Observando os valores apresentados das concentrações de N-amoniaco, nitrito e nitrato, percebe-se uma maior significância de nitrificação durante a segunda etapa. Segundo Vieira *et al.* (2001a), essa diferença possivelmente foi determinada pela variação de COV e da relação DBO/NTK aplicadas no filtro. Os autores acreditam que as variações das COVs aplicadas de 0,17 kgDBO/m³. d (etapa 1) para 0,08 kgDBO/m³. d (etapa 2) foram influenciadas pela expansão do volume do filtro e também pelo melhor desempenho do reator UASB durante a etapa 2.

Harrison & Daigger (1987) *apud* Almeida (2007), em seu estudo em um filtro biológico percolador, com meio suporte de brita, aplicando COV 0,59 kgDBO/m³.d, vazão de 23,45 m³/d e área de 1,7 m², TAS de 13,44 m³/m².d e altura de 2,08 m, conseguiu reduzir a concentração do N-amoniaco de 9,5 mg/L para 8,1 mg/L. Fonseca (2009), utilizando distintas taxas de aplicação superficial (10m³/m².d + razão de recirculação = 1, 10m³/m².d e 5m³/m².d) em um filtro biológico percolador, apresentou respectivamente para cada taxa de aplicação, as seguintes concentrações de N-amoniaco: 14,34 mg/L, 22,48 mg/L e 20,52 mg/L.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo buscou quantificar as bactérias oxidadoras nitrificantes no biofilme do FBPA e a sua relação com o processo de nitrificação no tratamento de esgoto doméstico pós UASB.

- As bactérias oxidadoras de amônia apresentaram estimativas de abundância variando entre 10^2 e 10^7 NMP/mL e as bactérias oxidadoras de nitrito apresentaram valores variando entre 10^3 e 10^7 NMP/mL ao longo dos 428 dias de operação monitorados.
- Estes valores apresentaram-se, em alguns períodos, um pouco acima dos valores encontrados na literatura, fato que pode ter relação com a oxigenação proveniente da ventilação natural nas paredes abertas do FBPA.
- Durante a primeira etapa, o FBPA e o efluente do reator UASB, apresentaram o N-amoniaco com concentrações medianas de 19 e 27 mg/L, respectivamente. Durante a segunda etapa, após a intervenção estrutural do FBPA, onde a altura do filtro foi elevada de 2,3 m para 3,5 m, o FBPA e o efluente do reator UASB apresentaram concentrações medianas de 16 e 26 mg/L, respectivamente. A concentração mediana de nitrito no FBPA foi de, 0,520 mg/L (Etapa1) e 0,841 mg/L (Etapa 2), e no efluente UASB foi de 0,004 mg/L (Etapa1) e 0,002 mg/L (Etapa 2). O nitrato apresentou concentração mediana no FBPA de 2,65 mg/L (Etapa1) e 9,93 mg/L (Etapa 2), 0,04 mg/L (Etapa1) e 0,02 mg/L (Etapa 2) no efluente do reator UASB. Os resultados demonstraram uma maior intensidade do processo de nitrificação durante a segunda etapa, possivelmente pela redução do valor de COV aplicada no filtro e pela expansão do volume do filtro.
- Os resultados das estimativas da população de bactérias nitrificantes se relacionam com as concentrações dos compostos nitrogenados analisados, indicando a presença da nitrificação no biofilme do FBPA, por apresentar uma diminuição da concentração de N-amoniaco e aumento das concentrações de nitrito e nitrato, no efluente do FBPA em relação ao efluente do reator UASB, caracterizando as duas etapas do processo de nitrificação (nitritação e nitratação).

7 RECOMENDAÇÕES

- Utilizar técnicas de identificação e quantificação de bactérias de biologia molecular como o *FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation)* e o *PCR (Polymerase Chain Reaction)*, para melhor se conhecer a composição da microbiota do biofilme presente no FBPA, e entender seu funcionamento;
- Utilizar técnicas de microscopia (como a técnica de contraste de fase, por exemplo), para se caracterizar visualmente e conhecer melhor a composição da microbiota presente do FBPA, e entender seu funcionamento;
- Analisar a transferência de oxigênio dissolvido no FBPA, para melhor entender a relação entre a ventilação natural promovida pelo FBPA e o processo de nitrificação no FBPA;
- Analisar as concentrações de nitrogênio (N-amoniacal, N-nitroso, N-nítrico) nos perfis (diferentes profundidades), onde são coletados o biofilme no FBPA, para melhor entender a relação entre as bactérias nitrificantes e o processo de nitrificação do FBPA.

REFERÊNCIAS

- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005. 1368 p.
- AGRA, C. A.; ARAÚJO, E. A.; SOUSA, J. T.; BRASIL, D. P.; HENRIQUE, I. N. Nitrificação de esgotos domésticos em reator aeróbio com biomassa aderida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 25., 2009, Recife. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: ABES, 2009.
- ALEXANDER, M. **Most probable number method for microbial populations**. 1982. *apud* KIELING, D. D. **Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxicas**. 2004. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- ALMEIDA, P. G. S. **Efeito de diferentes tipos de meio suporte no desempenho de filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB, com ênfase na nitrificação**. 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- ANDRADE, D. S.; MIYAZAWA, M.; HAMAKAWA, P. J. Microorganismos amonificadores e nitrificadores. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (ed.). **Manual de métodos empregados nos estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 356-376.
- ARAÚJO, J. C.; CAMPOS, A. P.; CORREA, M. M. S.; SILVA, E. C.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Enriquecimento de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia – Anammox. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, 2010.
- BITTON, G. **Wastewater microbiology**. 3. ed. New Jersey: Wiley-Liss, 2005. 592 p.
- BRYERS, J. D.; CHARACKLIS, W. G. Biofilms in water and wastewater treatment. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. (ed.). **Biofilms**. New York: Wiley, 1990. p. 671-696.
- CHARACKLIS, W. G. Microbial fouling. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. (ed.). **Biofilms**. New York: Wiley, 1990a. p. 523-584.
- CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. (ed.). **Biofilms**. New York: Wiley, 1990b. p. 3-15.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 246 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 5).
- CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília, DF: CONAMA, 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento.
- COSTA, A. J. M. P.; RIVERA, I. N. G.; MORITA, D. M.; ALEM SOBRINHO, P.; LIMA, C. A. P.; VILLAS BOAS, D. M. Tratamento de água residuária sintética simulando despejos

líquidos de coqueria. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20., 1999, Rio de Janeiro. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: ABES, 1999.

DOMINGUES, M. L. **Sistema combinado filtro anaeróbio – biofiltro aerado submerso: avaliação da partida e da nitrificação de esgoto sanitário**. 2005. 166 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ETCHEBEHERE, C.; ERRAZQUIN, M. I.; BARRANDEGUY, E.; DABERT, P.; MOLLETA, R.; MUXÍ, L. Evaluation of the denitrifying microbiota of anoxic reactors. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], n. 35, p. 259-265, 2001.

FERREIRA, E. S. Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27., 2000, Porto Alegre. **Anais [...]**. Porto Alegre: Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 2000.

FLORÊNCIO, L.; ALMEIDA, P. G. S.; MENDONÇA, N. M.; VOLSCHAN JR., I.; ANDRADE NETO, C. O.; PIVELI, R. P.; CHERNICHARO, C. A. L. Nitrificação em reatores aeróbios com biomassa aderida. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (coord.). **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. p. 262-292.

FONSECA, M. F. **Remoção de nitrogênio amoniacal em filtro biológico percolador pós-tratando efluente de reator UASB**. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

GONÇALVES, R. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; ANDRADE NETO, C. O.; ALÉM SOBRINHO, P.; KATO, M. T.; COSTA, R. H. R.; AISSE, M. M.; ZAIAT, M. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por reatores com biofilme. In: CHERNICHARO, C. A. L. (coord.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Projeto PROSAB, 2001. cap. 4, p. 171-271.

HARRISON, J. R.; DAIGGER, G. T. **A comparison of trickling filter media**. 1987. *apud* ALMEIDA, P. G. S. **Efeito de diferentes tipos de meio suporte no desempenho de filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB, com ênfase na nitrificação**. 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

HORAN, N. Suspended growth processes. In: MARA, D.; HORAN, N. (ed.). **The handbook of water and wastewater microbiology**. Oxford: Elsevier, 2003. 819 p.

IWAI, S.; KITAO, T. **Wastewater treatment with microbial films**. Lancaster: Technomic Publishing, 1994. 84 p.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 4. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995. 890 p.

KARTAL, B.; RATTRAY, J.; VAN NIFTRIK, L. A.; VAN DE VOSSENBERG, J.; SCHMID, M. C.; WEBB, R. I.; SCHOUTEN, S.; FUERST, J. A.; DAMSTÉ, J. S.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. *Candidatus* "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate

oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 30, n. 1, p. 39-49, 2007.

KIELING, D. D. **Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxicas**. 2004. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

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

LESSARD, P.; LE BIHAN, Y. Fixed film process. In: MARA, D.; HORAN, N. (ed.). **The handbook of water and wastewater microbiology**. Oxford: Elsevier, 2003. 819 p.

LUBBERDING, H. J. Applied anaerobic digestion. In: INTERNATIONAL COURSE ON ANAEROBIC TREATMENT, 1995, Wageningen. **Proceedings [...]**. Wageningen: Wageningen Agricultural University/IHE Delft, 1995. p. 17-28.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Brock biology of microorganisms**. 12. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2008. 1168 p.

MELO, L. F. Biofilm formation and its role in fixed film process. In: MARA, D.; HORAN, N. (ed.). **The handbook of water and wastewater microbiology**. Oxford: Elsevier, 2003. 819 p.

MENDONÇA, L. C.; OLIVEIRA, A. L.; GIANOTTI, E. P.; CAMPOS, J. R.; BLUNDI, C. E. Caracterização microbiológica de um sistema de remoção de nitrogênio em batelada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: ABES, 2001.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and resource recovery**. 4. ed. New York: McGraw-Hill, 2003. 1819 p.

MISSAGIA, B. **Estudo das comunidades bacterianas em filtros biológicos percoladores utilizados para o pós-tratamento de efluentes de um reator UASB**. 2010. 108 f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

NOGUEIRA, R.; MELO, L. F.; PURKHOLD, U.; WUERTZ, S.; WAGNER, M. Nitrifying and heterotrophic population dynamics in biofilm reactors: effects of hydraulic retention time and the presence of organic carbon. **Water Research**, Amsterdam, v. 36, p. 469-481, 2002.

PARK, J. J.; BYUN, I. G.; YU, J. C.; PARK, S. R.; JU, D. J.; HUR, S. H.; PARK, T. J. Analysis of nitrifying bacterial communities in aerobic biofilm reactors with different DO conditions using molecular techniques. **Water Science & Technology**, London, v. 57, n. 12, p. 1889-1899, 2008.

PERSSON, P.; WIK, T.; SORENSSON, F.; HERMANSSON, M. Distribution and activity of ammonia oxidizing bacteria in a large full-scale trickling filter. **Water Research**, Amsterdam, v. 36, p. 1439-1448, 2002.

PHILIPS, A. M. L. **Utilização de reator de biodiscos para tratamento de efluentes com altas concentrações de nitrogênio**. 2008. 194 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) –

Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

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

SANTOS, A. S. P.; VOLSCHAN JR., I.; JORDÃO, E. P.; AZEVEDO, J. P. S. Desempenho do filtro biológico percolador segundo dois diferentes meios suporte plásticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23., 2005, Campo Grande. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: ABES, 2005.

SANTOS, L. F. **Caracterização e tratamento de efluentes da fabricação de nitrocelulose**. 2006. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência da Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Departamento de Biotecnologia, Lorena, 2006.

SCHNEIDER, R. P. Biofilmes microbianos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (org.). **Microbiologia ambiental**. 2. ed. rev. ampl. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2008. 647 p.

SPÍNOLA, A. L. G. **Biofilmes aeróbios para remoção de nitrogênio em células de fluxo, submetidos a diferentes velocidades superficiais e taxas de carregamento**. 2009. 96 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

TAL, Y.; WATTS, J. E. M.; SCHREIER, H. J. Anaerobic ammonium-oxidizing (ANAMMOX) bacteria and associated activity in fixed-film biofilters of a marine recirculating aquaculture system. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 72, n. 4, p. 2896-2904, 2006.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.; STENSEL, H. D. In: METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and resource recovery**. 4. ed. New York: McGraw-Hill, 2003. 1819 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Nitrification**. Washington, D.C.: EPA, 2002. Disponível em: http://www.epa.gov/safewater/disinfection/tcr/pdfs/whitepaper_tcr_nitrification.pdf. Acesso em: 12 dez. 2010.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Wastewater management fact sheet: denitrifying filters**. Washington, D.C.: EPA, 2007. Disponível em: <http://www.methanol.org/Environment/Resources/Environment/EPA-Denit-Fact-Sheet.aspx>. Acesso em: 22 dez. 2010.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Nutrient control design manual: state of technology review report**. Washington, D.C.: EPA, 2009.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Nitrogen control**. Washington, D.C.: EPA, 1993. 311 p. (Manual).

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

VIEIRA, P. C. **Estudo de uma concepção inovadora de filtro biológico percolador do tipo aberto no pós-tratamento de efluente de reator UASB para a nitrificação.** 2010. 20 f. Projeto (Seminários em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

VIEIRA, P. C.; VON SPERLING, M.; AMARAL, V. P.; OLIVEIRA, R. C. Desempenho de uma concepção inovadora de um filtro biológico percolador (tipo aberto) no pós-tratamento de efluente de reator UASB. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 26., 2011, Porto Alegre. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: ABES, 2011a.

VIEIRA, P. C.; VON SPERLING, M.; MAGALHÃES, V. F.; RUCKERT, M. T. Open trickling filter: a new, cheap and simple form of post-treatment of anaerobic effluents. In: OFICINA E SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA, 10., 2011, Ouro Preto. **Anais [...]**. London: IWA, 2011b.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 1).

VON SPERLING, M.; ANDRADE NETO, C. O.; VOLSCHAN JR., I.; FLORÊNCIO, L. Impacto dos nutrientes do esgoto lançado em corpos de água. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (coord.). **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção.** Rio de Janeiro: ABES, 2009. p. 27-51.

YUN, H. J.; KIM, D. J. Nitrate accumulation characteristics of high strength ammonia wastewater in an autotrophic nitrifying biofilm reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Oxford, v. 78, p. 377-383, 2003.

ZENATTI, D. C. **Avaliação da nitrificação de efluente de abatedouro de tilápia em reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada.** 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2007.