

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

**EFEITOS DA AERAÇÃO INTERMITENTE E DA
TEMPERATURA NO PROCESSO DE
NITRIFICAÇÃO PARCIAL/ANAMMOX PARA
PÓS-TRATAMENTO DE DIGESTATO DE
RESÍDUOS ALIMENTARES**

Brenda Gonçalves Piteira Carvalho

Belo Horizonte

2019

Brenda Gonçalves Piteira Carvalho

**EFEITO DA AERAÇÃO INTERMITENTE E DA
TEMPERATURA NO PROCESSO DE NITRIFICAÇÃO
PARCIAL/ANAMMOX PARA PÓS-TRATAMENTO DE
DIGESTATO DE RESÍDUOS ALIMENTARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção de título de mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Tratamento de Águas Residuárias

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Calábria de Araújo

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2019

C331e

Carvalho, Brenda Gonçalves Piteira.

Efeito da aeração intermitente e da temperatura no processo de nitrificação parcial/anammox para pós-tratamento de digestato de resíduos alimentares [recurso eletrônico] / Brenda Gonçalves Piteira Carvalho. – 2019.

1 recurso online (124 f. : il., color.) : pdf.

Orientadora: Juliana Calábria de Araújo.

Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 113-124.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses. 3. Nitrificação - Teses. 4. Temperatura - Teses. 5. Resíduos - Teses. 6. Aterro sanitário - Teses. I. Araújo, Juliana Calábria de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 628(043)

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Roseli Alves de Oliveira CRB/6 2121
Biblioteca Prof. Mário Werneck, Escola de Engenharia da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Avenida Antônio Carlos, 6627 - 4º andar - 31270-901 - Belo Horizonte - BRASIL

Telefax: 55 (31) 3409-1882 - postgrad@desa.ufmg.br

<http://www.smamh.eng.ufmg.br>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Efeitos da Aeração Intermitente e da Temperatura No Processo de Nitrificação Parcial/anammox Para Pós-tratamento de Digestato de Resíduos Alimentares

BRENDA GONÇALVES PITEIRA CARVALHO

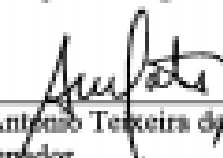
Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:


Prof. JULIANA CALÁBRIA DE ARAÚJO


Prof. MARCOS VON SPERLING


Prof. AIRTON KUNZ

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH


Prof. Antonio Teixeira de Matos
Coordenador

Versão Final aprovada por


Prof. Juliana Calábria de Araújo
Orientadora

Belo Horizonte, 05 de abril de 2019.

DEDICATÓRIA

Aos eternos e sempre presentes amigos João Paulo Viana,
Alain Assunção (Very) e Thiago da Silva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de todo o coração ao povo brasileiro, que mantém as universidades, programas de pós-graduação e pesquisas científicas no âmbito público. Em especial, agradeço àqueles que, apesar de financiarem, não têm acesso à educação de qualidade. Me reconheço numa posição privilegiada por tê-la e espero contribuir através da profissão que escolhi amar e me dedicar para a melhoria da qualidade de vida da população brasileira, buscando retribuir o investimento feito na minha educação e formação profissional com recursos públicos.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, ao Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos e à CAPES pela oportunidade de realizar o tão sonhado mestrado.

À professora Juliana Calábria de Araújo, pela orientação, incentivo, ensinamentos e oportunidades.

Aos professores Marcos Von Sperling e Airton Kunz pela disponibilidade em examinar e contribuir para o aprimoramento deste trabalho.

A todos grandes professores com os quais tive o prazer de aprender, especialmente aos professores Sérgio Marinho, Rubens Soares, Mateus Pena, Maria do Carmo, Joaquim of Maguaris, Kzan, Joáurio Batista, Marcos Gonçalves, Viana, Vital Cunha, Hélio Almeida, Luiza Girard, Neyson Mendonça, Marcos Von Sperling, César Mota, Uende Gomes, Sonaly Resende, Silvia Maria, Carlos Chernicharo e Juliana Calábria. Todos vocês tiveram um impacto muito forte e positivo na minha vida acadêmica e me ensinaram a amar a ciência e a educação.

À minha amada família Piteira e ao meu companheiro Eliakim, por tanto amor e incentivo; por cada celebração e cada sorriso, cada oração e conexão. Essa vitória é de vocês também. Dentre essas, as que já vieram e as que virão, nada me dá mais orgulho e felicidade do que ter o apoio incondicional de vocês. Em especial, à minha mãe Plácida, por ter abdicado de tanto para que eu tivesse oportuniades, por ser meu exemplo de superação, fé, humildade e sobretudo, de amor.

Ao meu pai, Airton Pinheiro, por me permitir realizar o sonho do mestrado e por ser um exemplo de trabalho e dedicação.

Ao Pai Maior, ao mestre e amigo Jesus, à mãezinha do céu e à espiritualidade amiga, por serem presentes na minha vida, cuidando dos meus passos e do meu coração e por nunca deixarem que eu experimentasse o desamparo ou falta de amor, muito obrigada! Que eu consiga levar às pessoas um pouquinho da enorme luz que a presença de vocês traz ao meu coração.

Aos amigos da UFPA (para a vida): Fernanda Moreira, Gabriela Fragoso, Jéssica Cristina, Paulo Vasco, Ananda Froés, Fábio Paiva, Adayana Melo, Juliana Ise, Lucas Freire, Ygor Souza. Obrigada pela amizade valiosa, apoio, trabalhos em artigos, incentivo que me fez chegar até o mestrado na UFMG e por serem tão presentes na minha vida. Amo vocês, meu LOST!

Aos amigos de longas datas: Nillvvia, Anne Caroline, Thayanne, Brian, Breno, Marina Passos, Raoana, Yuri Pimentel e Virgínia Pimentel. Obrigada pelo apoio e amor de sempre. Aos novos amigos de Belo Horizonte: Alana e Carol (e Nina!), à Natacha e Pitiquinho pelo carinho, companhia, amizade e boas energias. À Camila Trein, pela valiosa amizade, pelos conselhos, conversas, carinho, amor e amparo! Muito obrigada por tanto, mana!

Aos amigos do DESA: Tiago, Camila, Paulinha, Michel, Tamile, Josiani, Isabela Meline, Marcos, Rizzieri, William, Andrés, Déborah, Marise, Cecília e todos os outros que compõem essa turma de energia incrível, pelos churrascos, cachoeiras e companhias maravilhosas!

Às queridas (e querido) do laboratório de microbiologia: Thais, Francis, Helena, Hortência, Cássia, Cíntia, Alyne, Adriana, Bruna, Elayne, Alessandra, Déborah e Amandinha, o trabalho não seria o mesmo sem esse time fantástico, que me ensinou tanto e com quem partilhei momentos memoráveis.

Aos pesquisadores de iniciação científica Francis e Helena, pela parceria e colaboração neste trabalho, pela amizade, pelo enorme esforço e real interesse nesta pesquisa.

À Aline Paranhos e professores Bruno Baêta e Sérgio Aquino, pela gentileza do auxílio e permissão para as análises de nitrato na Universidade Federal de Ouro Preto.

Ao meu querido amigo Igor Cavalcante, pela ajuda com a análise multivariada.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

A biodigestão anaeróbia de resíduos alimentares, metanização, é um processo robusto e eficiente para o desvio destes resíduos dos aterros sanitários, além do potencial para geração de energia a partir do biogás. No entanto, o digestato proveniente desse processo é altamente concentrado em termos de diversos componentes, como o nitrogênio orgânico e amoniacal. Técnicas para o gerenciamento desse nutriente têm sido investigadas para o tratamento de águas residuárias. Dentre esses, destaca-se a nitrificação parcial/anammox (NP/A), tendo vantagens quanto à sustentabilidade, eficiência e economia. No entanto, o processo é limitado por diversos fatores, especialmente condições de aeração e temperatura. Nesse sentido, este trabalho investigou diferentes estratégias de aeração intermitente e temperatura ótima (35°C) e temperatura ambiente (26 a 29°C) para verificar o estabelecimento do processo de NP/A em reator em bateladas sequenciais (RBS), com aplicação de efluente anaeróbio – digestato - de resíduo alimentar. Verificou-se que a melhor estratégia de aeração sob 35°C (períodos aeróbios/anaeróbios de 7 min/14 min e taxa de aplicação de oxigênio de 0,050 L/min.L) obteve eficiências de remoção medianas de N-NH₄⁺ e de nitrogênio total de 81 e 63%, respectivamente. Na melhor estratégia de aeração intermitente, as cargas removidas medianas de N-NH₄⁺ e de nitrogênio total foram de 76 e 67 g/m³.d, respectivamente. Estes valores foram superiores àqueles previamente reportados para NP/A no tratamento de digestato de resíduos alimentares. Sob a melhor condição de aeração intermitente, a temperatura ambiente não afetou o desempenho do RBS. As eficiências de remoção medianas de N-NH₄⁺ e de nitrogênio total foram de 86 e 71%, respectivamente, com cargas removidas medianas de N-NH₄⁺ e de nitrogênio total de 77 e 51 g/m³.d, respectivamente. Em comparação à fase com temperatura de 35°C, não houve diferença significativa entre as eficiências de remoção e cargas removidas de N-NH₄⁺ e de nitrogênio total sob temperatura ambiente. Altas concentrações de matéria orgânica e sólidos não tiveram efeitos deletérios no desempenho da NP/A. O gênero anammox dominante *Candidatus Brocadia* foi substituído pelo gênero *Candidatus Jettenia*. Este estudo provou que, através de otimizações operacionais de sistemas de NP/A, é possível alcançar altos desempenho e eficiência de remoção de nitrogênio de digestato de resíduo alimentar em RBS.

PALAVRAS-CHAVE: Anammox; Aeração; Resíduos Alimentares; Nitrificação parcial e temperatura

ABSTRACT

Anaerobic biodigestion of food waste, methanization, is a robust and efficient process to divert food wastes from landfills, as well as the potential to produce energy (from biogas). However, the digestate from this process is highly concentrated in terms of several components, including organic and ammoniacal nitrogen. Therefore, strategies for the management of these nutrients have been investigated for the treatment of wastewater. Among these processes, the partial nitrification/anammox process (PN/A) is very interesting, having advantages from a sustainable, efficient and economical perspective. However, this process is limited by several factors, specially aeration and temperature conditions. Thus, this work investigated different intermittent aeration strategies and operation under optimal temperature (35 °C) and room temperature (26-29 °C) to establish PN/A in a sequential batch reactor (SBR) applied to the treatment of anaerobic effluent from food waste (digestate). It was verified that the best aeration strategy at 35 °C (aerobic/anaerobic periods of 7min/14min and oxygen application rate of 0.050 L/min.L) had median removal efficiencies of N-NH₄⁺ and total nitrogen of 81 and 63%, respectively. Additionally, the median loads removed of N-NH₄⁺ and total nitrogen were 76 and 67 g/m³.d, respectively. This values were higher than others previously reported in PN/A for food waste digestate treatment. Under the best aeration intermittent condition, the SBR operating at room temperature did not affect the performance system. The median N-NH₄⁺ and total nitrogen removal efficiencies were 86 and 71%, respectively, with median N-NH₄⁺ and total nitrogen loads removed of 77 and 51 g / m³.d, respectively. Comparing there results with the phase under 35 °C, there was no significative difference between the efficiencies removal and N-NH₄⁺ and total nitrogen loads removed. The high concentrations of organic matter and solids had no negative effect on the PN/A process performance. The dominant anammox genus was *Candidatus Brocadia*, which was gradually replaced by *Candidatus Jettenia*. This study proved that through optimization of control parameters of PN/A systems, it is possible to achieve good performance conditions and high nitrogen removal efficiencies from food waste digestate in SBR.

KEY-WORDS: Anammox; Aeration; Food Waste; Partial nitritation and Temperature.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Ciclo do nitrogênio com processos de (1) fixação; (2) amonificação; (3a) e (3b) nitrificação; (4) nitratação; (5a), (5b) e (5c) assimilação do nitrato; (6a) e (6b) desassimilação do nitrato; (7a), (7b), (7c) e (7d) desnitrificação e (8a),(8b) e (8c) anammox	25
Figura 3.2 - Vias metabólicas do processo anammox, com os compostos, enzimas e microrganismos envolvidos.....	32
Figura 3.3 - Processos interativos na NP/A na presença de matéria orgânica	41
Figura 3.4 - Representação esquemática das vias metabólicas em um sistema conjunto N-damo e anammox.....	42
Figura 4.1 - Representação esquemática do RBS utilizado para a operação do processo de NP/A, bem como seus componentes e princípios de funcionamento: (1) Temporizador automático; (2) compressor de ar; (3) Registro regulador da vazão de ar; (4) Mangueira de ar com pedra porosa; (5) Agitador; (6) Sensores de pH, temperatura, OD, agitação e níveis máximo e mínimo; (7) Digestato afluente; (8) Bomba para entrada do afluente; (9) Bomba para saída do efluente tratado; (10) Coleta do efluente tratado; (11) Painel de controle, programação e armazenamento de dados do RBS e (12) Exportação dos dados armazenados	57
Figura 4.2 - Representação esquemática do ciclo de operação do RBS, com etapas de (i) sedimentação, com desligamento da agitação para propiciar que a biomassa possa sedimentar; (ii) saída do efluente, onde a agitação permanece desligada e a bomba de saída é acionada, retirando parte do efluente; (iii) entrada do digestato diluído e acionamento da agitação no reator e (iv) reação, período que o sistema permanece em funcionamento até a interrupção para início de um novo ciclo reacional.....	58
Figura 4.3 - Representação esquemática da plataforma de metanização de resíduos sólidos pMethar.....	59
Figura 5.1 - Dinâmica das concentrações e eficiência de remoção de nitrogênio total (A), orgânico (B) e $N-NH_4^+$ (C) nas fases de 1 a 5	70
Figura 5.2 - Dinâmica da remoção das cargas de nitrogênio total, orgânico e $N-NH_4^+$ (D) e das relações estequiométricas de NO_3^- produzido: NH_4^+ consumido nas fases de 1 a 5 (E).....	71
Figura 5.3 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de conversão (C), em porcentagem, de nitrogênio orgânico no RBS nas fases 1 a 4	72

Figura 5.4 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de $N-NH_4^+$ no RBS nas fases 1 a 4	74
Figura 5.5 - Box-plot das concentrações afluentes e efluentes de nitrito (itens A e B) e de nitrato (itens C e D) nas fases 1, 2, 3 e 4.....	76
Figura 5.6 - Box-plots das concentrações afluentes (A), efluentes (B) em mg/L e eficiência de remoção (C) em % de nitrogênio total nas fases 1, 2, 3 e 4	78
Figura 5.7 - Box-plot das cargas de nitrogênio NH_4^+ e de nitrogênio total removidas ($g/m^3.d$) nas fases 1, 2, 3 e 4.....	79
Figura 5.8 - Box-plot dos coeficientes de $N-NO_3^-$ produzido/ $N-NH_4^+$ consumido nas fases de 1 a 4	81
Figura 5.9 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de nitrogênio orgânico no RBS nas fases 3 e 5	82
Figura 5.10 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de $N-NH_4^+$ no RBS nas fases 3 e 5	83
Figura 5.11 - Box-plot das concentrações afluentes e efluentes de $N-NO_2^-$ (itens A e B, respectivamente) e de $N-NO_3^-$ (itens C e D, respectivamente) nas fases 3 e 5	84
Figura 5.12 - Box-plots das concentrações afluentes (A), efluentes (B) em mg/L e eficiência de remoção (C) em % de nitrogênio total nas fases 3 e 5.....	85
Figura 5.13 - Box-plot das cargas de $N-NH_4^+$ e nitrogênio total ($g/m^3.d$) nas fases 3 e 5	86
Figura 5.14 - Box-plot dos coeficientes estequiométricos de NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido nas fases 3 e 5	87
Figura 5.15 - Série temporal das concentrações afluentes e efluentes dos compostos orgânicos (DQO total, DQO solúvel e DBO) nas Fases 1, 2, 3, 4, e 5	88
Figura 5.16 - Relação DQO total/ nitrogênio total e DQO solúvel/nitrogênio total (A), e relação DBO/nitrogênio total e relação DQO/DBO no digestato diluído afluente nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 (B).....	89
Figura 5.17 - Box-plots das relações DQOt/NT (A), DQOs/NT (B) e DBO/NT (C) do digestato diluído afluente nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	90
Figura 5.18 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO total no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4	92
Figura 5.19 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO solúvel no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4	94

Figura 5.20 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DBO no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4.....	95
Figura 5.21 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO total no RBS nas fases 3 e 5	97
Figura 5.22 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO solúvel no RBS nas fases 3 e 5	98
Figura 5.23 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DBO no RBS nas fases 3 e 5.....	99
Figura 5.24 - Série temporal da dinâmica das concentrações afluentes e efluentes de alcalinidade total (AT) e do pH no sistema nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	100
Figura 5.25 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg CaCO ₃ /L, e da remoção/consumo (C) (%), de alcalinidade total no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4.....	101
Figura 5.26 - Alcalinidade afluente (A), efluente (B), em mgCaCO ₃ /L, e eficiência de remoção/consumo (%) (C) nas fases 3 e 5.	102
Figura 5.27 - Perfis das concentrações de OD (mg/L) no final das fases I (A), II (B), e médias diárias das concentrações de OD (mg/L) nas fases III e IV (C)	104
Figura 5.28 – Box-plot da temperatura média diária no líquido (°C) no RBS e temperatura média do ar (°C) na cidade de Belo Horizonte durante a fase 5 (5/9/2018 a 5/12/2018).....	106
Figura 5.29 - Série temporal da dinâmica das concentrações afluentes e efluentes de SST e SSV (mg/L) e de ST e STV (g/L), respectivamente, nas fases 1, 2, 3, 4 e 5.....	107
Figura 5.30 - Box-plots das concentrações afluentes e efluentes (mg/L) de ST (A e B), STV (C e D) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	108
Figura 5.31 - Box-plots das concentrações afluentes e efluentes (mg/L) de SST (A e B), SSV (C e D) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	109
Figura 5.32 -Eficiências de remoção (%) de ST (A) e SST (B) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	109
Figura 5.33 - Concentrações dos diferentes microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio ao final das fases 1, 2, 3, 4 e 5	110
Figura 5.34 – Abundâncias relativas (>1%) a nível de filo nas fases 1, 2, 3, 4 e 5.....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Moléculas e íons dos compostos nitrogenados e estados de oxidação	26
Tabela 3.2 - Microrganismos oxidadores de N-NH ₄ ⁺	28
Tabela 4.1 - Dimensões e especificações de materiais componentes das unidades da plataforma pMethar utilizadas neste estudo.....	60
Tabela 4.2 - Descrição dos testes de aeração intermitente e de diferentes temperaturas.	61
Tabela 4.3 – Especificações dos iniciadores (<i>primers</i>) utilizados na qPCR.....	63
Tabela 4.4 - Variáveis de estudo do sistema, unidades, metodologias e importância para o plano de monitoramento.	65
Tabela 5.1 - Estatística descritiva das concentrações de OD nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	104
Tabela 5.2 – Resumo das concentrações e desvio padrão das comunidades microbianas nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 obtidas a partir da qPCR	111
Tabela 5.3 - Autovalores e Autovetores mais expressivos obtidos a partir das componentes principais extraídas	117
Tabela 5.4 - Abundâncias relativas (>1%) a nível de filo nas fases 1, 2, 3, 4 e 5	120
Tabela 5.5 – Autovalores e autovetores mais expressivos obtidos a partir das componentes principais extraídas a nível de gênero.....	121
Tabela 5.6 – Principais gêneros atuantes no ciclo do nitrogênio com abundâncias relativas superiores a 1% nas fases 1, 2, 3, 4 e 5.....	124

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABRELPE	Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública
ACP	Análise de componentes principais
Anammox	Oxidação anaeróbia do amônio (do inglês, <i>Anaerobic ammonium oxidation</i>)
AOA	Arqueas oxidadoras de amônio
AON	Arqueas oxidadoras de nitrito
APHA	<i>American Public Health Association</i>
BRLF	Biorreator de leito fluidizado
BOA	Bactérias oxidadoras de amônio
BON	Bactérias oxidadoras de nitrito
C/N	Carbono/nitrogênio
CO ₂	Dióxido de carbono
DESA	Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
DQOt	Demanda química de oxigênio total
DQOs	Fração solúvel da demanda química de oxigênio
DQO/DBO	Demanda química de oxigênio/Demanda bioquímica de oxigênio
ETA	Estação de tratamento de água
ETE	Estação de tratamento de esgoto
FORSU	Fração orgânica de resíduos sólidos urbanos
GEE	Gases de efeito estufa
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
MMBR	Reator com biofilme e leito móvel (do inglês, <i>moving bed biofilm reactor</i>)

N	Nitrogênio
N-damo	Oxidação do metano dependente do nitrito (do inglês, <i>nitrite-dependent anaerobic methane oxidation</i>)
NGS	Sequenciamento de nova geração (do inglês, <i>new generation sequencing</i>)
NH ₃	Amônia livre
NaOH	Hidróxido de sódio
N-NO ₂ ⁻	Nitrito
N-HNO ₂	Ácido nitroso livre
N-NO ₃ ⁻	Nitrato
N-NO	Óxido nítrico
N-N ₂ O	Óxido nitroso
N-N ₂	Nitrogênio gasoso
N-NH ₂ OH	Hidroxilamina
N ₂ H ₄	Hidrazina
N-NH ₄ ⁺	Íon amônio
NP/A	Nitrificação parcial/anammox
NTK	Nitrogênio total Kjeldahl
OD	Oxigênio dissolvido
pH	Potencial hidrogeniônico
PCR	Reação da polimerase em cadeia (do inglês, <i>polymerase chain reaction</i>)
qPCR	Reação da polimerase em cadeia quantitativo
RBS	Reator em bateladas sequenciais
RNA	Ácido ribonucleico
RNAr 16s	Ácido ribonucleico ribossomal 16s
RSU	Resíduos sólidos urbanos

rpm	Rotações por minuto
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
STV	Sólidos totais voláteis
SNAD	Nitrificação parcial, anammox e desnitrificação simultâneos (do inglês, <i>Simultaneous nitrification, anammox and denitrification</i>)
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TRS	Tempo de retenção de sólidos
UASB	Reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (do inglês, <i>up flow anaerobic sludge blanket</i>)
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS.....	24
2.1	OBJETIVO GERAL.....	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3	REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1	CICLO DO NITROGÊNIO	25
3.1.1	<i>Fixação do nitrogênio e amonificação.....</i>	<i>26</i>
3.1.2	<i>Nitrificação</i>	<i>27</i>
3.1.3	<i>Redução assimilatória e dissimilatória do nitrito/nitrato</i>	<i>29</i>
3.1.4	<i>Desnitrificação heterotrófica.....</i>	<i>30</i>
3.1.5	<i>Oxidação anaeróbia do íon amônio.....</i>	<i>31</i>
3.2	REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS	34
3.2.1	<i>Sistemas de nitrificação/desnitrificação heterotrófica.....</i>	<i>35</i>
3.2.2	<i>Sistemas anammox para remoção de nitrogênio</i>	<i>36</i>
3.3	NITRIFICAÇÃO PARCIAL E PROCESSO ANAMMOX	38
3.4	FATORES INTERVENIENTES NO PROCESSO DE NP/A	42
3.4.1	<i>Fornecimento de oxigênio dissolvido.....</i>	<i>44</i>
3.4.2	<i>Aeração contínua x Aeração intermitente</i>	<i>46</i>
3.4.3	<i>Temperatura.....</i>	<i>48</i>
3.4.4	<i>pH.....</i>	<i>50</i>
3.4.5	<i>Íon Amônio/amônia livre e nitrito/ácido nitroso livre</i>	<i>51</i>
3.4.6	<i>Matéria orgânica.....</i>	<i>52</i>

3.4.7	<i>Configuração da biomassa</i>	53
3.4.8	<i>Tempo de detenção de sólidos</i>	55
4	METODOLOGIA	56
4.1	DESCRIÇÃO DO SISTEMA PARA ESTABELECIMENTO DO PROCESSO DE NP/A.....	56
4.2	OPERAÇÃO DO RBS.....	57
4.3	INOCULAÇÃO DO RBS E CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA UTILIZADA	58
4.4	EFLUENTE PROVENIENTE DA METANIZAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS ALIMENTARES.....	59
4.5	ESTRATÉGIAS DE AERAÇÃO INTERMITENTE E DE DIFERENTES TEMPERATURAS	60
4.6	PLANO DE MONITORAMENTO DO SISTEMA	62
4.6.1	<i>Variáveis de estudo microbiológicas</i>	62
4.6.2	<i>Variáveis de estudo físico-químicas</i>	64
4.7	TRATAMENTO DOS DADOS	66
4.7.1	<i>Dados físico-químicos</i>	66
4.7.2	<i>Dados do sequenciamento de nova geração</i>	67
5	RESULTADOS	69
5.1	DINÂMICA DOS COMPOSTOS NITROGENADOS.....	69
5.1.1	<i>Efeitos de diferentes estratégias de aeração</i>	71
5.1.2	<i>Efeitos de diferentes temperaturas na dinâmica dos compostos nitrogenados</i>	81
5.2	DINÂMICA DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS	88
5.2.1	<i>Efeitos da aeração intermitente na dinâmica de compostos orgânicos</i>	91
5.2.2	<i>Efeitos de diferentes temperaturas na dinâmica dos compostos orgânicos</i>	96
5.3	DINÂMICA DAS VARIÁVEIS RELACIONADAS À ESTABILIDADE DO SISTEMA	99
5.3.1	<i>Efeitos das estratégias de aeração no consumo de alcalinidade</i>	101

5.3.2	<i>Efeitos de diferentes temperaturas no consumo de alcalinidade.....</i>	<i>102</i>
5.3.3	<i>Temperatura.....</i>	<i>106</i>
5.4	DINÂMICA DE SÓLIDOS NO SISTEMA	106
5.5	AVALIAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA.....	110
5.5.1	<i>Dinâmica de microrganismos envolvidos no ciclo no nitrogênio através da qPCR</i>	<i>110</i>
5.5.2	<i>Diversidade microbiana através do sequenciamento de nova geração.....</i>	<i>116</i>
6	CONCLUSÕES	128
7	PERSPECTIVAS FUTURAS/RECOMENDAÇÕES	130
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131

1 INTRODUÇÃO

Segundo Cho *et al.* (2017), o aumento da poluição ambiental é um grande desafio atualmente, principalmente devido ao gerenciamento ineficaz dos resíduos sólidos urbanos (RSU). No Brasil, pela ausência de iniciativas consolidadas para o aproveitamento e recuperação da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU), há uma sobrecarga na destinação final, que recebe aproximadamente 71,35 milhões de toneladas de RSU por ano (ABRELPE, 2016). Segundo os autores, em 2016, 42% dos RSU coletados (que corresponde a 30 milhões de toneladas) foram direcionados a aterros controlados e lixões, que conferem formas ambientalmente inadequadas para disposição final de resíduos sólidos, além de potencializarem riscos à saúde pública.

De acordo com ABRELPE (2015), a FORSU correspondem cerca de 51% da massa total de RSU gerados no Brasil, ou seja, mais da metade do total de RSU gerados. No entanto, segundo Mehariva *et al.* (2018), a disposição da FORSU em aterros sanitários representa um elevado risco para a saúde humana e para o meio ambiente. Por esse motivo, segundo Cho *et al.* (2013) vem sendo adotada a proibição da disposição de FORSU em aterros sanitários devido à geração de lixiviado, a exemplo da Coreia. Dessa forma, o desvio de FORSU contribui tanto para a redução de custos no tratamento e disposição final, quanto para a segurança ambiental.

Atualmente há muitos métodos para reutilização e disposição de FORSU, incluindo alimentação animal, compostagem, digestão anaeróbia, entre outros (ZHANG *et al.*, 2011; IACOVIDOU *et al.*, 2012; CHO *et al.*, 2013). Nos últimos anos, a demanda por geração de energia renovável e de desvio de resíduos biodegradáveis de aterros sanitários fizeram da digestão anaeróbia uma tecnologia promissora para o tratamento da FORSU (IACOVIDOU *et al.*, 2012). A utilização da digestão anaeróbia é bastante eficiente para a remoção de matéria orgânica (carbono, sobretudo), paralelamente ao benefício da produção de biogás e energia (SCHEEREN *et al.*, 2011). Para ABRELPE & PLASTIVIDA (2012), a recuperação energética da FORSU tem inúmeras vantagens, destacando-se a substituição de fontes fósseis de energia com vistas à otimização de recursos naturais; a redução de área destinada ao tratamento, além da redução da emissão de gases do efeito estufa (GEE). A digestão anaeróbia converte matéria orgânica em biogás, fonte de energia renovável, e digestato – efluente rico em nutrientes (IACOVIDOU *et al.*, 2012, ZHANG *et al.*, 2013).

No entanto, o produto final da digestão anaeróbia de resíduos alimentares, o digestato, é um efluente altamente concentrado em termos de compostos como nitrogênio e matéria orgânica. Portanto, faz-se necessária investigação de processos para o gerenciamento adequado destes compostos, visando a sua remoção.

Apesar de o nitrogênio ser essencial para a manutenção na vida, as intensas atividades antrópicas têm alterado drasticamente o ciclo desse nutriente. De acordo com Martinez-Espinosa *et al.* (2011), os impactos causados pelo lançamento excessivo de compostos nitrogenados incluem emissões de óxido nítrico (N-NO) e óxido nitroso (N-N₂O) em virtude da desnitrificação parcial e o lançamento excessivo de nitrato (N-NO₃⁻) e nitrito (N-NO₂⁻) no solo e em corpos d'água, potencializando problemas ambientais e de saúde pública. No século XX, a atividade antrópica iniciou um enorme impacto no ciclo global do nitrogênio através do desenvolvimento de processos industriais para reduzir nitrogênio gasoso (N-N₂) a íon amônio (N-NH₄⁺). O processo Haber-Bosch quadruplicou a produção de fertilizantes químicos e outras fontes antrópicas de nitrogênio fixado, excedendo as contribuições naturais na fixação de nitrogênio e causando degradação ambiental sem precedentes (Stein & Klotz, 2016).

Lu *et al.* (2011) constataram que as atividades antrópicas no ciclo do nitrogênio resultaram em acréscimo mundial de nitrogênio orgânico, N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ no solo de 461, 429 e 47%, respectivamente, além do aumento de 134% nas emissões de N-N₂O. Na agricultura, a eficiência de uso de fertilizantes nitrogenados é tipicamente inferior a 40%, o que significa que grande parte desse composto é depositado no solo ou é perdido na atmosfera através da desnitrificação (CANFIELD *et al.*, 2010).

Diversas tecnologias visam gerenciar o nitrogênio de forma sustentável. Dentre elas, o processo de oxidação anaeróbia do amônio (anammox), que vem sendo aplicado no tratamento de efluentes de forma a otimizar a remoção de nitrogênio. Um sistema integrado com processo anammox e recuperação energética através da digestão anaeróbia de águas residuárias confere alternativa para o tratamento de efluentes de forma sustentável e energeticamente positivo (ALI & OKABE, 2015). Segundo Lackner *et al.* (2014), atualmente há mais de cem sistemas em escala real utilizando o processo anammox para remoção de nitrogênio de águas residuárias.

De acordo com Laurení *et al.* (2015), o processo anammox tem sido aplicado com sucesso no tratamento de águas residuárias altamente concentradas em termos de nitrogênio, como é o caso

de digestatos. De acordo com Tomaszewski *et al.* (2017a) o avanço da biologia molecular permitiu o aperfeiçoamento de pesquisas a respeito do processo anammox, não somente da eficiência do processo, mas também da investigação da comunidade microbiana e das características da biomassa. Esses avanços permitem a otimização do processo anammox, uma vez que há dificuldades a serem contornadas para a sua aplicação efetiva.

Para que ocorra a reação anammox, é imprescindível que haja a perfeita sinergia entre os grupos microbianos envolvidos, que desempenham diferentes funções, com o intuito de garantir os substratos necessários para o processo. No entanto, sob condições inadequadas, os grupos microbianos são alterados, gerando estado de desequilíbrio e competição entre si, o que prejudica o processo anammox. Por este motivo, as condições operacionais de sistemas anammox precisam ser muito bem delimitadas, para tornar o processo anammox robusto e eficiente através da sinergia entre os diferentes microrganismos atuantes.

Diversos são os fatores que influenciam na atividade da comunidade microbiana responsável pelo processo anammox, dentre eles matéria orgânica, sólidos, alcalinidade, potencial hidrogeniônico (pH) e o fornecimento de oxigênio ao sistema. O excesso de matéria orgânica, sólidos e oxigênio têm sido reportado na literatura como prejudicial ao processo anammox, bem como reduzida alcalinidade e pH extremo. Os efeitos deletérios causados pela presença desses compostos, embora representem desafios para a aplicação do processo de NP/A, podem ser mitigados sob condições operacionais adequadas. A temperatura tem sido fator decisivo no desenvolvimento do processo anammox, uma vez que há demanda por temperaturas ligeiramente altas. Sob essa perspectiva, o potencial de aplicação desta tecnologia no Brasil é promissor, uma vez que o país apresenta clima tropical com temperaturas ligeiramente altas em comparação à regiões com clima temperado, que podem ser adequadas ao desenvolvimento do processo anammox.

No Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), o processo anammox vem sendo estudado desde 2007. Os primeiros estudos foram realizados com o intuito de viabilizar o enriquecimento de bactérias anammox utilizando diferentes inóculos e configurações de reatores (LARA, 2009; ARAÚJO *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2014). Araújo *et al.* (2010) e Costa *et al.* (2014) alcançaram elevadas eficiências

de remoção de nitrogênio, ratificando a viabilidade do cultivo destes microrganismos e desenvolvimento do processo anammox no Brasil.

Em seguida, os estudos tiveram enfoque no diagnóstico de diferentes compostos na atividade anammox. Pereira *et al.* (2014) investigaram os efeitos de concentrações de fenol na atividade anammox em um reator em bateladas sequenciais (RBS) com biomassa e atividade anammox. Os autores observaram que concentrações de fenol de 300 mg/L reduziram a eficiência de remoção de nitrogênio de 96,5 para 47%. Leal *et al.* (2016) avaliaram os efeitos de diferentes relações carbono/nitrogênio (C/N) no desempenho de RBS anammox alimentado com meio sintético com diferentes concentrações de glicose. Os autores observaram que a presença de glicose favoreceu o crescimento de bactérias desnitrificantes heterotróficas e que taxas C/N de 2,8 e 5 propiciaram eficiências de remoção de N-NH_4^+ de 84 e 66%, respectivamente.

Posteriormente, o objetivo dos trabalhos foram, principalmente, a utilização de efluentes reais, como esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente e digestato de resíduos alimentares. Fernandes *et al.* (2018) avaliaram efeitos de diferentes temperaturas de operação (35, 25 e 20°C) no desempenho de um RBS anammox alimentado com efluente doméstico anaeróbio acrescido de N-NO_2^- . Os autores observaram eficiências de remoção de amônio de 94, 96 e 89% sob 35, 25 e 20°C, respectivamente. Apesar do excelente desempenho do sistema, o processo contou com a suplementação externa de N-NO_2^- , enquanto que a aeração para promoção do N-NO_2^- no próprio sistema não foi investigada.

Pereira (2018) avaliou a aeração intermitente para desenvolvimento do processo de nitrificação parcial/anammox (NP/A) no tratamento de digestato de resíduo alimentar proveniente do mesmo sistema utilizado no presente estudo, sob temperatura controlada de 35°C. A autora observou que a alimentação de RBS em escala laboratorial com digestato e N-NO_2^- externo foi capaz de remover carga de 77,5 g N/m³.d, mas ao aplicar estratégias de aeração intermitente, houve diminuição da carga removida, de 18 a 24 g N/m³.d.

Sabe-se que a viabilidade da implementação de sistemas anammox, em termos econômicos e operacionais, é dificultada a partir da adição de fonte externa de nitrito, bem como sob temperatura controlada na faixa de 35°C. Ademais, é possível que as estratégias de aeração intermitente sejam otimizadas para que seja alcançado melhor desempenho do sistema. Portanto, faz-se necessária novas investigações no sentido de novas estratégias operacionais

para alcançar melhores estratégias de aeração intermitente, bem como para viabilizar a operação de reatores anammox sob temperatura ambiente. Nesse sentido o presente trabalho investigou a aplicação de NP/A em digestato de digestato de efluente alimentar, empregando diferentes estratégias de aeração intermitente – com tempos aerados/não aerados e taxas de oxigênio aplicadas variadas – bem como o estabelecimento do processo em temperatura ambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar o efeito da aeração intermitente e da temperatura no desempenho do processo combinado de nitrificação parcial e anammox para remoção de nitrogênio de digestato proveniente da metanização de resíduos alimentares.

2.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar o desempenho do processo de nitrificação parcial e anammox empregando quatro estratégias de aeração intermitente com diferentes períodos aerados/não aerados e diferentes vazões de ar aplicadas;
- Avaliar o efeito de diferentes temperaturas de operação (reator controlado a 35°C e temperatura ambiente) no desempenho do sistema, aplicando a estratégia de aeração com melhor desempenho em termos de remoção de nitrogênio;
- Caracterizar e avaliar as mudanças na comunidade microbiana ao longo das diferentes etapas operacionais do sistema.

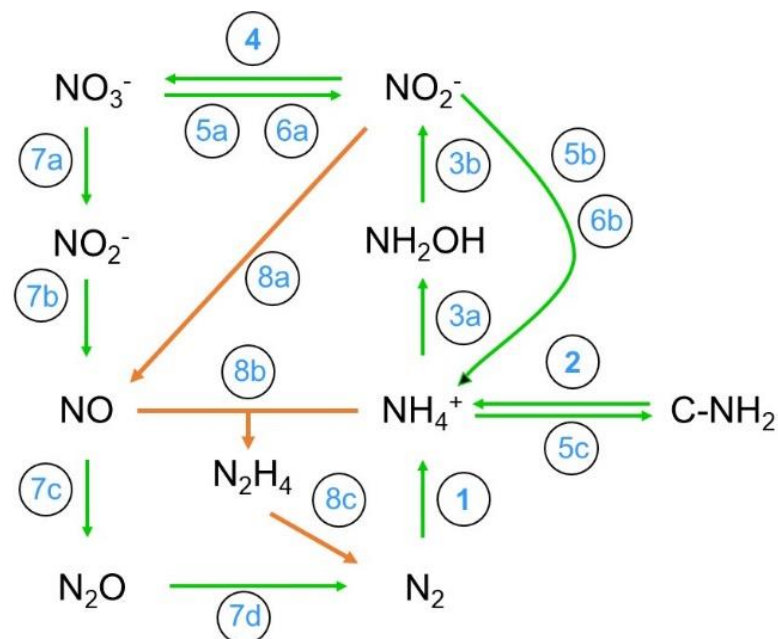
3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ciclo do nitrogênio

Embora o ciclo do nitrogênio seja habitual e amplamente discutido na literatura - incluindo livros, trabalhos acadêmicos e artigos científicos -, este item traz uma visão mais atualizada a respeito deste ciclo, uma vez que há importantes e recentes descobertas sobre suas interações e atividade da comunidade microbiana envolvida.

O nitrogênio é o quarto elemento mais abundante na biomassa celular, além de ser o elemento mais abundante na atmosfera terrestre (STEIN & KLOTZ, 2016). Devido ao seu requerimento em macromoléculas biológicas, esse nutriente tem o potencial de estruturar comunidades microbianas, bem como controlar a produtividade em ecossistemas (WARD & JENSEN, 2014). De acordo com Martinez-Espinosa *et al.* (2011), o ciclo do nitrogênio envolve processos biológicos e redox abióticos, dentre os quais os mais importantes são (i) a fixação do nitrogênio, (ii) nitrificação, (iii) assimilação do nitrato, (iv) redução respiratória do nitrato a amônio, (v) processo anammox e (vi) desnitrificação, conforme a Figura 3.1.

Figura 3.1 - Ciclo do nitrogênio com processos de (1) fixação; (2) amonificação; (3a) e (3b) nitratação; (4) nitratação; (5a), (5b) e (5c) assimilação do nitrato; (6a) e (6b) desassimilação do nitrato; (7a), (7b), (7c) e (7d) desnitrificação e (8a), (8b) e (8c) anammox



Fonte: Adaptado de Stein & Klutz (2016) e Madigan *et al.* (2016).

O intercâmbio entre o gás inerte N-N₂ existente na atmosfera e o “nitrogênio reativo” (compostos nitrogenados que auxiliam no metabolismo e crescimento celular) é inteiramente controlado pela atividade microbiana (STEIN & KLOTZ, 2016). Segundo Martinez-Espinosa *et al.* (2011), o nitrogênio constitui principalmente a matéria orgânica viva ou morta, sendo este nitrogênio orgânico convertido em formas inorgânicas por decomposição.

De acordo com Ward & Jensen (2014), as recentes descobertas no ciclo do nitrogênio significam que ainda se tem muito a aprender a respeito da microbiologia deste ciclo, os organismos responsáveis e suas interações com ambientes naturais e àqueles modificados pela ação antrópico. A importância do nitrogênio na biosfera e na vida celular é incontestável, no entanto, o conhecimento sobre os microrganismos e processos enzimáticos atuantes na transformação do nitrogênio é incompleto (STEIN & KLOTZ, 2016). A diversidade dos compostos nitrogenados e seus respectivos estados de oxidação são mostrados na **Tabela 3.1**.

Tabela 3.1 – Moléculas e íons dos compostos nitrogenados e estados de oxidação

Molécula/Íon	Nome do composto	Estado de oxidação
C-NH ₂	Nitrogênio orgânico	Variável
NH ₃ /NH ₄ ⁺	Amônia/Íon amônio	-3
N ₂ H ₄	Hidrazina	-2
NH ₂ OH	Hidroxilamina	-1
N ₂	Dinitrogênio	0
N ₂ O	Óxido nitroso	+1
NO	Óxido nítrico	+2
HNO ₂ / NO ₂ ⁻	Ácido nitroso/nitrito	+3
NO ₂	Dióxido de nitrogênio	+4
HNO ₃ /NO ₃ ⁻	Ácido nítrico/nitrato	+5

Fonte: Adaptado de Von Sperling (2014) e Stein & Klotz (2016).

3.1.1 Fixação do nitrogênio e amonificação

Segundo Magidan *et al.* (2016), diazotróficos são microrganismos que fixam o gás N-N₂ em nitrogênio amoniacal por meio da enzima nitrogenase. Segundo Stein & Klotz (2016), a fixação do nitrogênio é realizada por bactérias e arqueas, que produzem N-NH₄⁺ a partir de N-N₂, que por sua vez é transferido em aminoácidos e assimilado pela biomassa ou respirado por

microrganismos oxidadores aeróbios e anaeróbios de $N-NH_4^+$ (ROSENBERG *et al.*, 2013; STEIN & KLOTZ, 2016). Por outro lado, o processo de liberação de $N-NH_4^+$ de compostos nitrogenados orgânicos, como aminoácidos e nucleotídeos pela atividade microbiana é chamado de “amonificação” ou “mineralização” (ROSENBERG *et al.*, 2013; MADIGAN *et al.*, 2016).

Segundo Madigan *et al.* (2016), os organismos diazotróficos de vida livre dividem-se em anaeróbios e aeróbios estritos. De acordo com os mesmos autores, os diazotróficos anaeróbios estão presentes nos filos bacterianos *Firmicutes* (*Clostridium*), *Chloroflexi* (*Oscillochloris*), *Chlorobi* (*Chlorobium*), *Spirochaetes* (*Spirochaeta*) e *Proteobacteria* (*Desulfovibrio*, *Chromatium*) e no filo *Archaea Euryarchaeota* (*Methanisarcina*). Já os diazotróficos aeróbios incluem os gêneros *Azotobacter*, *Azospilillum* e *Beijerinchia*.

No século XX houve o advento do processo denominado Haber-Bosch para promover a fixação de $N-N_2$ em $N-NH_4^+$. Antes deste processo, praticamente todo o nitrogênio reativo na biosfera era gerado e reciclado por microrganismos (STEIN & KLOTZ, 2016). Uma potencial consequência do aumento da fixação do nitrogênio e o posterior uso deste nutriente como fertilizante é a maior disponibilidade desse composto em corpo d'água, impactando a qualidade dos recursos hídricos e aumentando o fluxo de $N-N_2O$ para a atmosfera (CANFIELD *et al.*, 2010).

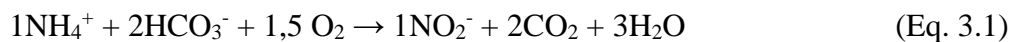
3.1.2 Nitrificação

3.1.2.1 Nitrificação em duas etapas (nitritação/nitratação)

A nitrificação envolve três grupos de microrganismos: (i) oxidadores de amônio, que oxidam $N-NH_4^+$ a $N-NO_2^-$ (nitritação/nitrificação parcial); (ii) oxidadores de nitrito, que oxidam o $N-NO_2^-$ a $N-NO_3^-$ (nitratação/nitrificação total) e (iii) oxidadores completos do amônio, que oxidam $N-NH_4^+$ a $N-NO_3^-$ (comammox) (STEIN & KLOTZ, 2016). Segundo os mesmos autores, microrganismos oxidadores de $N-NH_4^+$ e $N-NO_2^-$ são seres quimiolitotróficos que utilizam $N-NH_4^+$ e $N-NO_2^-$ como fonte de energia e crescimento celular.

A enzima amônia monoxigenase catalisa a conversão de $N-NH_4^+$ em hidroxilamina ($N-NH_2OH$); em seguida, a $N-NH_2OH$ é oxidada a $N-NO_2^-$ através da enzima hidroxilamina redutase. Finalmente a oxidação do $N-NO_2^-$ a $N-NO_3^-$ é catalisada pela enzima nitrito

oxidoreductase. Essas enzimas estão presentes nos microrganismos que realizam esses processos (CANFIELD *et al.*, 2010; ROSENBERG *et al.*, 2013; MADIGAN *et al.*, 2016). No processo de nitrificação, o N-NH₄⁺ é oxidado a N-NO₂⁻, e em seguida, o N-NO₂⁻ é oxidado a N-NO₃⁻, de acordo com as Equações 3.1 e 3.2 (ZHANG *et al.*, 2017b; VON SPERLING, 2014).



Microrganismos oxidadores de amônio pertencem às classes *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* e ao filo *Thaumarchaeota* (STEIN & KLOTZ, 2016; MADIGAN *et al.*, 2016). De acordo com Rosenberg *et al.* (2013), esses microrganismos utilizam dióxido de carbono (CO₂) como principal fonte de carbono. Madigan *et al.* (2016), especificaram alguns gêneros de bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e arqueas oxidadoras de amônio (AOA), contidos na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Microrganismos oxidadores de N-NH₄⁺

Táxon	Gêneros de BOA e AOA
Classe <i>Betaproteobacteria</i>	<i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrosospira</i> , <i>Nitrosolobus</i> , <i>Nitrosovibrio</i>
Classe <i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Nitrosococcus</i>
Filo <i>Thaumarchaeota</i>	<i>Nitrosopumilus</i> , <i>Nitrosocaldus</i> , <i>Notrosoarchaeum</i> , <i>Nitrososphaera</i>

Fonte: Adaptado de Madigan *et al.*, 2016

De acordo com Madigan *et al.* (2016), a oxidação de N-NO₂⁻ pode ser realizada tanto por bactérias quanto por arqueas. Segundo os autores, bactérias oxidadoras de nitrito⁻ (BON) são encontradas nas classes *Alphaproteobacteria* (*Nitrobacter*), *Betaproteobacteria* (*Nitrotoga*), *Gammaproteobacteria* (*Nitrococcus*) e *Deltaproteobacteria* (*Nitrospina*), bem como no filo *Nitrospirae*. Já as arqueas oxidadoras de nitrito (AON) percentem ao filo *Thaumarchaeota*, gênero *Nitrosopumilus*. De acordo com Ma *et al.* (2015), *Nitrobacter* e *Nitrospira* são tipicamente BON dominantes em sistemas de tratamento de águas residuárias.

3.1.2.2 Nitrificação em etapa única

Segundo Wang *et al.* (2017), na nitrificação em duas etapas, organismos distintos realizam a oxidação de N-NH_4^+ e N-NO_2^- , no entanto, é energeticamente viável que um único organismo tenha capacidade de realizar a nitrificação completa, considerando que produziria mais energia. A recente descoberta da bactéria do gênero *Nitrospira* completamente nitrificante (comammox, do inglês, *complete ammonium oxidizers*) exige um reexame de ambientes nitrificantes para avaliar sua contribuição para o ciclo do nitrogênio (FOWLER *et al.*, 2018). Segundo Madigan *et al.* (2016), bactérias do gênero *Nitrospira* pertencem ao filo *Nitrospirae*.

A *Nitrospira* é ambientalmente difundida e abundante em *habitats* naturais e em sistemas de tratamento de água e de efluentes (HU & HE, 2017). Apenas recentemente as bactérias comammox, capazes de realizar a oxidação de N-NH_4^+ a N-NO_3^- em um único organismo, foram identificados no gênero bacteriano *Nitrospira*, anteriormente considerado como contendo apenas BON (PJEVAC *et al.*, 2017). Segundo Hu & He (2017), a cinética de oxidação de N-NH_4^+ e versatilidade metabólica de bactérias comammox as tornam competitivas sob condições oligotróficas, em comparação a outros nitrificantes.

Sabe-se pouco sobre a ecologia das bactérias comammox e sua contribuição global para a oxidação de N-NH_4^+ (FOWLER *et al.*, 2018). A descoberta de bactérias comammox altera fundamentalmente nossa percepção sobre o ciclo global do nitrogênio (WANG *et al.*, 2017). Dada a sua capacidade metabólica, é possível que bactérias comammox possam crescer em sistemas de tratamento de águas residuárias visando a remoção de nitrogênio (GONZALEZ-MARTINEZ *et al.*, 2015). Pjevac *et al.* (2017) identificaram bactérias comammox em diversos ambientes, incluindo solos, sedimentos de lagos, estações de tratamento de água (ETA) e estações de tratamento de esgoto (ETE).

3.1.3 **Redução assimilatória e dissimilatória do nitrito/nitrato**

Na ausência de oxigênio, o N-NO_3^- pode ser utilizado por diversos microrganismos como acceptor de elétrons respiratório, sendo a redução do N-NO_3^- conectada à oxidação anaeróbia do carbono orgânico, produzindo N-NH_4^+ num processo denominado de redução dissimilatória do N-NO_3^- a N-NH_4^+ (CANFIELD *et al.*, 2010; ROSENBERG *et al.*, 2013).

De acordo com Stein & Klotz (2016), a redução assimilatória ou dissimilatória de N-NO₂⁻/N-NO₃⁻ a N-NH₄⁺ é uma outra via de amonificação realizada por bactérias e fungos. Segundo os mesmos autores, a redução dissimilatória do N-NO₂⁻ a N-NH₄⁺ pode gerar força promotiva celular e assim converter energia para o crescimento celular. De acordo com Richardson & Watmough (1999), a enzima nitrato redutase catalisa a redução de N-NO₃⁻ a N-NO₂⁻; assim como a enzima nitrito redutase catalisa a redução de N-NO₂⁻ a N-NH₄⁺ de acordo com as Equações 3.3 e 3.4.



3.1.4 Desnitrificação heterotrófica

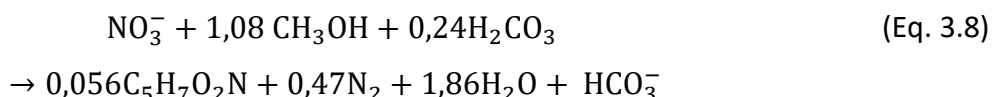
Segundo Rosenberg *et al.* (2013), a desnitrificação é a redução dissimilatória do N-NO₃⁻ a N-N₂. De acordo com Stein & Klotz (2016), a desnitrificação consiste no processo de respiração anaeróbia de N-NO₂⁻, N-NO e N-N₂O, onde microrganismos heterotróficos podem unir essas reações à redução de N-NO₃⁻ e N-NO₂⁻ e desenvolver a conversão de N-NO₃⁻ a N-N₂.

A desnitrificação é um processo de respiração que ocorre com auxílio de quatro enzimas: (i) nitrato redutase, que catalisa a redução de N-NO₃⁻ a N-NO₂⁻; (ii) nitrito redutase, que catalisa a redução do N-NO₂⁻ em N-N₂O; (iii) óxido nítrico redutase, que catalisa a redução de N-N₂O em N-NO, e finalmente (iv), óxido nitroso redutase, responsável por catalisar a reação de transformação de N-NO em N-N₂ (RICHARDSON & WATMOUGH, 1999; ROSENBERG *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2016). De acordo com Richardson & Watmough (1999), essas reações ocorrem de acordo com as Equações 3.3 (descrita anteriormente), 3.5, 3.6 e 3.7.



O processo de desnitrificação tem três produtos intermediários (ROSENBERG *et al.*, 2013). Muitas arqueas e bactérias realizam apenas a desnitrificação parcial. Essas vias incompletas podem levar à liberação de compostos nitrogenados gasosos, como N-NO e N-N₂O ao meio

ambiente ou não remover totalmente o N-NO_3^- do meio líquido (STEIN & KLOTZ, 2016). Além disso, segundo Madigan *et al.* (2016), uma vez que os produtos da redução do N-NO_3^- são todos gasosos ($\text{N-N}_2\text{O}$, N-NO e N-N_2), podem ser facilmente perdidos no ambiente durante a desnitrificação. Ademais, a desnitrificação é realizada por vias heterotróficas, demandando fonte de carbono orgânico. Ahn *et al.* (2006), descreveram a Equação 3.8 como a equação global da desnitrificação heterotrófica.

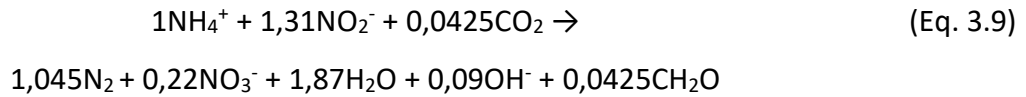


Segundo Madigan *et al.* (2016), os microrganismos desnitrificantes são metabólica e filogeneticamente diversos, inseridos em dois filos de arqueas e seis filos de bactérias, incluindo cinco classes de *Proteobacteria* (onde estão inseridos a maioria dos desnitrificantes procariotas, sendo aeróbios facultativos). Segundo Stein & Klotz (2016), recentemente foi descoberta a habilidade desnitrificante da bactéria *Methylomirabilis oxyfera*, que consome metano como fonte de energia para reduzir NO_2^- a N_2 , produzindo CO_2 .

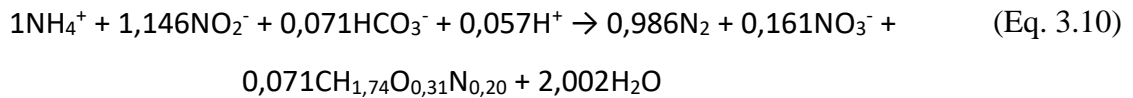
3.1.5 Oxidação anaeróbia do íon amônio

De acordo com Jetten *et al.* (1997), anteriormente acreditava-se que apenas organismos aeróbios pudessem oxidar o N-NH_4^+ , embora, teoricamente, o N-NH_4^+ pudesse ser utilizado como doador de elétron para a desnitrificação, com energia livre para a reação de -297 kJ/mol , muito próxima àquela favorável a nitrificação aeróbia (-315 kJ/mol). Mulder *et al.* (1995) observaram o desaparecimento de N-NH_4^+ em um reator de leito fluidizado (BRLF), evidenciando o que os autores chamaram de oxidação anaeróbia do íon N-NH_4^+ . No entanto, os autores atribuíram o processo como dependente de N-NO_3^- , acreditando ser este composto o acceptor de elétrons para a reação.

No entanto, Van de Graff *et al.* (1996) observaram que, na verdade, a reação anammox tem o N-NO_2^- como acceptor de elétrons, em vez de N-NO_3^- como foi anteriormente proposto. Os autores propuseram a Equação 3.9 como equação global da reação anammox ($\Delta G^\circ = -358 \text{ kJ/molNH}_4^+$).

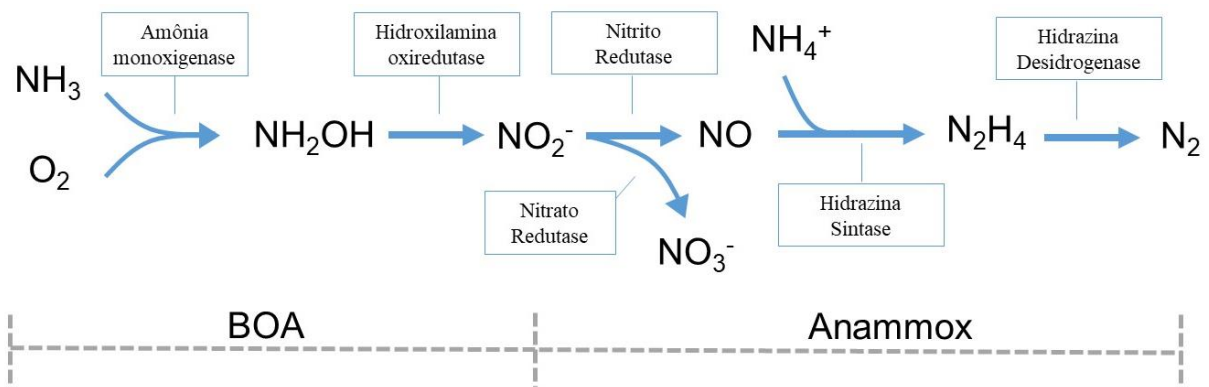


Posteriormente, uma nova estequiometria para a reação anammox foi proposta por Lotti *et al.* (2014a), considerando o N-NH₄⁺ como fonte de nitrogênio e N-NO₂⁻ como doador de elétrons para redução de carbono orgânico durante o anabolismo, conforme a Equação 3.10.



Na reação anammox são utilizados o N-NH₄⁺ e N-NO₂⁻ para formar N-N₂ através dos intermediários N-NO e hidrazina (N₂H₄) (STEIN & KLOTZ, 2016). Nessa reação, primeiramente o N-NO₂⁻ é reduzido a N-NO através da ação da nitrito redutase, em seguida o N-NO interage com o N-NH₄⁺, produzindo N-N₂H₄ por meio da enzima hidrazina hidroxilase. A N-N₂H₄ é então oxidada a N-N₂ através da enzima hidrazina desidrogenase (MADIGAN *et al.*, 2016). A Figura 3.2 apresenta uma representação esquemática das vias metabólicas do processo anammox, com os compostos nitrogenados envolvidos na reação, enzimas e atividade microbiana.

Figura 3.2 - Vias metabólicas do processo anammox, com os compostos, enzimas e microrganismos envolvidos



Fonte: Adaptado de Wu *et al.* (2016).

O processo anammox é catalisado por microrganismos de grande importância, tanto no ciclo natural do nitrogênio quanto em sistemas de remoção do nitrogênio fixado (DING *et al.*, 2018). No entanto, de acordo com Jin *et al.* (2012), as bactérias anammox têm crescimento lento e são muito sensíveis a variações ambientais, tornando o seu cultivo difícil. Segundo os autores, condições operacionais adequadas podem ajudar a contornar esses problemas.

Por outro lado, bactérias anammox têm uma incrível capacidade de adaptação e resistência a fatores adversos. Zhu *et al.* (2018b) constataram que essas bactérias permaneceram em estado de dormência, ou seja, com baixa atividade metabólica devido à condições ambientais desfavoráveis, por mais de 10.000 anos. Segundo os autores, essas bactérias foram capazes de recuperar a atividade sob condições favoráveis.

De acordo com Pereira *et al.* (2017), já foram descobertos sete gêneros de bactérias anammox, incluindo *Candidatus (Ca.) Brocadia*, *Ca. Jettenia*, *Ca. Scalindua*, *Ca. Kuenenia*, *Ca. Anammoxoglobus*, *Ca. Anammoximicrobium* e *Ca. Brasilis*. Há uma grande distância filogenética entre os diferentes gêneros de anammox, no entanto, todos compartilham o mesmo metabolismo (MA *et al.*, 2016). As espécies de bactérias anammox têm diferentes fisiologias e sua abundância no ecossistema depende da cinética de crescimento e da tolerância às várias condições ambientais (ALI & OKABE, 2015).

De acordo com Strous *et al.* (1999), bactérias anammox pertencem à ordem *Planctomycetales*. A reação anammox é realizada exclusivamente por bactérias da família *Brocadiaceae* da ordem *Planctomycetales*, que contêm uma organela especial denominada anamoxossomo (STEIN & KLOTZ, 2016). O anamoxossomo é a estrutura celular da bactéria anammox onde a reação de oxidação anaeróbia do íon $N-NH_4^+$ ocorre (MADIGAN *et al.*, 2016). Van de Graff *et al.* (1996) observaram a mudança de coloração no reator de marrom para avermelhado à medida em que bactérias anammox eram cultivadas. Os autores observaram que essa nova coloração era causada pela concentração de citocromo *c* nas células anammox.

No Brasil, bactérias anammox não só têm sido identificadas e cultivadas para o tratamento de efluentes, como também têm sido descobertas novas espécies e gêneros. Araújo *et al.* (2011) identificaram a espécie *Ca. Brocadia brasiliensis*, cultivada a partir de lodos ativados como inóculo. Viancelli *et al.* (2011) identificaram o gênero *Ca. Brasilis*, utilizando como inóculo biomassa anaeróbia oriunda de sistema de tratamento de suinocultura. Estes resultados tanto confirmam o potencial de aplicabilidade do processo anammox no Brasil, como também corroboram com a possibilidade de existência de bactérias anammox adaptadas às condições ambientais brasileiras.

3.2 Remoção de nitrogênio de águas residuárias

A água doce representa menos de 1% do volume global de água, com apenas 1% deste volume constituindo lagos e rios, portanto, a proteção de ecossistemas aquáticos de atividades antrópicas é uma ferramenta primordial em direção à sustentabilidade (SOLIMAN & ELDYASTI, 2017). Segundo Lan *et al.* (2011), o lançamento excessivo de nitrogênio em sistemas aquáticos gera problemas de acidificação, eutrofização e impacta a comunidade aquática. Nesse sentido, diversas tecnologias têm sido estudadas para possibilitar a remoção de nitrogênio de efluentes, a fim de tornar sistemas de tratamento de águas residuárias mais sustentáveis e robustos.

Dentre essas tecnologias, destacam-se àquelas que visam a recuperação de nitrogênio para posterior reaproveitamento mantendo-o como nitrogênio fixado e os que visam remoção desse nutriente através da desnitrificação. Ambas conferem importantes alternativas, pois têm o intuito de gerenciar de forma mais sustentável o nitrogênio. No entanto, devido ao aumento da carga nitrogenada no solo e nos recursos hídricos reportada na literatura (CANFIELD *et al.*, 2010; LU *et al.*, 2011; STEIN & KLOTZ, 2016), tem-se buscado o aprimoramento de técnicas de remoção de nitrogênio através da desnitrificação.

A remoção de nitrogênio em águas residuárias pode ocorrer através de processos físicos, químicos ou biológicos. Os processos químicos para remoção de nitrogênio estão limitados às condições de pH e características do efluente, que, por sua vez, podem elevar os custos operacionais necessários para alcançar eficiência satisfatória (SCHEEREN *et al.*, 2011). No entanto, segundo Wu *et al.* (2018), estes processos comumente permitem a recuperação de nitrogênio e sua posterior reaproveitamento como fertilizantes.

A remoção biológica de nitrogênio tem sido amplamente utilizada em sistemas de tratamento de efluentes para impedir o lançamento excessivo de nitrogênio em corpos receptores e para manter a qualidade natural dos recursos hídricos (LIU *et al.*, 2017). De acordo com Wang *et al.* (2016), os processos químicos e também os processos biológicos clássicos - com nitrificação total/desnitrificação heterotrófica - têm altos custos devido à demanda de produtos químicos e de energia, respectivamente. Assim, faz-se necessário a busca e o aprimoramento de técnicas

de remoção de nitrogênio, com o intuito de torná-la mais sustentável do ponto de vista ambiental, econômico e operacional.

3.2.1 Sistemas de nitrificação/desnitrificação heterotrófica

Sistemas clássicos com nitrificação total seguida de desnitrificação heterotrófica são amplamente difundidos como uma alternativa para remoção de nitrogênio. Neste processo, o $N-NH_4^+$ é oxidado a $N-NO_2^-$ e em seguida a $N-NO_3^-$, para que o $N-NO_3^-$ seja reduzido a $N-N_2$ (LAN *et al.*, 2011).

Para Lackner *et al.* (2014), sistemas clássicos de remoção de nitrogênio são intensivamente energéticos, principalmente devido aos custos de aeração para o fornecimento de oxigênio, necessário para que as etapas de nitrificação ocorram. De acordo com Laurení *et al.* (2015), além dos custos com aeração, há a necessidade de adição de fonte externa de carbono para viabilizar a desnitrificação por vias heterotróficas, além de acentuada geração de lodo, requerendo gerenciamento adequado.

No entanto, segundo Morvannou *et al.* (2017), em sistemas de wetlands verticais com fundo saturado ocorre o processo de nitrificação sem que seja necessário fornecimento de oxigênio externo, além da desnitrificação, utilizando a matéria orgânica contida no efluente como fonte de carbono. Apesar das inúmeras vantagens de sistemas de wetlands, a aplicação a grande escala é limitada pela demanda de área. Assim, há grande dificuldade na implementação de sistemas clássicos de maneira geral.

A desnitrificação heterotrófica ocorre em múltiplas etapas, dentre as quais está inserida a conversão a $N-NO$ e $N-N_2O$, gases poluentes conhecidos por contribuir para o estudo estufa. Segundo Stein & Klotz (2016), muitos microrganismos realizam apenas a desnitrificação parcial, com a interrupção do processo em uma das etapas intermediárias. Dessa forma, vias incompletas de desnitrificação podem ocasionar emissões de $N-NO$ e $N-N_2O$.

Além disso, de acordo com Ma *et al.* (2016), a matéria orgânica é uma potencial fonte para geração de energia e pode ser utilizada para produzir metano em sistemas anaeróbios através de bactérias metanogênicas. Portanto, sistemas de remoção de nitrogênio com desnitrificação heterotrófica que utilizam parte desse substrato resultam em pequena produção de metano que poderia ser direcionado ao reaproveitamento energético. De acordo com Lotti *et al.* (2014b),

com o intuito de maximizar a recuperação energética em ETEs, a remoção do carbono orgânico torna-se vantajosa e pode acontecer em reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB, do inglês, *upflow anaerobic sludge blanket*) em país tropicais.

Embora os processos clássicos de nitrificação/desnitrificação heterotrófica seja uma tecnologia robusta para a remoção de nitrogênio de efluentes, questões econômicas incentivam sua troca por processos mais curtos (SEUNTJENS *et al.*, 2017). Recentemente, a mudança de paradigma para as novas ETEs envolve a separação de carbono orgânico para a geração de bioenergia e a subsequente remoção completamente autótrofa de nitrogênio (LIU *et al.*, 2017). Segundo Cho *et al.* (2017), o processo clássico de remoção biológica de nitrogênio tem sido substituído pelo processo anammox.

3.2.2 Sistemas anammox para remoção de nitrogênio

De acordo com Lackner *et al.* (2014), a aplicação do processo anammox é extremamente interessante, uma vez que traz vantagens significativas em comparação ao sistema clássico para remoção de nitrogênio. O processo anammox é uma opção com redução de custos em comparação ao sistema clássico, por conta da menor demanda de oxigênio, além da ausência de demanda por matéria orgânica (FERNANDÉZ *et al.*, 2012).

Adicionalmente, de acordo com Miao *et al.* (2018), a produção de lodo pode ser 90% menor em sistemas anammox. Dessa forma, o tratamento de águas residuárias utilizando o processo anammox para remoção de nitrogênio é promissor para tornar o balanço energético do sistema neutro ou positivo (LAURENI *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2016). Normalmente, a carga de nitrogênio removida via processo anammox é superior a 2 kg/m³.d, enquanto os processos convencionais removem cargas cerca de 10 vezes menores (SCHEEREN *et al.*, 2011).

Lotti *et al.* (2014a), observaram que as emissões de N-NO e N-N₂O no processo anammox correspondem a $0,003 \pm 0,002$ e $0,056 \pm 0,02\%$ das concentrações afluentes de nitrogênio, e $0,001 \pm 0,0006$ e $0,2 \pm 0,01\%$ do total de nitrogênio removido. Assim, fica claro que as emissões destes compostos é reduzida na desnitrificação através do processo anammox, em comparação com o processo de desnitrificação heterotrófica.

No entanto, a partida de sistemas anammox tem sido um desafio em virtude do crescimento lento de bactérias anammox. Van de Star *et al.* (2007) observaram em um reator anammox de

70 m³ que o tempo de duplicação de bactérias anammox foi de 10 a 12 dias. Os autores observaram que foi necessário um período de quase dois anos para a partida do sistema. No entanto, estudos recentes têm mostrado novas possibilidades para encurtar a partida de sistemas anammox e aumentar da taxa de crescimento dessas bactérias.

Lotti *et al.* (2014a) observaram que sob um tempo de retenção de sólidos (TRS) de 12 dias, bactérias anammox apresentaram uma taxa de crescimento de 0,21/d. Zhang *et al.* (2017a) utilizaram técnicas de imobilização da biomassa em diferentes meios e determinaram taxas de crescimento de $0,33 \pm 0,02$ e 0,18/d para as espécies *Ca. Brocadia sinica* e *Ca. Jettenia caeni*. Os dados dessas pesquisas sugerem que o avanço das pesquisas sobre o processo anammox está colaborando para otimizar o processo e torná-lo mais acessível para implementação em sistemas de tratamento de efluentes.

De acordo com Cho *et al.* (2017), para a partida em novos sistemas anammox, na ausência de outros sistemas com cultivo bactérias anammox que forneçam inóculo, uma fonte alternativa é a utilização de lodos ativados como inóculo, sendo eficiente para a partida de novos sistemas. De acordo com Viancelli *et al.* (2017), os gêneros de bactéria anammox *Ca. Kuenenia*, *Ca. Brocadia*, *Ca. Anammoxoglobus* e *Candidatus Jettenia* têm sido enriquecidos a partir de inóculos de lodos ativados. Os autores observaram que bactérias anammox podem ser reativadas após quatro meses utilizando glicerol e leite como agentes de preservação a temperatura de -80 °C. Portanto, podem ser utilizadas como inóculo para partidas de novos reatores anammox, com a aplicação de técnicas de preservação adequadas. Portanto, o avanço das pesquisas a respeito do processo anammox tem contribuído para a otimização da aplicação de sistemas baseados na reação anammox, com o intuito de minimizar e contornar as limitações desses sistemas.

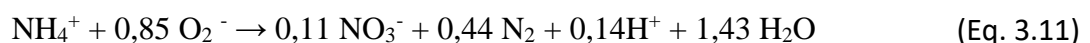
Muitas são as configurações de reatores utilizadas para o desenvolvimento do processo anammox. RBS são adequados para o enriquecimento de bactérias anammox, por conta da eficiente retenção de biomassa e alta estabilidade ao longo do período de operação (MIAO *et al.*, 2015). De acordo com Strous *et al.* (1998), os RBS constituem uma configuração com pontos positivos, incluindo: (i) retenção eficiente da biomassa; (ii) distribuição homogênea de substratos e produtos da biomassa agregada no reator; (iii) operação confiável por longos períodos (mais de um ano) e (iv) condições estáveis em situações de limitação de substrato.

Ainda de acordo com os autores, os RBS são mais eficientes em relação a reatores BRLF, uma vez que essa última configuração apresenta ineficiente retenção de biomassa e zonas mortas que não recebem substrato, levando à diminuição da atividade anammox. Martins *et al.* (2017), verificaram que o controle da agitação em RBS é capaz de alterar a atividade anammox específica. Os autores observaram que essa atividade diminuiu com o aumento da agitação de 50 para 150 rotações por minuto (rpm).

O reator com biofilme e leito móvel (MBBR, do inglês *moving bed bio-reactor*) permite o cultivo de microrganismos lentos com completa retenção de biomassa, mas sem a seleção quanto à habilidade de sedimentação (biomassa floculenta ou granular) (LOTTI *et al.*, 2014a). Tao *et al.* (2012) observaram que a modificação de um RBS para MBBR com a instalação de um módulo de membrana externo resultou na aceleração da atividade anammox específica em 19 vezes, com dominância das espécies *Ca. Brocadia anammoxidans* e *Ca. Kuenenia stuttgartiensis*. Os autores atribuíram o desempenho do MBBR devido à melhor retenção de biomassa. No entanto, esse estudo foi operado com efluente sintético, com menor risco de crescimento de BON. Em sistemas tratando efluentes reais, a retirada da biomassa pode ser benéfica por eliminar a comunidade BON. Além disso, a espessura do biofilme pode limitar o fluxo de substratos. Reatores UASB também têm sido aplicados em sistemas anammox em estágio único (MA *et al.*, 2017) e dois estágios (WANG *et al.*, 2016). Esses sistemas têm sido eficazes para a boa retenção de biomassa anammox, além de bom desempenho do sistema.

3.3 Nitrificação parcial e processo anammox

A combinação dos processos de nitrificação parcial e anammox é um dos desenvolvimentos mais inovadores no tratamento biológico de águas residuárias (LACKNER *et al.*, 2014). Assim como o processo anammox, o processo de nitrificação é autotrófico, portanto, a NP/A é um processo de remoção de nitrogênio completamente autotrófico (MA *et al.*, 2016). Segundo Yang *et al.* (2015), nesse processo parte da N-NH₄⁺ é oxidada a N-NO₂⁻ por BOA, em seguida, bactérias anammox convertem a N-NH₄⁺ remanescente, e o N-NO₂⁻ gerado em N-N₂. De acordo com Sliekers *et al.* (2002), a equação do processo de NP/A está de acordo com a Equação 3.11.



O consumo de energia na NP/A pode ser reduzido, pois a demanda de oxigênio é reduzida em 60% em comparação ao processo clássico (MA *et al.*, 2016). Lackner *et al.* (2014), ao analisarem sistemas de NP/A existentes concluíram que a demanda energética desses sistemas está na faixa de 0,8 a 2 kwh/kgN. Segundo os mesmos autores, sistemas tradicionais para remoção de nitrogênio têm demanda energética em torno de 4 kwh/kgN.

Para facilitar a remoção autotrófica de nitrogênio de efluentes previamente tratados através da NP/A, faz-se necessário um processo com configuração e tipo de biomassa que possibilitem a inibição do crescimento de BON e a retenção e enriquecimento de BOA e bactérias anammox (LACKNER *et al.*, 2014; LOTTI *et al.*, 2014b; LAURENI *et al.*, 2016 DONG *et al.*, 2017). Portanto, no processo de NP/A, a estratégia operacional é focada não somente nas bactérias anammox, mas também em promover a nitrificação (nitrificação parcial) em vez da nitratação (nitrificação total) (TOMASEWSKI *et al.*, 2017a).

O processo de nitrificação total é altamente prejudicial a sistemas de NP/A, uma vez que consome o NO_2^- requerido por bactérias anammox para a produção de NO_3^- (GILBERT *et al.*, 2015). A inibição e a retirada de BON do sistema requer a combinação de diversos métodos, como alternância de condições aeradas/não aeradas, inibição por ácido nitroso livre (N-HNO_2) e controle do tempo de aeração (MA *et al.*, 2016). O acúmulo de N-NO_3^- não é crucial em termos de inibição da NP/A, mas é um indício de que a comunidade microbiana está desequilibrada, com acúmulo de BON (LACKNER *et al.*, 2014). Portanto, o monitoramento das concentrações efluentes de N-NO_3^- em sistemas de NP/A permite melhor controle sobre as condições de estabilidade e eficiência.

Várias configurações têm sido desenvolvidas para alcançar a remoção autótrofa de nitrogênio via processo anammox, as quais podem ser divididas em duas categorias: sistemas de estágio único e sistema de dois estágios (ZHENG *et al.*, 2016a). Van de Star *et al.* (2007) operaram o primeiro sistema anammox para remoção de nitrogênio de efluentes, em sistema de dois estágios localizado em Rotterdam (Holanda), observando capacidade máxima de carga nitrogenada removida foi de 10 kg/m³.d.

Para o melhor controle da nitrificação, inicialmente o processo de NP/A era aplicado em dois estágios, no entanto, o foco da aplicação atualmente está em sistemas de estágio único, por terem menor simplicidade operacional e serem mais econômicos (LACKNER *et al.*, 2014; ALI

& OKABE, 2015). O desempenho do processo de NP/A em estágio único depende da atividade microbiana de BOA e bactérias anammox, no entanto, estes microrganismos têm diferentes preferências de substrato, o que pode causar inibição ou desequilíbrio no sistema (PRÁ *et al.*, 2015). No entanto, segundo os mesmos autores, a NP/A em estágio único pode ser muito econômica em comparação a sistemas de dois estágios, uma vez que requer menor controle operacional.

Atualmente, os sistemas de NP/A de estágio único e em escala real são restritos ao tratamento de efluentes com altas concentrações de $N-NH_4^+$ (WU, 2017). De acordo com Lackner *et al.* (2014), mais de 50% nas instalações de NP/A em escala real utilizam RBS, 88% são sistemas de estágio único e 75% tratam efluente proveniente da digestão de lodo de ETE. Segundo os autores, as estações implementam estratégias particulares para a NP/A, adotando diferentes medidas, como alimentação contínua ou intermitente, biomassa aderida ou em suspensão, controle de aeração, estágio único ou dois estágios, entre outros.

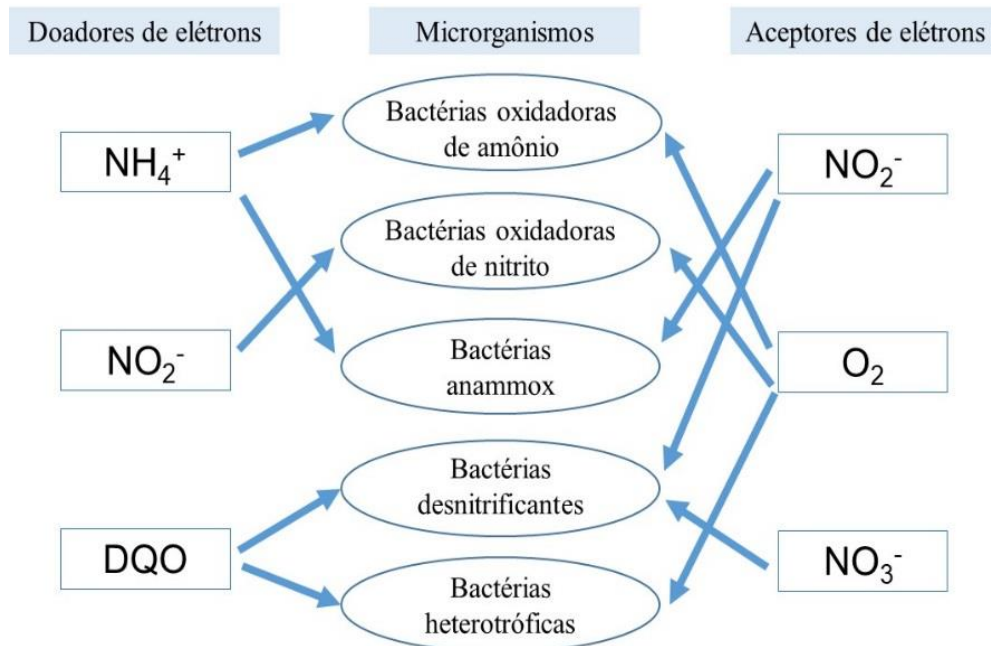
De acordo com Wu *et al.* (2016), os sistemas de NP/A são uma resposta promissora ao desafio global com nutrientes em corpos hídricos, no entanto, como esses sistemas respondem a perturbações externas, como variações de temperatura e mudanças na composição do efluente, representam lacunas para o seu entendimento. De acordo com Laurenzi *et al.* (2016), a variabilidade de carga de nitrogênio, a falta de estabilidade do processo a longo prazo e as baixas temperaturas são alguns dos principais desafios para a aplicação de NP/A no pós-tratamento de efluentes.

O processo de NP/A tem sido utilizado principalmente para tratar efluentes com baixas concentrações de substâncias orgânicas biodegradáveis e com relação C/N menor que 0,5 (MIAO *et al.*, 2015). De acordo com Ali & Okabe (2015), a faixa usual da relação de demanda química de oxigênio (DQO)/nitrogênio (N) é de 0,2 - 3,8 em sistemas de NP/A. Tomar & Gupta (2017) observaram que em um sistema com biomassa mista, suspensa e em biofilme, a relação de DQO/N de 0,6 foi ideal para a eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio de 95,4 e 97,4%, respectivamente. Já sob altas relações DQO/N, bactérias anaeróbias foram dominantes e competitivas com bactérias anammox.

No entanto, o processo de NP/A pode ser combinado com um terceiro processo, a desnitrificação heterotrófica. A desnitrificação heterotrófica pode ser incorporada a um sistema

de NP/A, que passa a contar com nitrificação parcial, anammox e desnitrificação heterotrófica simultaneamente (SNAD, do inglês *simultaneous nitrification, anammox and denitrification*). A **Figura 3.3** mostra as interações entre os doadores de elétrons e os microrganismos assimiladores em sistemas de SNAD .

Figura 3.3 - Processos interativos na NP/A na presença de matéria orgânica



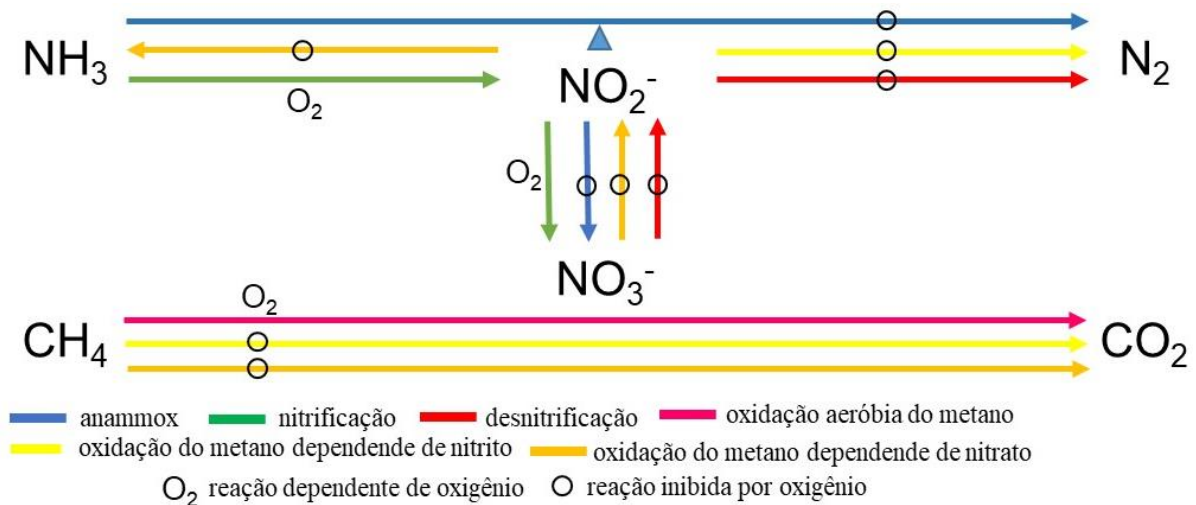
Fonte: Yang *et al.* (2015)

Segundo Lan *et al.* (2011), o processo SNAD é uma alternativa para a tratabilidade de efluentes contendo nitrogênio e matéria orgânica, quando esta última não é totalmente aproveitada na recuperação energética. Segundo os autores, a reação anammox tem uma pequena produção de N-NO_3^- (cerca de 10% de N-NH_4^+ consumida é convertida a N-NO_3^-). E de acordo com Ali & Okabe (2015), a matéria orgânica pode ser utilizada por bactérias heterotróficas na desnitrificação heterotrófica no N-NO_3^- produzido na reação anammox, obtendo boa qualidade do efluente final. Wen *et al.* (2017) estudaram o processo simultâneo de SNAD em um RBS com biofilme (RBSB). Os autores constaram que o processo foi capaz de remover DQO e nitrogênio simultaneamente.

Há um segundo processo de interação de produtos na NP/A com a matéria orgânica. Segundo Kessel *et al.* (2018), em sistemas de tratamento de efluentes, o carbono geralmente é removido por organismos aeróbios, no entanto, no efluente final, ainda há altas concentrações de

nitrogênio e uma pequena parcela de carbono remanescente. Uma vez que a desnitrificação heterorófica é intensivamente energética, a eliminação destes compostos pode ser realizada através do processo de oxidação do metano e amônio dependente de nitrito/nitrato (N-damo, do inglês, *nitrite-dependent anaerobic methane oxidation process*). Neste processo, o metano é oxidado anaerobiamente através do $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. De acordo com Kessel *et al.* (2018), o processo N-damo pode ser combinado ao processo anammox, de acordo com a Figura 3.4.

Figura 3.4 - Representação esquemática das vias metabólicas em um sistema conjunto N-damo e anammox



Fonte: Adaptado de Kessel *et al.* (2018).

3.4 Fatores intervenientes no processo de NP/A

Diversos são os fatores que exercem influência no processo de NP/A, incluindo configurações de reatores, tipo de biomassa, além de compostos formados no sistema e outros que compõem o efluente a ser tratado. Muitas pesquisas sobre sistemas anammox têm sido desenvolvidas utilizando efluente sintético simulando efluentes reais. No entanto, é possível que efluentes sintéticos forneçam informações distorcidas quanto às condições do sistema para aplicação real de NP/A, uma vez que há uma complexidade dos muitos compostos que constituem os diferentes tipos de efluentes a serem tratados via NP/A.

Lauren *et al.* (2015) aplicaram efluente sintético em um reator anammox simulando o efluente real proveniente de sistemas de lodos ativados. Os autores observaram que, ao aplicar efluente real no sistema, houve diminuição do crescimento de bactérias anammox de duas a três vezes,

em comparação à aplicação de efluente sintético. Assim, faz-se necessária não só a aplicação de NP/A em efluentes reais, mas também o entendimento das interações entre os grupos microbianos e os compostos e configurações desses sistemas.

Para Lotti *et al.* (2012), os efeitos dos compostos intervenientes no processo anammox podem ser de (i) inibição, que é um fenômeno reversível e depende do tempo de exposição e da concentração da substância inibidora, e (ii) toxicidade, processo irreversível de perda de atividade e depende do tempo de exposição e da concentração da substância tóxica. Uma variedade de substâncias como os próprios substratos, matéria orgânica (tóxica e não tóxica), sais, metais pesados, fosfato, sulfeto (H_2S), etc., são comumente encontrados em efluentes reais (JIN *et al.*, 2012).

O sucesso de sistemas de NP/A depende da perfeita sinergia entre BOA e bactérias anammox, o que pode notadamente ser impactado pela diminuição da temperatura e pela presença de inibidores (WU *et al.*, 2016). A entrada de sólidos, controle da aeração e o acúmulo de $N-NO_3^-$ são tidos como as principais dificuldades operacionais em sistemas anammox (LACKNER *et al.*, 2014). De acordo com os autores, picos na concentração afluente de sólidos têm sido apontado como responsável por graves problemas operacionais em sistemas de NP/A em escala real.

De acordo com Wu *et al.* (2016), o H_2S é um elemento que funciona como doador de elétrons na desnitrificação autotrófica, favorecendo bactérias anammox na competição por grupos de nitrificantes. Por outro lado, altas relações $N-NO_3^-/H_2S$ podem favorecer a redução dissimilatória de $N-NO_2^-$ a $N-NH_4^+$, além de afetar a atividade microbiana. Os autores observaram que concentrações de (H_2S) de 5 mg/L afetaram a atividade de BOA e de bactérias anammox.

Temperatura e pH são fatores cruciais para o crescimento e atividade microbiológica (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017b). Giustinianovich *et al.* (2018), afirmam que a aclimação da biomassa anammox pode ser uma medida para operar sistemas com a presença de substâncias inibidoras. Os autores observaram que um sistema anammox foi capaz de alcançar remoção de nitrogênio de 29 ± 17 gN/m³.d com a exposição da biomassa a concentração de sal de 18 gNaCl/L. Conhecer melhor os fatores que afetam o processo anammox é crucial para a efetividade e estabilidade do processo (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017b).

3.4.1 Fornecimento de oxigênio dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) tem sido um efetivo parâmetro de controle para a inibição do processo indesejado de nitrificação total (LOTTI *et al.*, 2014b). Sob altas concentrações de OD, BON podem competir com BOA por esse substrato, além da possibilidade de competição entre BON e bactérias anammox pelo N-NO_2^- disponível (WEN *et al.*, 2017). Segundo os autores, é importante que haja controle do fornecimento de OD para favorecer BOA e evitar o crescimento da comunidade de BON.

O acúmulo de N-NO_3^- indica intensidade da atividade de BON - oxidadoras do N-NO_2^- - que deixa de estar disponível para a reação anammox. De acordo com Lackner *et al.* (2014), medidas como redução da taxa de vazão de ar, ajuste da concentração de OD, frequência da aeração ou do tempo de fases aeradas/não aeradas são frequentemente empregadas para neutralizar o acúmulo de N-NO_3^- . Por outro lado, segundo Ma *et al.* (2017), o OD é um substrato para a comunidade de BOA, e a limitação ou deficiência no fornecimento de OD pode também reduzir a atividade de BOA e anammox. Segundo os autores, embora o oxigênio possa ser tóxico para células anammox, pode ser removido por BOA e BON antes de entrar em contato com bactérias anammox.

De acordo com Yang *et al.* (2015), se o N-NO_2^- está presente em quantidade limitada, a reação anammox não pode atingir a sua taxa máxima. Desse modo, o fornecimento inadequado de OD pode promover a nitrificação total, bem como limitar a reação anammox pela ausência do acceptor de elétrons desta reação, o N-NO_2^- . Dessa forma, o monitoramento preciso de OD no sistema pode auxiliar nas tomadas de decisões quanto às estratégias operacionais, que devem ser implementadas para garantir a sinergia entre a comunidade microbiana atuante.

O adequado fornecimento de OD é um fator decisivo na eficiência do processo de NP/A, garantindo a inibição da atividade de BON. Uma vez que a constante de saturação de oxigênio de BOA é menor do que a de BON, BOA têm maior afinidade por oxigênio (MA *et al.*, 2016; WEN *et al.*, 2017). Dessa forma, segundo Dong *et al.* (2017) BON podem ser eliminadas de sistemas anammox sob baixas concentrações de OD. Os autores observaram através da aplicação de testes de taxas específicas de absorção de OD que a aplicação de pequenas concentrações de OD aumenta a atividade de BOA e limitam a atividade de BON.

Wen *et al.* (2017) utilizaram um sistema inteligente de fornecimento de OD, que considerava diversas variáveis, como temperatura, nitrogênio e DQO afluentes, para um ajuste em tempo real de fornecimento e da concentração de OD no sistema. Esse sistema foi eficiente para controlar a comunidade BON (< 2%). Lackner *et al.* (2014), observaram em RBS com processo de NP/A que a aeração era realizada quando a concentração de N-NH₄⁺ atingia um valor máximo, e era interrompida quando o PH e a concentração de N-NH₄⁺ atingiam um valor mínimo. Neste sistema, a concentração de OD foi mantida sempre abaixo de 0,5 mg/L. No entanto, falhas operacionais neste tipo de sistema, como erro na medição das variáveis monitoradas, pode gerar instabilidade no sistema, devido ao fornecimento inadequado de OD.

Para Lackner *et al.* (2014), a NP depende da eficiência de transferência de oxigênio e do tipo de bolhas de ar geradas na aeração. Assim, em sistemas com biofilme, como os reatores MBBR, a transferência de OD pode ser dificultada pela própria formação do biofilme, requerendo a aplicação de maiores taxas de ar. De acordo com Gilbert *et al.* (2015), sistemas com biofilme usualmente têm maior demanda de fornecimento de OD para compensar a limitação na transferência de massa. Uma vez que uma das principais vantagens do processo anammox é a economia através da redução da demanda de aeração, sistemas anammox com limitações na transferência de oxigênio e maior demanda de OD tornam-se menos sustentáveis.

Ao contrário, RBS funcionam muito bem para a transferência de OD, requerendo taxas de OD reduzidas. De acordo com Yang *et al.* (2015), em RBS, as bactérias anammox podem ser protegidas da inibição devido a presença de OD com a inserção de fases não aeradas, além de serem protegidas pela camada externa no grânulo microbiano. Em sistemas de NP/A utilizando RBS, as concentrações de oxigênio dissolvido normalmente permanecem abaixo de 1 mg/L (MA *et al.*, 2015; MIAO *et al.*, 2016 MIAO *et al.*, 2018). Enquanto que Yang *et al.* (2015) operaram MBBR sob a concentração de OD de 1,5 a 3,5 mg/L.

De acordo com Ali & Okabe (2015), usualmente sistemas de NP/A em estágio único operam sob condições de microaeração com faixa usual de OD de 0,2 - 1,5 mg/L. Lotti *et al.* (2014a), observaram que o oxigênio é um fator-chave de indução da aglomeração de bactérias anammox, com fornecimento de taxa menor que 0,7 μmolO₂/L.d. Isto pode ocorrer pois a biomassa anammox cresce preferencialmente em grânulos ou biofilmes, enquanto que a biomassa contendo BOA e BON se desenvolve preferencialmente de forma suspensa. Assim, menores

concentrações de OD podem favorecer bactérias anammox, conseqüentemente formando biomassa granular. Portanto, o oxigênio influencia de diversas maneiras nos sistemas de remoção de nitrogênio baseados na NP/A.

3.4.2 Aeração contínua x Aeração intermitente

Sistemas de NP/A podem ser operados para fornecer aeração de maneira contínua ou intermitente para a formação do aceptor de elétrons N-NO_2^- da reação através da nitrificação parcial. Teoricamente, em reatores de NP/A com aeração contínua, o N-NO_2^- produzido por BOA não é consumido por bactérias anammox imediatamente (WU *et al.*, 2016). Dessa forma, a alta disponibilidade deste composto no sistema pode favorecer a sua oxidação a N-NO_3^- , através do aumento da atividade de BON.

Dong *et al.* (2017) observaram que ao operar RBS com aeração contínua aplicando efluente sintético, a atividade de BON foi inibida com sucesso, uma vez que não houve acúmulo de N-NO_3^- (< 20 mg/L). No entanto, efluentes sintéticos podem não representar situações reais, como a presença e concentrações de compostos orgânicos, que favorecem a sobrevivência e a atividade excessiva de BOA e de bactérias heterotróficas desnitrificantes. Considerando condições de carga orgânica que podem favorecer bactérias heterotróficas ou o aumento excessivo de BOA, a aeração intermitente tem sido apontada como uma estratégia operacional vantajosa em sistemas de NP/A.

Segundo Ma *et al.* (2016), uma vez que a oxidação do N-NO_2^- sempre ocorre após a oxidação de N-NH_4^+ , se a aeração é desligada antes ou no exato momento da oxidação completa de N-NH_4^+ , a oxidação de N-NO_2^- a N-NO_3^- não seria possível devido à falta de OD. No entanto, segundo os mesmos autores, o controle da alternância de períodos aerados e não aerados ainda é um desafio para a retirada de BON de sistemas anammox.

De acordo com Ma *et al.* (2015), na aeração intermitente, uma vez que o N-NO_2^- se acumula, a aeração é desligada e o reator entra na fase anóxica, onde há consumo de N-NO_2^- por bactérias anammox, e quando a reação termina, a aeração é reiniciada. Ainda segundo os autores, sob essas condições, o crescimento de BON é provavelmente menor do que de BOA no estágio de aeração, permitindo vantagem de bactérias anammox na competição pelo N-NO_2^- . Dessa forma, a NP/A é estabelecido com sucesso.

Já Yang *et al.* (2015) observaram que a mudança de estratégia de aeração de contínua para intermitente não alterou a eficiência de remoção de nitrogênio. No entanto, de acordo com os autores, a introdução de fases não aeradas melhorou a atividade de bactérias anammox e limitou a atividade de BON. Dessa forma, a aeração intermitente pode ser aplicada sem o comprometimento do desempenho do sistema. Além disso, quanto menor a demanda por aeração mais econômico o sistema se torna.

Kornaros *et al.* (2010) submeteram culturas de BOA e BON a períodos anóxicos e observaram que nenhum impacto foi exibido no comportamento de BOA. No entanto, BON foram severamente inibidas, com redução na taxa de crescimento proporcional à duração da fase anóxica. Segundo os autores, essa verificação prova que BON podem ser inibidas em sistemas com períodos aerados/não aerados para alcançar a remoção de nitrogênio via processo NP/A.

Giustinianovich *et al.* (2018), observaram que a aeração intermitente foi mais efetiva do que a aeração contínua para a redução da atividade de BON. Altas concentrações de $N-NO_3^-$ indicam intensa atividade de BON através da nitrificação total e limitação do processo anammox pela ausência do aceptor de elétrons ($N-NO_2^-$). Miao *et al.* (2016), observaram que a produção de $N-NO_3^-$ durante os dez minutos iniciais da fase não aerada foi menor na aeração intermitente do que nas fases de aeração contínua, o que sugere a redução da atividade de BON.

Além disso, a aeração intermitente pode auxiliar também na prevenção de distúrbios à comunidade BOA e anammox causadas pelo choque de carga de substrato. De acordo com Lackner *et al.* (2014), o acúmulo de $N-NH_4^+$ e de $N-NO_2^-$ deve ser evitado, especialmente devido ao potencial inibidor destas substâncias, principalmente o $N-NO_2^-$. De acordo com Miao *et al.* (2015), a aplicação do processo anammox para o tratamento de águas residuárias com alta concentração de $N-NH_4^+$ potencializa a inibição por $N-NO_2^-$. Os autores afirmam que a alimentação intermitente pode ser uma estratégia operacional para a prevenção dessa inibição. Portanto, a aplicação da aeração intermitente pode reduzir a inibição por $N-NO_2^-$, uma vez que nesse caso a geração e consumo de $N-NO_2^-$ é realizada gradualmente, com auxílio da alternância das fases aeradas/não aeradas, pode-se evitar choques por acúmulo de cargas excessivas de $N-NO_2^-$. A aeração intermitente com longos períodos anóxicos pode promover a inibição de BON e o crescimento da comunidade anammox (MIAO *et al.*, 2018).

3.4.3 Temperatura

A temperatura para um processo anammox eficiente encontra-se na faixa de 20 a 40°C (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017b). Normalmente, células crescem mais rapidamente sob altas temperaturas, o que torna o processo anammox limitado ao tratamento de efluentes com temperaturas ligeiramente baixas (MA *et al.*, 2016). Em muitos casos, a temperatura necessária ao processo anammox é muito maior do que a temperatura média de águas residuárias (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). No entanto, a aplicação do processo anammox em países de clima tropical tem uma enorme vantagem, pois as temperaturas são comumente altas durante todo o ano.

Tomaszewski *et al.* (2017b), observaram que a faixa ideal de pH para a aplicação do processo anammox foi reduzida com a diminuição da temperatura. Isso significa que a eficiência do processo anammox sob baixas temperaturas pode ser garantida através do controle do pH. De acordo com Ma *et al.* (2016), baixas temperaturas podem também causar, além da redução da atividade de microrganismos, a perda de biomassa anammox granular, uma vez que ocasionam o aumento da viscosidade do meio, diminuindo a velocidade de sedimentação dos grânulos.

Os diferentes gêneros de bactérias anammox têm preferências distintas de temperatura. De acordo com Ali & Okabe (2015), a temperatura ótima de *Candidatus Scalindua* é de 25°C, enquanto que o crescimento máximo de *Candidatus Brocadia* e *Candidatus Jettenia* foi observado a 37°C. Wu *et al.* (2016), observaram que temperaturas abaixo de 20°C afetaram a atividade catabólica de BOA e bactérias anammox, embora segundo os autores, as bactérias anammox tenham continuado ativas nessas condições. Portanto, bactérias anammox podem resistir à diminuições de temperatura, ainda que a atividade e consequente desempenho do sistema sejam limitados.

Laurení *et al.* (2016) observaram que, sob operação de reator com NP/A sob 15°C, bactérias anammox (*Ca. Brocadia*) e BON (*Nitrospira*) foram detectadas principalmente nos suportes do biofilme, enquanto que BOA (*Nitrosomonas*) foram identificadas tanto no biofilme quanto na biomassa floculenta. A existência de *Nitrospira* em biofilmes pode ser prejudicial ao sistema, uma vez que ficam menos suscetíveis aos impactos da diminuição da temperatura, competindo com bactérias anammox pelo N-NO₂⁻.

Martins *et al.* (2017), observaram aumento gradual da atividade anammox (de 1,20 para 6,6 mg N-NH₄⁺/g SSV.h) à medida que a temperatura do sistema aumentou de 20 para 37°C. No entanto, os autores não testaram a diminuição da temperatura ótima para temperaturas menores. Laurení *et al.* (2015) observaram que em RBS a 29°C com atividade anammox de 205 a 465 gN/m³.d, quando a temperatura diminuiu para 12,5°C, houve uma diminuição na carga de nitrogênio removida de 400 para 40 gN/m³.d. Gilbert *et al.* (2015) observaram perda de 50% na eficiência de remoção de N-NH₄⁺ com redução da temperatura de 20 para 10°C. Segundo os autores, reatores do tipo MBBR são mais adequados do que RBS sob temperaturas abaixo de 20°C. No estudo de Tomaszewski *et al.* (2017b), a maior atividade anammox foi obtida sob temperatura de 40°C (0,857 gN/gSSV.d) e a menor foi obtida sob temperatura de 10°C (0,032 gN/gSSV.d).

Laurení *et al.* (2016), operaram reatores MBBR com NP/A em temperaturas de 29 e 15°C sob condições microaeradas. Em ambos os reatores, a diminuição da temperatura para 15°C resultou num maior tempo de detenção hidráulica (TDH) (de 14 a 9 h), como resultado da redução da atividade de bactérias anammox. Com a redução da atividade microbiana, faz-se necessário que o tempo de contato dos microrganismos com o substrato seja maior para garantir a síntese dos mesmos.

No entanto, esses estudos citados foram realizados com mudanças bruscas na faixa da temperatura. Para Lackner *et al.* (2014), normalmente variações na temperatura têm efeito pequeno no desempenho do processo anammox, sendo afetado somente em variações bruscas num curto espaço de tempo (8°C num intervalo de sete dias). Fernandes *et al.* (2018) verificaram que a diminuição de temperatura de 35 para 25°C não afetou a eficiência de remoção de N-NH₄⁺ em um sistema anammox. Somente quando a temperatura diminuiu para 20°C o desempenho foi ligeiramente afetado.

No estudo dirigido por Wu *et al.* (2016) os autores observaram que, sob temperatura de operação de 35°C em sistema NP/A, as atividades de BOA e anammox foram de 0,405±0,02 e 0,387±0,07 gN/gSSV.d, respectivamente. Já na temperatura de 21°C, as atividades de BOA e anammox foram de 0,271±0,011 e 0,223±0,08 gN/gSSV.d, respectivamente. De acordo com os autores, a diminuição da temperatura resultou em perda de atividade de BOA e anammox de 33

e 42%, respectivamente. Portanto, a atividade anammox pode ser mais impactada com a diminuição da temperatura do que a atividade de BOA.

3.4.4 pH

O pH é uma importante variável nos processos microbiológicos de tratamento de águas residuárias. Faixas de pH fortemente ácida ou básica podem causar inibição completa do processo anammox por promover hidrólise da membrana celular e cessar processos metabólicos vitais para as bactérias (SCHEEREN *et al.*, 2011). Além disso, segundo Lackner *et al.* (2014), pH demasiadamente alcalino ($\text{pH} > 8,0$) podem reduzir a atividade anammox e ocasionar o acúmulo de N-NO_2^- , enquanto que pH ácido ($\text{pH} < 6,8$) causam limitações em BOA. No estudo de Tomaszewski *et al.* (2017b), a maior atividade anammox foi obtida na faixa de pH de 7 a 7,5, enquanto que quando o pH foi reduzido para 6, os autores constataram uma inibição completa da atividade anammox.

De acordo com Miao *et al.* (2015), o pH é um bom parâmetro de controle da reação anammox em tempo real, pois uma vez que a reação consome H^+ , é esperado que após a reação o pH esteja ligeiramente maior. Os autores observaram que em um RBS com processo anammox, o pH manteve-se na faixa de 7,64 a 7,78, beneficiando o processo anammox, e que após a alimentação do sistema, o pH era superior ao do início da reação em virtude da intensidade da reação anammox. No entanto, segundo Wang *et al.* (2017), a alcalinidade fornece carbono orgânico para BOA e BON. Portanto, tanto a nitrificação parcial quanto a nitrificação total consomem alcalinidade do meio. Por isso, intensos processos de nitrificação podem levar à redução do pH do sistema.

Portanto, a aplicação do processo anammox é favorecida em efluentes com altas concentrações de N-NH_4^+ e de alcalinidade, para evitar a instabilidade do processo devido a choques de pH. Wang *et al.* (2016), verificaram que o processo de NP/A aplicado a lixiviado de aterro sanitário é exequível considerando a alcalinidade desse efluente (média igual a 12.470 mg/L), uma vez que a etapa de nitrificação parcial consome a alcalinidade. No entanto, segundo os autores, durante a etapa de nitrificação (primeiro estágio), o pH reduziu de 8,33 para 7,15, devido a nitrificação.

3.4.5 Íon Amônio/amônia livre e nitrito/ácido nitroso livre

Um dos aspectos mais críticos na estabilidade do processo anammox é o N-NO_2^- , que é o receptor de elétrons no processo, mas também é um composto com potencial efeito inibitório (LOTTI *et al.*, 2012). O processo anammox pode ser inibido por muitos fatores, incluindo seus substratos, N-NH_4^+ e N-NO_2^- - em suas formas não ionizadas: amônia livre (N-NH_3) e N-HNO_2 - (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). Fernández *et al.* (2012), relatam que esses compostos podem causar diminuição na atividade específica da biomassa e perda da estabilidade de sistemas anammox.

A relação entre a temperatura e o pH determina as concentrações de N-NH_3 e N-HNO_2 (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). De acordo com Lotti *et al.* (2012), a inibição por N-HNO_2 está relacionada à facilidade da sua difusão na parede celular, onde se dissocia, resultando na queda do pH e perda da força motriz. A concentração de N-NH_3 aumenta sob pH mais elevado e diminui sob pH reduzido, enquanto que o contrário ocorre com o N-HNO_2 (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). De acordo com Ma *et al.* (2017), o balanço químico entre as formas iônicas e não-iônicas de nitrogênio amoniacal e nitrito estão de acordo com as Equações 3.13 e 3.14.



Segundo Lackner *et al.* (2014), concentrações de N-NH_4^+ superiores a 200 mg/L aliadas à condições desfavoráveis de pH (>7,6) e temperatura (>35°C) podem resultar na inibição do processo de NP/A devido a formação de N-NH_3 . Lotti *et al.* (2012) observaram uma inibição de 50% da atividade anammox sob concentração de N-NO_2^- de 400 mg/L. No entanto, os autores constataram que a atividade foi recuperada completamente após a remoção de N-NO_2^- do meio.

De acordo com Wang *et al.* (2016), as concentrações de inibição de BON considerando o N-NH_3 e HNO_2 são de 1 e 0,02 mg/L, respectivamente. Segundo Dong *et al.* (2017) BON são mais sensíveis a N-NH_3 e N-HNO_2 do que BOA. Os autores observaram concentrações teóricas de N-NH_3 de 33 a 39 mg/L, muito maior do que a concentração de inibição para BON, levando a redução desta comunidade. Wang *et al.* (2016) atribuíram a redução da atividade de BON e

consequente acúmulo de N-NO_2^- às altas concentrações de N-NH_3 e N-HNO_2 , de até 29,5 mg/L e 0,095 mg/L, respectivamente. Fernández *et al.* (2012) constatam que concentrações de N-NH_3 de 20, 38 e 100 mg/L causaram inibição da atividade anammox de 0, 50 e 80%, respectivamente. Com relação ao N-HNO_2 , os autores observaram que a biomassa floculenta foi menos resistente a esse composto, com redução de 30% da atividade anammox específica sob concentrações de 4,4 $\mu\text{g/L}$. Wang *et al.* (2017), observaram baixas eficiências de remoção de nitrogênio (< 70%) atreladas a concentrações de N-NH_3 de 5,3 a 21,2 mg/L. De acordo com os autores, nesta faixa, o N-NH_3 inibe a atividade de BOA.

3.4.6 Matéria orgânica

O processo anammox é particularmente adequado para o tratamento de águas residuárias com altas concentrações de nitrogênio e reduzidas concentrações de matéria orgânica (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). Carbono orgânico, inorgânico e N-NH_4^+ estão presentes de forma simultânea em efluentes reais, e altas concentrações de matéria orgânica frequentemente limitam a aplicação do processo anammox (MA *et al.*, 2016).

De acordo com Jin *et al.* (2012), a matéria orgânica pode exercer dois diferentes mecanismos de inibição às bactérias anammox. No primeiro, a disponibilidade de matéria orgânica ocasiona o crescimento de bactérias heterotróficas, que possuem maior taxa de crescimento em comparação à bactérias anammox, gerando vantagem de bactérias heterotróficas na competição com bactérias anammox. De acordo com os mesmos autores, no segundo mecanismo, a alta disponibilidade de matéria orgânica no meio gera mudanças metabólicas na célula da anammox, que utiliza esse composto como substrato. Ratificando este argumento, Güven *et al.* (2005) afirmam que organismos quimiolitotróficos, a exemplo de bactérias anammox, podem utilizar matéria orgânica como complemento de fonte de carbono.

De acordo com Liu *et al.* (2017), a presença de DQO biodegradável em reatores anammox estimula o crescimento de bactérias heterotróficas, que podem competir por oxigênio com BOA e por N-NO_2^- com bactérias anammox. No entanto, de acordo com Miao *et al.* (2018), o desempenho do processo de NP/A pode melhorar sob concentrações adequadas de DQO, uma vez que o enriquecimento de bactérias heterotróficas pode promover a desnitrificação do N-NO_3^- gerado na reação anammox, reduzindo a concentração de nitrogênio no efluente final.

3.4.7 Configuração da biomassa

A comunidade microbiana e a formação da biomassa na NP/A são muito importantes, uma vez que afetam diretamente o desempenho dos sistemas. As formas mais estáveis de biomassa, que protegem bactérias anammox de fatores inibidores são os biofilmes e grânulos (TOMASZEWSKI *et al.*, 2017a). Segundo Ma *et al.* (2016), o mecanismo mais importante para a formação de grânulos e biofilme é a auto imobilização ou aderência em superfície inerte, utilizando substâncias poliméricas extracelulares, que auxiliam também a manter a integridade da estrutura. Substâncias extracelulares poliméricas contém polissacarídeos que exercem um papel fundamental na estrutura dos grânulos anammox (ZHU *et al.*, 2018a).

De acordo com Lotti *et al.* (2012), a formação de biofilmes funciona como uma barreira protetora contra os efeitos inibidores aos microrganismos, que estão mais suscetíveis a esses efeitos em biomassas floculentas e em suspensão. Portanto, os efeitos da presença de substâncias inibidoras pode ser mitigado pela aglomeração da biomassa. Ding *et al.* (2018) alcançaram taxa de crescimento de bactérias anammox de 0,33/d em sistema de células de vida livre, ou seja, não agregadas. Apesar da alta taxa de crescimento da biomassa anammox, em sistemas com biomassa não agregada, a suscetibilidade à choques de carga bem como à substâncias inibidoras é maior.

A biomassa granular é usualmente utilizada em sistemas de NP/A de estágio único e com fluxo contínuo, devido aos diferentes microambientes requeridos por BOA e bactérias anammox (WU, 2017). No entanto, nesse tipo de biomassa, o diâmetro dos grânulos é um importante parâmetro para o processo anammox, uma vez que influencia a capacidade de sedimentação e subsequente desempenho do reator (ZHU *et al.*, 2018a). Além disso, segundo os autores, partículas muito grandes dificultam a transferência de massa, bem como em partículas muito pequenas, há certa dificuldade em aumentar a biomassa anammox.

Segundo Ali & Okabe (2015), a biomassa no interior dos grânulos pode não ser metabolicamente ativa, dessa forma, a atividade anammox em grânulos pode estar concentrada nas camadas externas. De acordo com Zhu *et al.* (2018a), o tamanho ótimo para grânulos anammox está na faixa de 0,5 - 0,9 mm, por propiciarem maior abundância de bactérias anammox, bem como atividade e taxa de crescimento específica. Além disso, os autores observaram que essa faixa de tamanho dos grânulos reduziu as emissões de N-N₂O.

Chu *et al.* (2015) observaram flocos flexíveis e grânulos compactos em RBS anammox. Os autores afirmam que as diferenças morfológicas foram causadas pelas diferentes comunidades no sistema: os flocos continham principalmente bactérias filamentosas, enquanto os grânulos eram dominados por bactérias anammox. Da mesma forma, Ma *et al.* (2015) observaram que em RBS com NP/A contendo biomassa granular e floculenta, bactérias anammox era dominantes na biomassa granular, enquanto que BOA eram dominantes na biomassa floculenta. Zheng *et al.* (2016a) verificaram que após um período operacional de 180 dias em MBBR com processo anammox, o gênero dominante no biofilme era *Ca. Brocadia* (65%), enquanto que *Ca. Kuenenia* (86%) foi dominante na biomassa suspensa no reator. Tomar & Gupta (2017) observaram que o estabelecimento gradual da atividade anammox resultou na transformação da biomassa floculenta em biomassa granular anammox num reator hídrico (com biomassa suspensa e aderida em biofilme).

A presença de comunidade periférica não definida e a ocorrência de células inativas ou dormentes sob altos TRS são fatores que dificultam a avaliação da cinética de reações microbianas (LOTTI *et al.*, 2014a). Segundo Lackner *et al.* (2014), a remoção da biomassa floculenta em RBS, seja por centrifugação ou tempos reduzidos de sedimentação é uma medida que auxilia no controle da formação de N-NO_3^- , uma vez que neste tipo de biomassa há predominância de BOA e BON.

A inoculação de biomassa anammox pode limitar a aplicação do processo em sistemas de tratamento de efluentes em escala plena (Ye *et al.*, 2017). A imobilização celular é uma técnica promissora para o enriquecimento de microrganismos de crescimento lento, como as bactérias anammox (CHO *et al.*, 2017). Zheng *et al.* (2016a) observaram carga de nitrogênio removida de 0,44 kgN/m³.d em MBBR anammox inoculado com lodo nitrificante. Neste sistema, a concentração de bactérias anammox aumentou de 0 pra 8,25 x 10⁵ cópias/gDNA, com abundância de 87,8% de bactérias anammox em relação ao total de bactérias.

Ye *et al.* (2017) utilizaram inóculo misto (aeróbio, anaeróbio, anammox e de sistema SNAD) para partida em reator anammox, obtendo taxa de remoção de nitrogênio de 0,214 gN/gSSV.d no 15º dia de operação. Portanto, a inexistência de inóculo anammox não é mais um fator que impossibilita a implementação de novos sistemas, uma vez que a literatura mostra a possibilidade do uso de diferentes inóculos para o enriquecimento de bactérias anammox.

3.4.8 Tempo de retenção de sólidos

Alcançar uma boa retenção de biomassa anammox é fundamental para melhorar o desempenho do processo anammox (MA *et al.*, 2016). De acordo com os autores, a boa retenção de bactérias anammox só é alcançada quando o TRS do sistema é superior ao tempo de duplicação de bactérias anammox. De acordo com Ma *et al.* (2015), a retenção de BOA não é um obstáculo, uma vez que o tempo de duplicação destas bactérias é de 7 a 8h, enquanto que o de bactérias anammox usualmente está na faixa de 5,5 a 7,5 dias.

De acordo com Lotti *et al.* (2015), a seleção da biomassa é um fator decisivo para cultivar bactérias anammox com adaptações metabólicas e com tempo de crescimento reduzido. Os autores observaram que a diminuição do TRS (3 a 12 dias) propiciou uma redução drástica na taxa de crescimento de bactérias anammox de 0,33 d, com dominância do gênero *Ca. Brocadia*. No entanto, a redução do TRS também pode propiciar a retirada de biomassa anammox do sistema. Lackner *et al.* (2015) atribuíram a diminuição da remoção de nitrogênio (de 600 para 100 gN/m³.d) à perda da biomassa (redução de mais de 50% de sólidos suspensos totais - SST), que era retirada do reator juntamente com o efluente devido ao tempo reduzido de sedimentação. Segundo Ma *et al.* (2016), a flotação de grânulos anammox potencializa a retirada destes microrganismos do sistema.

Wu *et al.* (2016) estudaram um sistema de NP/A onde foi empregado tempo de sedimentação de 10 min a fim de que os grânulos anammox sedimentassem e parte da biomassa flocculenta contendo BON pudesse ser retirada. Ye *et al.* (2017) observaram que a gradual redução do tempo de sedimentação em um RBS alimentado com efluente sintético aumentou a taxa de remoção de nitrogênio para 230 gN/m³.d. A bactéria anammox predominante neste estudo foi *Ca. Brocadia*.

Lotti *et al.* (2014b), estimaram o TRS realizando balanço de massa da fase sólida no sistema: considerando a biomassa do sistema e a biomassa efluente, que consiste em biomassa eliminada. Os autores observaram que o TRS determinado subestimou a idade do lodo na parte interna dos grânulos, chegando um TRS médio de 150 dias (9 minutos de sedimentação). Esse TRS favoreceu o crescimento de bactérias heterotróficas, que foram ainda favorecidas com a decomposição da biomassa – com liberação de matéria orgânica – devido ao TRS elevado.

4 METODOLOGIA

4.1 Descrição do sistema para estabelecimento do processo de NP/A

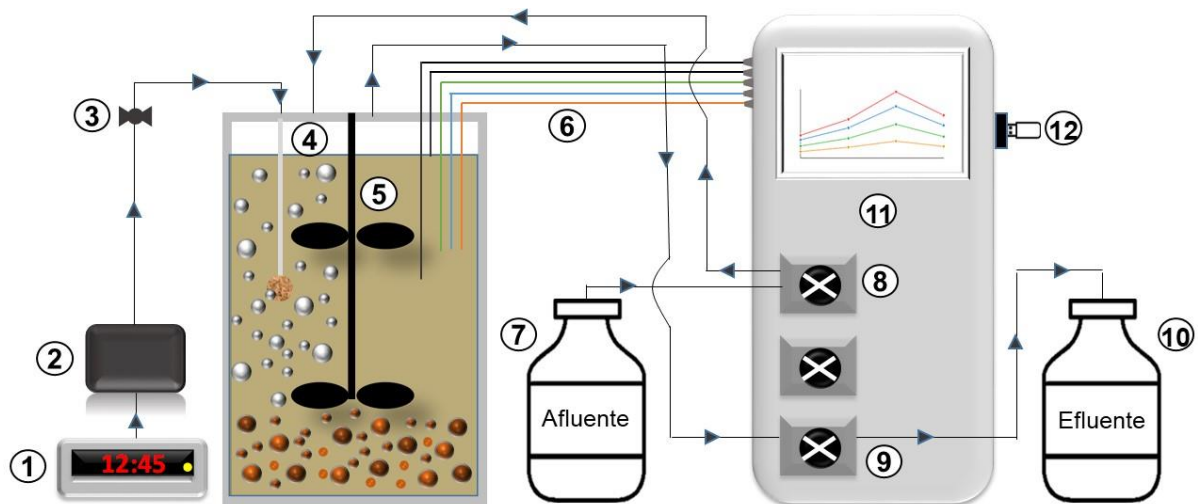
O reator de mistura completa, modelo *New Brunswick*TM Bioflo®/CelliGen® 115, utilizado neste trabalho foi programado para operar em bateladas sequenciais. Esse reator possui volume de trabalho de 10 L e dispõe de sondas para medição de temperatura (°C), pH e oxigênio dissolvido (% e mg/L). A calibração destas sondas foi realizada usualmente, ao menos no início de cada fase, para garantir a correta medição das variáveis de estudo. A partir do 100º dia de operação foi instalado *software* que permitiu o armazenamento dos dados gerados.

A mistura do RBS foi mantida a 75 rpm durante a operação e o controle de temperatura foi feito através do fluxo de água da parede externa e ativado quando necessário. Adicionalmente, o reator possui sondas de nível, para ajuste do volume afluente e efluente ao reator. A entrada e saída de líquido é feita com auxílio de bombas, que são desativadas automaticamente com auxílio dos sensores de nível. O efluente de entrada e saída do RBS é armazenado em frascos *shot* de 5 L. O RBS foi mantido protegido da luz para evitar o crescimento de algas que poderiam assimilar o nitrogênio do meio.

Para promover o processo de nitrificação parcial através da aeração intermitente, foi adicionado ao reator um sistema de aeração com compressor de ar conectado a mangueira de silicone e pedra porosa para geração de microbolhas. A pedra porosa era regularmente retirada para checagem de funcionamento, uma vez que a presença da biomassa poderia ocasionar a colmatação deste material. A vazão de ar fornecido foi controlada com auxílio de válvula reguladora e mantida de 250 a 500 mL/min. A vazão de ar foi medida e regularmente controlada com auxílio de seringa esmerilhada.

O acionamento e desligamento do compressor de ar foi realizado com auxílio de temporizador automático modelo MT-2001 (Didziel), que conta com 720 programações, permitindo curtos intervalos de programações. Foi realizada alternância dos compressores utilizados, de forma a garantir a potência regular deste equipamento, com o intuito de evitar flutuações na vazão de ar fornecida. A **Figura 4.1** apresenta a representação esquemática do RBS, com seus componentes e princípios de funcionamento.

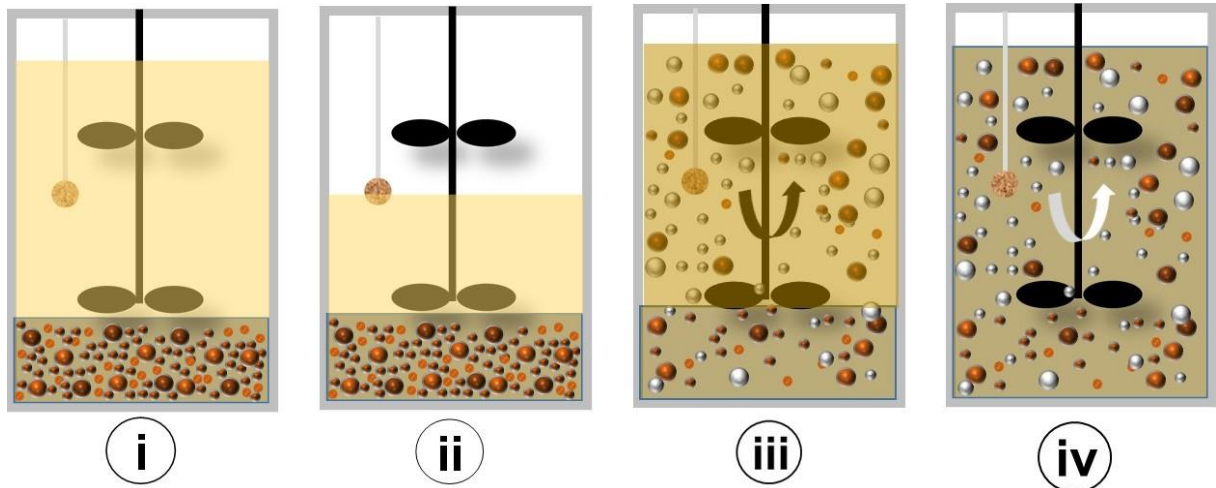
Figura 4.1 - Representação esquemática do RBS utilizado para a operação do processo de NP/A, bem como seus componentes e princípios de funcionamento: (1) Temporizador automático; (2) compressor de ar; (3) Registro regulador da vazão de ar; (4) Mangueira de ar com pedra porosa; (5) Agitador; (6) Sensores de pH, temperatura, OD, agitação e níveis máximo e mínimo; (7) Digestato afluente; (8) Bomba para entrada do afluente; (9) Bomba para saída do efluente tratado; (10) Coleta do efluente tratado; (11) Painel de controle, programação e armazenamento de dados do RBS e (12) Exportação dos dados armazenados



4.2 Operação do RBS

A operação do reator foi dividida em quatro etapas, que compõem um ciclo de 24 horas (segunda a sexta-feira) e 72 horas (sexta a segunda-feira), sendo elas: (i) sedimentação – havendo interrupção da mistura e da aeração, de forma a possibilitar a sedimentação da biomassa e sua retenção do RBS; (ii) retirada de efluente – acionamento da bomba de saída do efluente tratado, sendo retirado um volume de aproximadamente 3,2 L; (iii) alimentação – na qual a bomba de entrada do reator, a aeração e a agitação eram ativadas e um volume afluente de 3,2 L era bombeado para o reator – e por fim, (iv) reação – etapa na qual há contato da biomassa com o efluente adicionado sob agitação e aeração intermitente. O período de cada etapa do ciclo de operação foram de 1 a 2h para a sedimentação; 1h para a saída de efluente; 1h para a entrada do afluente e 20 a 68h de reação. A ocorrência de etapa reacional de 68 h foi obtida aos finais de semana, uma vez que a operação do reator era realizada de segunda a sexta-feira. A Figura 4.2 mostra a representação esquemática dos ciclos operacionais do RBS.

Figura 4.2 - Representação esquemática do ciclo de operação do RBS, com etapas de (i) sedimentação, com desligamento da agitação para propiciar que a biomassa possa sedimentar; (ii) saída do efluente, onde a agitação permanece desligada e a bomba de saída é acionada, retirando parte do efluente; (iii) entrada do digestato diluído e acionamento da agitação no reator e (iv) reação, período que o sistema permanece em funcionamento até a interrupção para início de um novo ciclo reacional.



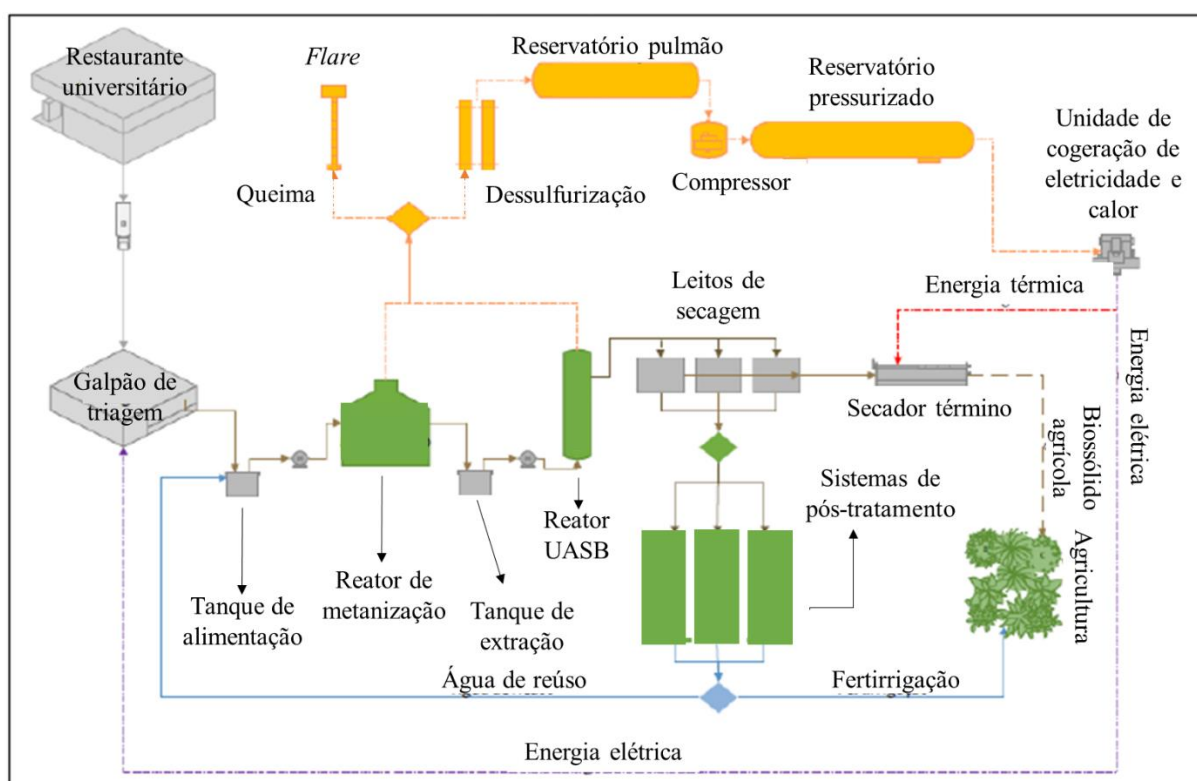
4.3 Inoculação do RBS e características da biomassa utilizada

O RBS utilizado na presente pesquisa já continha biomassa com atividade anammox, uma vez que o sistema foi previamente operado por PEREIRA (2018) com fases de alimentação com meio de cultura, digestato de resíduo alimentar e $N-NO_2^-$ e com digestato de resíduo alimentar sob aeração intermitente com longos tempos aerados (30 a 45 min). Neste último caso, os resultados de eficiência de remoção de N estiveram abaixo de 40% devido a nitrificação total. De acordo com a Pereira (2028), foi utilizado como inóculo lodo proveniente da linha de recirculação do sistema de lodos ativados da Estação de Tratamento de Esgotos do Ribeirão Arrudas, em Belo Horizonte (MG). A inoculação foi realizada utilizando 20 L de lodos ativados, com concentração de sólidos totais voláteis (STV) de 4,6 g/L. Conforme Araújo *et al.* (2010) observaram, o lodo aeróbio proveniente de sistema convencional de lodos ativados tratando esgoto doméstico é um bom inóculo para a partida em sistemas anammox, apesar de não possuir atividade anammox previamente.

4.4 Efluente proveniente da metanização de resíduos sólidos alimentares

O efluente utilizado neste estudo foi proveniente de um sistema integrado de tratamento anaeróbio (metanização) de resíduos alimentares do restaurante universitário da UFMG, campus Pampulha. Nesta plataforma, denominada de pMethar, o processo de tratamento é iniciado com triagem a trituração dos resíduos orgânicos e adição de água, que seguem para o digestor através de bombeamento. Em seguida, o efluente é encaminhado para um reator UASB, seguindo de leitos de secagem, que funcionam como filtros, a fim de reduzir a carga de sólidos do digestato para aplicação nos diferentes processos de pós-tratamentos estudados na unidade, incluindo o RBS anammox utilizado no presente estudo. A **Figura 4.3** mostra a representação esquemática do fluxograma da pMethar, com alguns itens pendentes de implementação.

Figura 4.3 - Representação esquemática da plataforma de metanização de resíduos sólidos pMethar



Fonte: Adaptado de Ferreira (2015).

O digestor anaeróbio foi operado sob temperatura ambiente e TDH de 30 dias. O reator UASB foi operado sem descarte de lodo. A manutenção dos leitos de secagem foi realizada sempre

antes do descarte de efluente do reator UASB, de forma a garantir a restauração dos leitos após colmatação. Assim, após um período de secagem de 15 dias, o lodo era retirado com auxílio de pás, juntamente com a primeira camada de areia do leito, ambos eram descartados, e era adicionada nova camada de areia. As características do digestor anaeróbio, reator UASB e leito de secagem estão contidas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Dimensões e especificações de materiais componentes das unidades da plataforma pMethar utilizadas neste estudo.

Características	Digestor anaeróbio	UASB	Leito de secagem
Volume útil (m ³)	18,80	2,02	0,24
Altura (m)	2,65	5,17	0,55
Diâmetro (m)	3,00	0,72	1,10
Material	Poliéster reforçado com fibra de vidro (PFFV)		Tijolo maciço, areia, brita n° 1, 2, 3 e 4

O efluente dos leitos de secagem foi coletado em amostragem simples, e diluído quatro vezes com o intuito de diminuir a concentração do digestato, para que a atividade microbiana no RBS não fosse afetada. Usualmente foi feita a estocagem do digestato coletado, para evitar o comprometimento da alimentação do RBS em situações de interrupção temporária da operação da pMethar por problemas técnicos. Pereira *et al.* (2019) realizaram a caracterização do efluente do leito de secagem sem diluição, incluindo concentrações médias de N-NH₄⁺; N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, DQO, DBO, ST, STV, carbono orgânico total (COT), pH iguais a 737,0, 19,7, 60,3, 671,0, 187,0, 2300,0, 1400,0, 52,2, 7,8 mg/L, respectivamente, e temperatura média de 24°C.

4.5 Estratégias de aeração intermitente e de diferentes temperaturas

As estratégias de aeração foram incorporadas com o objetivo de favorecer a atividade equilibrada de BOA e bactérias anammox e promover a inibir a ação de BON e bactérias heterotróficas. Esses testes foram implementados com diferentes tempos aeróbios/anóxicos e com diferentes taxas de oxigênio aplicadas. Foram estabelecidas quatro diferentes estratégias operacionais, que foram sendo definidas de acordo com o desempenho da anterior. A primeira estratégia de aeração (7 min *on*/14 min *off*, taxa de ar de 0,025 L/min.L) foi estabelecida

observando as estratégias de aeração intermitente para NP/A de Pereira (2018) – taxa de ar de 0,026 L/min.L em RBS alimentado com digestato de resíduos alimentares - e Miao *et al.* (2015) – tempo aerado/não aerado de 7min/14min. A partir da primeira fase, as demais foram sendo ajustadas com diferentes tempos sem aeração e diferentes vazões de ar para estudar o comportamento do sistema sob diferentes condições operacionais.

A melhor estratégia de aeração intermitente foi definida considerando o melhor desempenho do RBS em termos de eficiência de remoção de nitrogênio, carga de nitrogênio removida e relações NO_3^- efluente (produzido)/ NH_4^+ consumido mais próximas a 0,11, que é reportado como valor padrão na NP/A por Sliemers *et al.* (2002). As diferentes estratégias de aeração foram operadas a 35°C, temperatura dentro da faixa ótima de atividade de bactérias anammox. Uma vez definida a condição mais favorável para NP/A, esta condição foi aplicada sob temperatura ambiente. A operação sob diferentes temperaturas teve por objetivo estabelecer a melhor condição de aeração intermitente sob temperatura ótima (35°C), para posterior aplicação desta condição ótima a temperatura ambiente, a fim de otimizar o processo de NP/A. As estratégias de operação implementadas no RBS foram realizadas de abril a dezembro de 2018, e são detalhadas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Descrição dos testes de aeração intermitente e de diferentes temperaturas.

Fases	Período	Fase aeróbia (min)	Fase anóxica (min)	Temperatura (°C)	Taxa de ar ($\text{L}_{\text{ar}}/\text{min.L}_{\text{reator}}$)
1	13/4 – 28/5 (46d)	7	21	35°C	0,025
2	29/5 – 12/7 (45d)	7	14	35°C	0,025
3	13/7 – 27/8 (43d)	7	14	35°C	0,050
4	28/8 – 8/10 (48)	7	7	35°C	0,050
5	9/10 -5/11 (58d)	7	14	Ambiente	0,050

* De 26 a 29°C, com mediana de 28°C.

4.6 Plano de monitoramento do sistema

4.6.1 Variáveis de estudo microbiológicas

Para as análises microbiológicas, foi coletada biomassa ao final de cada fase de operação. Na fase 4, além da coleta ao final desta fase, foi realizada uma coleta intermediária (na metade da fase), uma vez que foram observados distúrbios e instabilidade operacional que podem ter afetado os grupos microbianos do sistema.

A amostragem de biomassa no RBS foi feita sob agitação do sistema de 100 a 150 rpm para homogeneizar a biomassa, com acoplamento de recipiente para coleta no RBS e extração do material. Devido ao crescimento de biofilme aderido às paredes no RBS, não foi possível obter uma amostra totalmente homogênea do sistema. Strous *et al.* (1998) observaram o crescimento de biofilme microbiano na parede do RBS, modificando a distribuição da biomassa no reator e tornando uma amostra homogênea impossível.

A biomassa extraída do reator foi imediatamente centrifugada com agitação de 4.000 a 12.000 rpm. O sobrenadante foi descartado, foi adicionada solução de tampão fosfato-salino (PBS 1x), as amostras foram agitadas para garantir contato com a solução. Essa operação foi repetida de duas a três vezes. O intuito da lavagem com o PBS 1x é preservar o DNA contido da amostra, para que só fosse liberado na etapa de extração do mesmo. Após centrifugação e lavagem com PBS 1x, as amostras foram pesadas e armazenadas a -20°C, de acordo com Garcia & Araújo (2010), essa técnica é eficiente para a preservação do DNA por longos períodos. A extração do DNA das amostras foi realizada com o kit *Fast DNA Spin for Soil (MP Biomedicals, US)*, de forma a possibilitar a lise celular das células, liberação de DNA e lavagem de proteínas e demais materiais celulares diferentes do DNA. Após a extração, o DNA foi quantificado por meio do espectrofotômetro *Nanodrop 1000 (Thermo Scientific)*.

Foi realizada a técnica da PCR em tempo real (qPCR, *quantitative real-time polymerase chain reaction, do inglês*) para estimar a concentração dos principais microrganismos no ciclo do nitrogênio em sistemas NP/A. Os iniciadores (*primers*) utilizados estão descritos na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Especificações dos iniciadores (*primers*) utilizados na qPCR.

Par de iniciadores	Especificidade (Tamanho do incerto)	Sequência 5'→3'	Temperatura de anelamento (°C)	Referência
1055F 1392R	RNAr 16S do domínio Bacteria (337 pb)	ATGGCTGTCGTCAGCT ACGGGCGGTGTGTAC	53	Ferris <i>et al.</i> (1996)
Pla 46F Amx 667R	RNAr 16S de bactérias anammox (621 pb)	GGATTAGGCATGCAAGTC ACCAGAAGTTCCACTCTC	56	Van der Star <i>et al.</i> (2007)
<i>amoA-1F</i> <i>amoA-2R</i>	Enzima amônia monoxigenase (<i>amoA</i>) de BOA (491 pb)	GGGGTTTCTACTGGTGG CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	57	Rotthauwe <i>et al.</i> (1997)
Nitro-1198F Nitro-1423R	RNAr 16S de <i>Nitrobacter</i> (397 pb)	ACCCCTAGCAAATCTCAAAA AACCG CTTCACCCCAGTCGCTGACC	58	Graham <i>et al.</i> (2007)
NTSPAF NTSPAR	RNAr 16S de <i>Nitrospira</i> (151 pb)	CGCAACCCCTGCTTTCAGT CGTTATCCTGGGCAGTCCTT	60	Kindaichi <i>et al.</i> (2006)
<i>nosZ F</i> <i>nosZ1622R</i>	Enzima óxido nitroso redutase (<i>nosZ</i>) de bactérias desnitrificantes (500 pb)	CGYTGTTCMTCGACAGCCAG CGSACCTTSTTGCCSTYGCG	55	Enwall <i>et al.</i> (2005)

A concentração de alguns microrganismos do ciclo no nitrogênio foi realizada através da quantificação no número de cópias dos genes (16S rRNA ou o gene funcional) dos diferentes microrganismos por grama de lodo (n° de cópias/g de lodo). Para os grupos de bactérias anammox e o grupo de BON (*Nitrobacter* e *Nitrospira*), as suas respectivas concentrações foram estimadas através da quantificação do número de cópias do gene RNA ribossomal 16S (RNAr 16s). Para os grupos de bactérias BOA e bactérias desnitrificantes, as concentrações de n° de cópias/g de lodo foram estimadas através da quantificação dos genes funcionais da enzima amônia monoxigenase (*AmoA*) e enzima óxido nitroso redutase (*nosZ*), respectivamente. Pereira (2018) detalhou o procedimento da qPCR, o qual foi aplicado neste trabalho.

Além da qPCR, foi feita a investigação da análise da diversidade microbiana através do sequenciamento de nova geração (NSG) utilizando a plataforma *MiSeq (Illumina)*. Esta técnica fornece informações detalhadas sobre a composição e estrutura da comunidade microbiana, com abundâncias relativas (%) dos diferentes grupos em diferentes níveis taxonômicos (a nível de filo, ordem, família e gênero). O sequenciamento foi realizado pela empresa Molecular Research DNA MrDNA (Shallowater, TX, Estados Unidos). Foram amplificadas e sequenciadas a região V4 do RNAr 16S de Archaea e bactéria usando os primers 515F (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) e o 806R (GGACTACNVGGGTWTCTAAT) (QUINCE *et al.*, 2011). A análise de bioinformática também foi realizada pela empresa usando o programa QIIME 2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology).

4.6.2 Variáveis de estudo físico-químicas

O monitoramento do sistema contou com amostragem simples do afluente e efluente. As amostras foram obtidas através da homogeneização do volume afluente e efluente (3,2L) para garantir amostragem representativas. Foram realizadas as determinações das variáveis de estudo: temperatura (°C), pH, OD (mg/L e %), alcalinidade total (mg CaCO₃/L) DQO total (DQOt) e DQO dissolvida (DQOd) (mg/L), demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅, em mg/L), série de sólidos (totais, suspensos e dissolvidos, nas frações volátil e fixa) (g/L para totais e mg/L para suspensos), série nitrogenada (nitrogênio total, orgânico, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻) (mg/L).

Estas análises foram realizadas de acordo com procedimento padrão descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012) com eventuais adaptações, e também por procedimentos padrão descritos pelos fabricantes de kits de análises quando utilizados. A Tabela 4.4 mostra as variáveis analisadas, unidade, princípio metodológico, frequência de amostragem e um resumo da importância das variáveis para o monitoramento do sistema.

Tabela 4.4 - Variáveis de estudo do sistema, unidades, metodologias e importância para o plano de monitoramento.

Variáveis	Unidade	Metodologia	Frequência de amostragem	Importância
Temperatura¹	°C	Termométrico (RBS)	Diária	Estabilidade do sistema
pH¹	-	Potenciométrico (RBS)	Diária	Estabilidade do sistema e formação de NH ₃ e HNO ₂
OD¹	% e mg/L	Oximétrico (RBS)	Diária	Controle da nitrificação
AT²	mgCaCO ₃ /L	Titulométrico	Três vezes por semana	Intensidade da nitrificação (consumo de AT)
DQO e DQOs²	mg/L	Colorimétrico	Três a cinco vezes por semana	Relacionados à intensidade da atividade heterotrófica
DBO²	mg/L	Oximétrico	Três vezes por semana	e avaliação de possível efeito inibidor
ST,STV, SST e SSV²	mg/L e g/L	Gravimétrico	Três vezes por semana	Efeito da entrada de sólidos no desempenho do sistema
N. orgânico²	mg/L	Titulométrico		Eficiência de remoção de N, amonificação
NH₄⁺²	mg/L	Colorimétrico	Cinco vezes por semana	Eficiência de remoção de N, atividade de BOA
NO₂⁻²	mg/L	Colorimétrico		Atividade de bactérias anammox, comammox e BON
NO₃^{-2 e 3}	mg/L	Cromatografia iônica	Uma a três vezes por semana	Eficiência de remoção de N e atividade de bactérias BON, anammox, comammox e desnitrificantes

¹ Realizado no RBS através de sondas; ² Realizado de acordo com APHA (2012) e ³ Realizado de acordo com as instruções do fabricante (HACH).

4.7 Tratamento dos dados

4.7.1 Dados físico-químicos

Para as variáveis DQO total, DQO solúvel, DBO, nitrogênio total, nitrogênio orgânico, N-NH₄⁺, ST e SST foi avaliada a eficiência de remoção (%), conforme a Equação 4.7, onde E é a eficiência de remoção calculada, Caf a concentração afluyente do composto e Cef, a concentração efluente. Foi avaliada também a eficiência de remoção de alcalinidade total, ou seja, o consumo de alcalinidade. O consumo de alcalinidade é um importante parâmetro ligado à nitrificação parcial, uma vez que este processo consome alcalinidade.

$$E (\%) = \frac{Caf - Cef}{Caf} \times 100 \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Nas fases 1, 2, 3, e 4, as eficiências de remoção de matéria orgânica, nitrogênio (em concentração e em carga) e de alcalinidade total, bem como a concentrações de oxigênio no sistema e as concentrações efluentes de NO₂⁻ e NO₃⁻ foram submetidas a teste de comparação de múltiplas amostras independente de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 0,05 utilizando o *software Statistica 10.0*. Entre as fases 3 e 5, foi aplicado o teste de comparação de duas amostras independentes de Mann-Whitney, com nível de significância de 0,05 com o auxílio do *software Statistica 10.0*

As cargas diárias removidas (g/m³.d) de nitrogênio total e NH₄⁺, DQOs e DBO foram calculadas de acordo com a Equação 4.8, onde C é a carga removida, Crem é a concentração de determinado composto removido (mg/L), Qd é a vazão diária de saída (L/d) e V o volume do reator (L).

$$C = C_{rem} \times Q_d / V \quad (\text{Eq. 4.2})$$

Foi avaliada a relação DQO/DBO afluyente para avaliação da biodegradabilidade do digestato. Da mesma forma, a relação carbono/nitrogênio (C/N) foi avaliada através das relações DQO total/ nitrogênio total, DQO solúvel/nitrogênio total e DBO/nitrogênio total, para a verificação das proporções destes compostos e análise dos possíveis impactos no desempenho do sistema.

A avaliação indireta do estabelecimento do processo de NP/A foi realizada de acordo com a análise das proporções estequiométricas propostas por Sliemers *et al.* (2002) (0,11 N-NO₃⁻

produzido/1 N-NH₄⁺ consumido, onde o N-NO₃⁻ produzido é a concentração efluente de N-NO₃⁻, e o N-NH₄⁺ consumido é a concentração removida de N-NH₄⁺ no sistema. Foi aplicado teste de comparação de múltiplas amostras de Kruskal-Wallis (nível de significância de 0,05%).

Os dados físico químicos foram analisados dividindo as fases de aeração intermitente com mudanças de estratégias de aeração, sob temperatura controlada de 35°C (fases 1, 2, 3 e 4), e fases sob diferentes temperaturas (3 e 5), com a mesma estratégia de aeração, sob diferentes temperaturas (fase 3 - sob temperatura controlada de 35°C - e fase 5 - sob temperatura ambiente não controlada). Essa divisão foi aplicada para melhor análise e discussão dos resultados obtidos, uma vez que estatisticamente não é possível comparar estas duas etapas. Os resultados obtidos foram dispostos em séries temporais e gráficos box-plot (quando necessário), para melhor visualização e discussão do comportamento dos compostos monitorados.

4.7.2 Dados do sequenciamento de nova geração

Para os dados do sequenciamento de nova geração foi aplicada análise de componentes principais (ACP). A ACP foi aplicada via matriz de covariância, haja vista que os parâmetros analisados não possuem diferença de escala, não necessitando, portanto, de padronização. A análise via matriz de covariância permite também uma ênfase aos parâmetros com maior variância, ponderando-os de forma diferente, isto é, de acordo com a sua ocorrência.

A ACP demandou duas etapas, sendo a primeira a preparação da matriz de covariância; a segunda consistiu na extração dos fatores comuns e a redução de variáveis explicativas e originais, com o objetivo de tornar a solução mais simples, resultando nos componentes principais da série de dados que sumarizam os dados de entrada (FRANÇA, 2009; GUEDES *et al.* 2010). Estas foram determinadas com auxílio do *software Minitab* versão 18 e a organização de planilhas e aplicação de estatística descritiva com o *software Microsoft Excel* 2013.

O critério considerado para extração das componentes principais foi o percentual de variância acumulada das componentes geradas, a fim de escolher as variáveis que expliquem a maior parte da variância da amostra. Para confirmação do número de fatores considerados, também foi aplicado o Critério de Kaiser, conforme explicam Hair et al. (2005), que mostram graficamente componentes com expressividade estatística, isto é, aquelas que possuem autovalores maiores do que 1, sendo aquelas menores do que 1 consideradas insignificantes. A

análise de *outliers* não foi realizada devido à matriz de covariância ser singular, não permitindo determinação destes.

A ACP foi aplicada para dois conjuntos de dados, sendo o primeiro conjunto a abundância relativa de filós (%), que apresentou 180 dados de entrada distribuídos entre 33 filós. O segundo conjunto de dados foi a abundância relativa (%) em termos de gênero, que apresentou 2586 dados de entrada distribuídos entre 431 gêneros. Os autovetores que foram considerados expressivos, tanto positivos quanto negativos, foram aqueles maiores ou iguais à 0,500.

5 RESULTADOS

Neste estudo, o sistema de NP/A em RBS foi operado por 237 dias com alimentação de digestato (diluído 4x) de resíduos alimentares. Os resultados foram divididos de acordo com a dinâmica dos compostos relacionados ao desempenho e estabilidade do sistema, que foram analisados em duas diferentes etapas: (i) comparação de estratégias de aeração intermitente (fases 1, 2, 3 e 4) e (ii) comparação de efeitos de diferentes temperaturas operacionais (fases 3 e 5).

5.1 *Dinâmica dos compostos nitrogenados*

A dinâmica dos compostos nitrogenados em termos de nitrogênio total, orgânico e N-NH_4^+ nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 (**Figura 5.1**) mostra que a plataforma de metanização de resíduos alimentares contendo digestor anaeróbio, reator UASB e leitos de secagem, foi capaz de fornecer digestato com concentrações ligeiramente variáveis de nitrogênio durante este estudo. No entanto, essa variabilidade era esperada, uma vez que comumente ocorre em sistemas reais, além de não ter afetado a estabilidade do sistema.

Adicionalmente, a dinâmica dos compostos nitrogenados demonstra que o digestato de resíduos alimentares utilizado não é composto apenas por altas concentrações de nitrogênio na forma de N-NH_4^+ , mas também de nitrogênio orgânico. Uma vez que o nitrogênio orgânico é convertido nas formas inorgânicas, há o processo de amonificação. Portanto, o monitoramento deste composto é extremamente importante para a análise do balanço de nitrogênio no sistema. Observou-se que as concentrações e eficiências de remoção de nitrogênio total, nitrogênio orgânico e N-NH_4^+ foram relativamente variadas entre as diferentes fases de operação do RBS (**Figura 5.1**). Eventualmente, houve incremento de nitrogênio orgânico no efluente do RBS, ocasionando eficiências de remoção de nitrogênio orgânico negativas, de até -900%.

As cargas de nitrogênio total, nitrogênio orgânico e N-NH_4^+ removidas também foram variadas ao longo das fases 1, 2, 3, 4 e 5, bem como as relações NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido. As relações NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido aumentaram gradualmente ao longo da operação do RBS. As cargas removidas de nitrogênio total e N-NH_4^+ foram muito próximas, indicando o reduzido acúmulo de nitrogênio nas formas de N-NO_2^- e NO_3^- . Não obstante, cargas de N-NH_4^+ removidas foram frequentemente superiores às cargas de nitrogênio total removidas, uma vez

que a presença de nitrogênio orgânico e N-NO_3^- no efluente contribuem para o incremento de carga de nitrogênio total não removida (**Figura 5.2**).

Figura 5.1 - Dinâmica das concentrações e eficiência de remoção de nitrogênio total (A), orgânico (B) e N-NH_4^+ (C) nas fases de 1 a 5

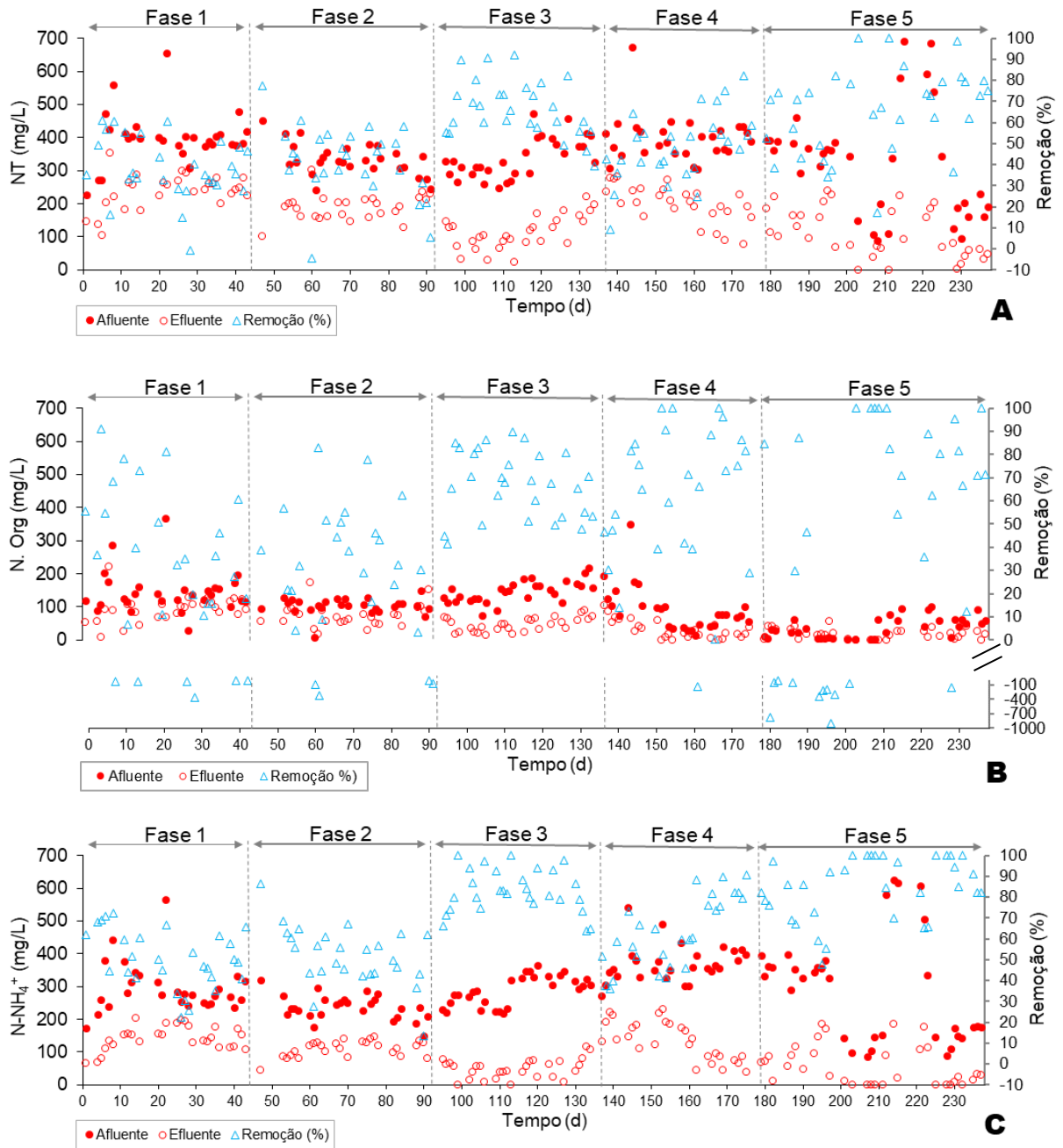
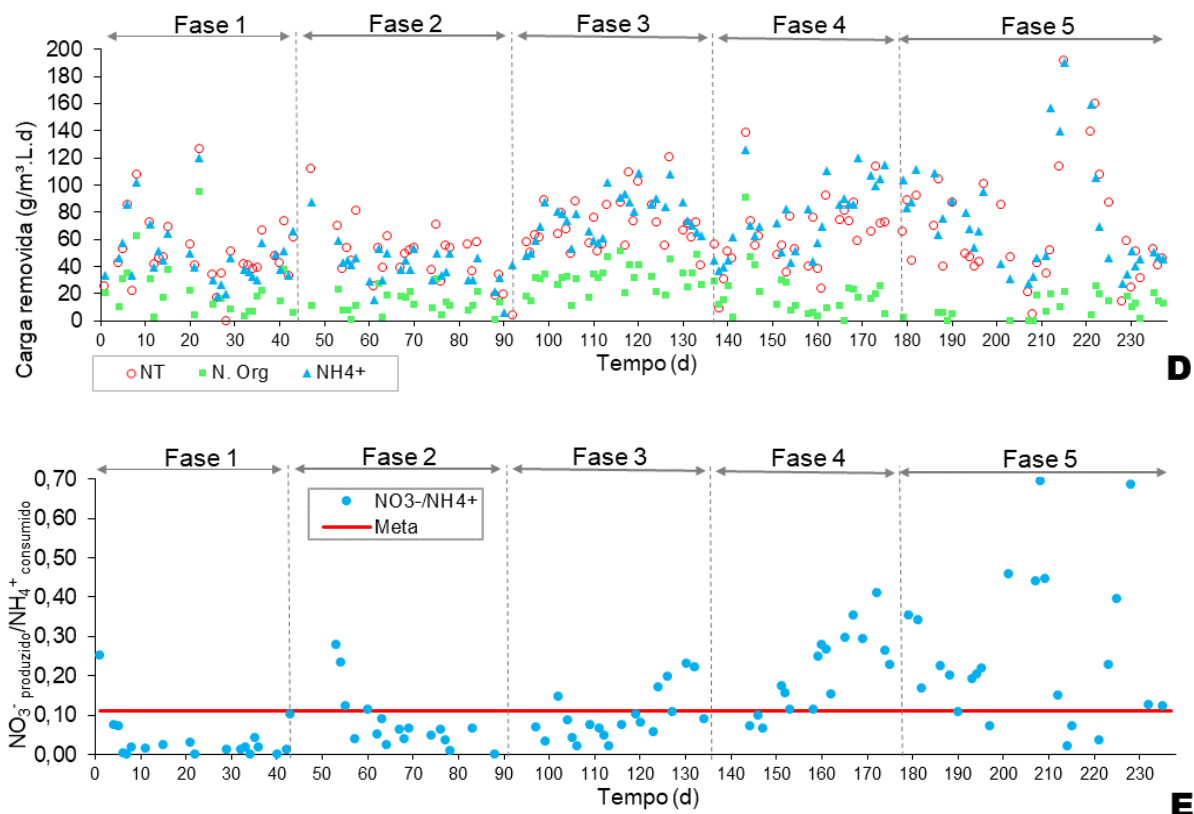


Figura 5.2 - Dinâmica da remoção das cargas de nitrogênio total, orgânico e $N-NH_4^+$ (D) e das relações estequiométricas de NO_3^- produzido: NH_4^+ consumido nas fases de 1 a 5 (E).



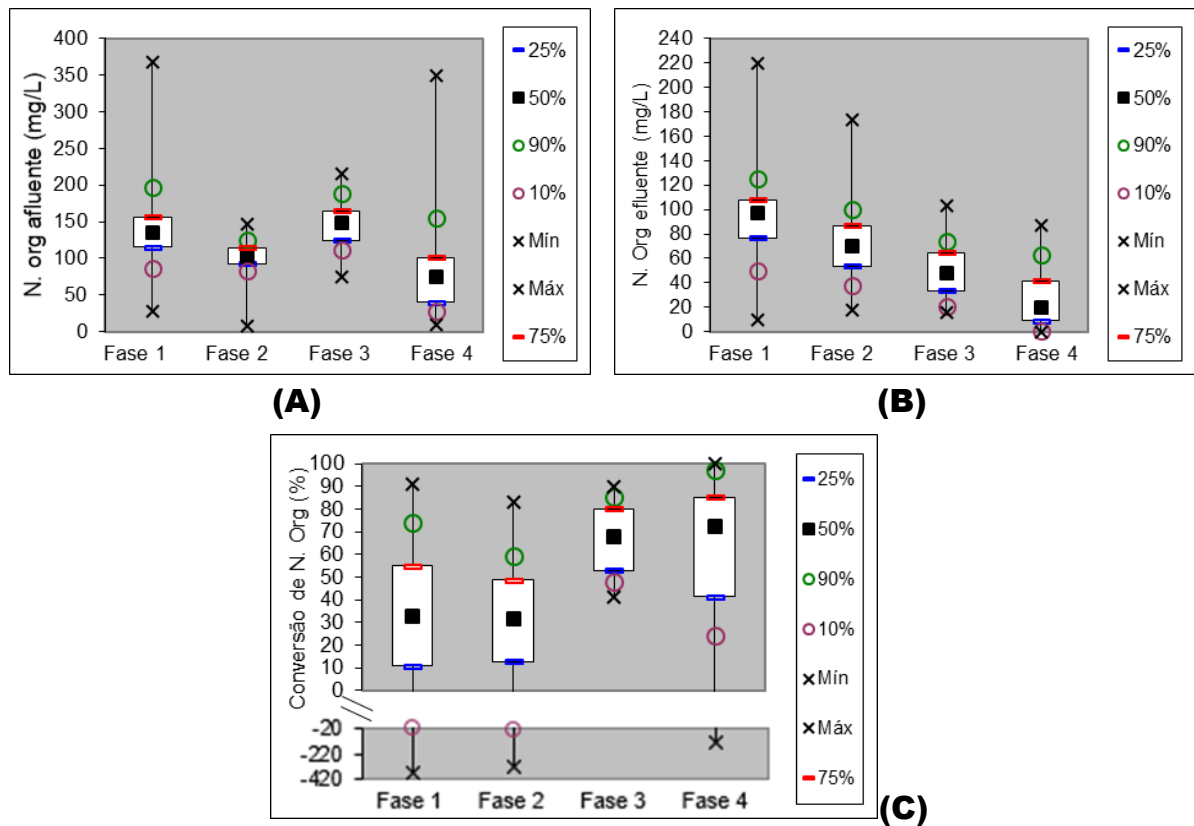
5.1.1 Efeitos de diferentes estratégias de aeração

As concentrações medianas afluentes de nitrogênio orgânico nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 134, 103, 148 e 74 mg/L, respectivamente (Figura 5.3, A). Houve grande variação de nitrogênio orgânico afluente, principalmente nas fases 1 e 4. Já as concentrações medianas efluentes nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 97, 69, 47, e 19, respectivamente (Figura 5.3, B).

De acordo com Von Sperling (2011), a matéria nitrogenada divide-se nas frações inerte (podendo ser descartada com o lodo excedente) e biodegradável (pode ser utilizada por bactérias heterotróficas no processo de amonificação). A disponibilidade de nitrogênio orgânico no efluente pode ter sido causada por dois fatores: (i) a fração não assimilada corresponde a nitrogênio orgânico inerte, não sendo passível de assimilação por microrganismos ou (ii) os microrganismos heterotróficos foram limitados neste sistema, não sendo capaz de assimilar o nitrogênio orgânico biodegradável.

As eficiências medianas de remoção de nitrogênio orgânico nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 33, 32, 68 e 72%, respectivamente (Figura 5.3, C). Houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de nitrogênio orgânico entre as fases 1 e 3, 2 e 3 e entre as fases 3 e 4. Portanto, a mudança de tempos aeróbios/anóxicos nas fases 1 e 2, de 7 min/21 min para 7 min/7min, respectivamente, sob taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L não alterou significativamente a remoção (consumo) de nitrogênio orgânico. No entanto, a mudança de taxa de ar aplicada de 0,025 (fases 1 e 2) para 0,050L/min.L (fase 3) aumentou significativamente o consumo de nitrogênio orgânico. Da mesma forma, a mudança de tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min para 7min/7 min (fases 3 e 4, respectivamente) sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L aumentou significativamente o consumo de nitrogênio orgânico no RBS.

Figura 5.3 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de conversão (C), em porcentagem, de nitrogênio orgânico no RBS nas fases 1 a 4



Uma vez que o consumo de nitrogênio orgânico foi maior na fase 4, conseqüentemente a intensidade do processo de amonificação também foi mais intenso nesta fase, com episódios de consumo total de nitrogênio orgânico (eficiência de remoção de 100%). A remoção de nitrogênio orgânico, ou seja, a amonificação, tem impacto direto na concentração de $N-NH_4^+$,

uma vez que esse processo gera o incremento de $N-NH_4^+$ no sistema. Por essa razão, em sistemas com presença de nitrogênio orgânico, é imprescindível que se faça o monitoramento do mesmo para a avaliação correta das concentrações de $N-NH_4^+$. De acordo com Stefanakis *et al.* (2014), a conversão de nitrogênio orgânico em nitrogênio amoniacal é usualmente realizada por microrganismos aeróbios e anaeróbios, e depende de múltiplos fatores, como temperatura, pH, C/N, entre outros.

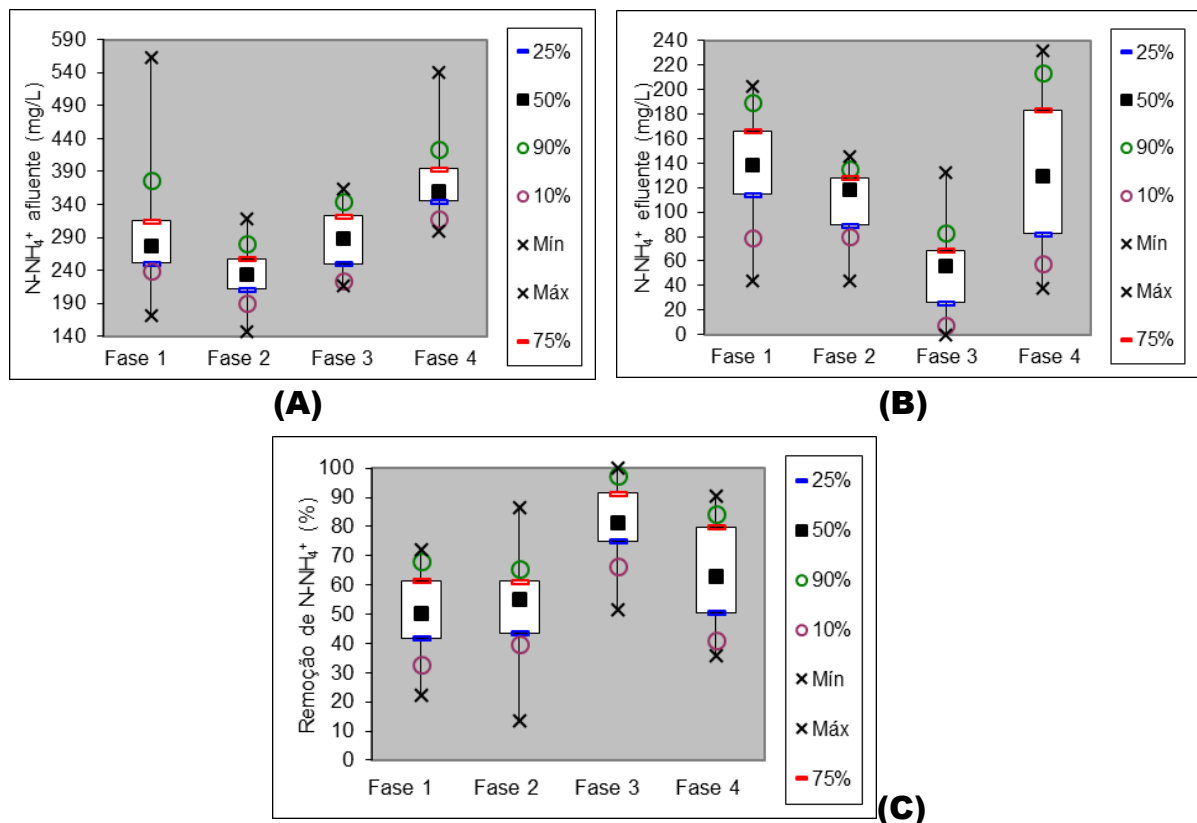
Para a determinação das concentrações de $N-NH_4^+$ disponíveis no sistema em cada ciclo de operação – denominados neste trabalho “concentrações afluentes”-, o resultado das análises de $N-NH_4^+$ foram somadas as concentrações de nitrogênio orgânico removido, considerando o processo de amonificação no sistema. A amonificação tem sido observada em vários trabalhos como incremento de $N-NH_4^+$, principalmente no início da operação de um RBS anammox (ARAÚJO *et al.*, 2011; FERNANDES 2017; DONG *et al.*, 2017; PEREIRA, 2018). Os autores atribuíram esse incremento devido a lise celular de bactérias aeróbias, que liberou nitrogênio orgânico no meio, que por sua vez foi transformação em $N-NH_4^+$ através da amonificação. Não foi encontrado na literatura observações sobre o monitoramento de nitrogênio orgânico e do processo de amonificação ao longo da operação de reatores anammox após o período de partida.

Quanto ao nitrogênio amoniacal, as concentrações medianas afluentes de $N-NH_4^+$ nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 275, 233, 289 e 360 mg/L, respectivamente (Figura 5.4, A). Uma vez que a concentração afluente total de $N-NH_4^+$ foi obtida pela soma das concentrações de $N-NH_4^+$ verificada nas análises laboratoriais e as concentrações removidas de nitrogênio orgânico, a fase 4 foi a fase com maior mediana de $N-NH_4^+$ total, uma vez que também foi a fase onde houve maior remoção de nitrogênio orgânico discutida anteriormente. As concentrações efluentes medianas de $N-NH_4^+$ nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 144, 118, 56 e 130 mg/L, respectivamente (Figura 5.4, B). Notou-se que na fase 3, ao final de dois ciclos de operação (que ocorreram em fins de semana, ou seja, foram mais longos), a concentração de $N-NH_4^+$ efluente foi igual a zero. Ou seja, nestes dois episódios, o $N-NH_4^+$ foi completamente removido, que não voltou a acontecer posteriormente.

Com relação às eficiências de remoção medianas de $N-NH_4^+$, estas foram de 50, 56, 81 e 63%, nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente (Figura 5.4, C). Houve diferença significativa entre as fases 1 e 3, 2 e 3 e 3 e 4. Portanto, a mudança de períodos aeróbios/anóxicos entre as fases 1 e

2 (7 min/21 min para 7 min/14 min, respectivamente) por si só não alterou significativamente as eficiências de remoção de $N-NH_4^+$. No entanto, a mudança de taxa de ar aplicado entre as fases 2 e 3 (0,025 para 0,050 L/min.L, respectivamente) promoveu maior eficiência de remoção de $N-NH_4^+$. Da mesma forma, a mudança de períodos aeróbios/anóxicos entre as fases 3 e 4 (7 min/14 min para 7 min/7 min, respectivamente) diminuiu a eficiência de remoção de $N-NH_4^+$.

Figura 5.4 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de $N-NH_4^+$ no RBS nas fases 1 a 4



Entre os dias 127 a 137 de operação, após um episódio de eficiência de remoção de $N-NH_4^+$ de cerca de 98%, as eficiências de remoção desse composto diminuíram gradualmente. É possível que os episódios de acúmulo de OD no sistema tenham favorecido outras comunidades microbianas e inibido bactérias anammox, ou ainda, que as bactérias anammox tenham sido inibidas pela ausência de substrato, uma vez que no final do ciclo do dia 126, as concentrações de $N-NH_4^+$ já eram muito inferiores e praticamente nulas, correspondendo a apenas 2% da concentração inicial. Lotti *et al.* (2014b) observaram que a ausência de $N-NH_4^+$ por um período de 2h resultou num aumento acentuado da atividade de BON, uma vez que a competição por

oxigênio com BOA e por NO_2^- com bactérias anammox foi pausada. Portanto, a diminuição da eficiência de remoção de N-NH_4^+ pode ter causado desequilíbrio da comunidade microbiana.

Ademais, a fase 3 mostrou ser a mais eficiente para a remoção de N-NH_4^+ em relação às demais (81% de eficiência mediana de remoção). Wang *et al.* (2017) obtiveram eficiências ligeiramente inferiores aplicando efluente sintético em um reator BRLF com aeração. Sob concentrações de N-NH_4^+ de 400 e 300 mg/L, as eficiências de remoção foram de 46-57 e de 69%, respectivamente. Miao *et al.* (2015) operaram um sistema anammox com três estágios, para remoção de matéria orgânica, nitrificação parcial e processo anammox separadamente. Os autores obtiveram taxa de remoção de nitrogênio de 12,02 mgN/gSSV.h (eficiências acima de 93%). Portanto, a remoção prévia de matéria orgânica pode ter contribuído para o bom desempenho do processo. No entanto, um sistema de dois ou três estágios para remoção de nitrogênio é altamente oneroso em comparação a um sistema de estágio único.

Pereira (2018) anteriormente operou o mesmo sistema sob NP/A para o tratamento de digestato de resíduos alimentares e observou eficiências medianas de remoção de N-NH_4^+ de 50 a 70%. Portanto, a configuração do sistema e as condições operacionais no presente estudo favoreceram altas eficiências de remoção de nitrogênio de efluente real e altamente concentrado em termos de nitrogênio e matéria orgânica.

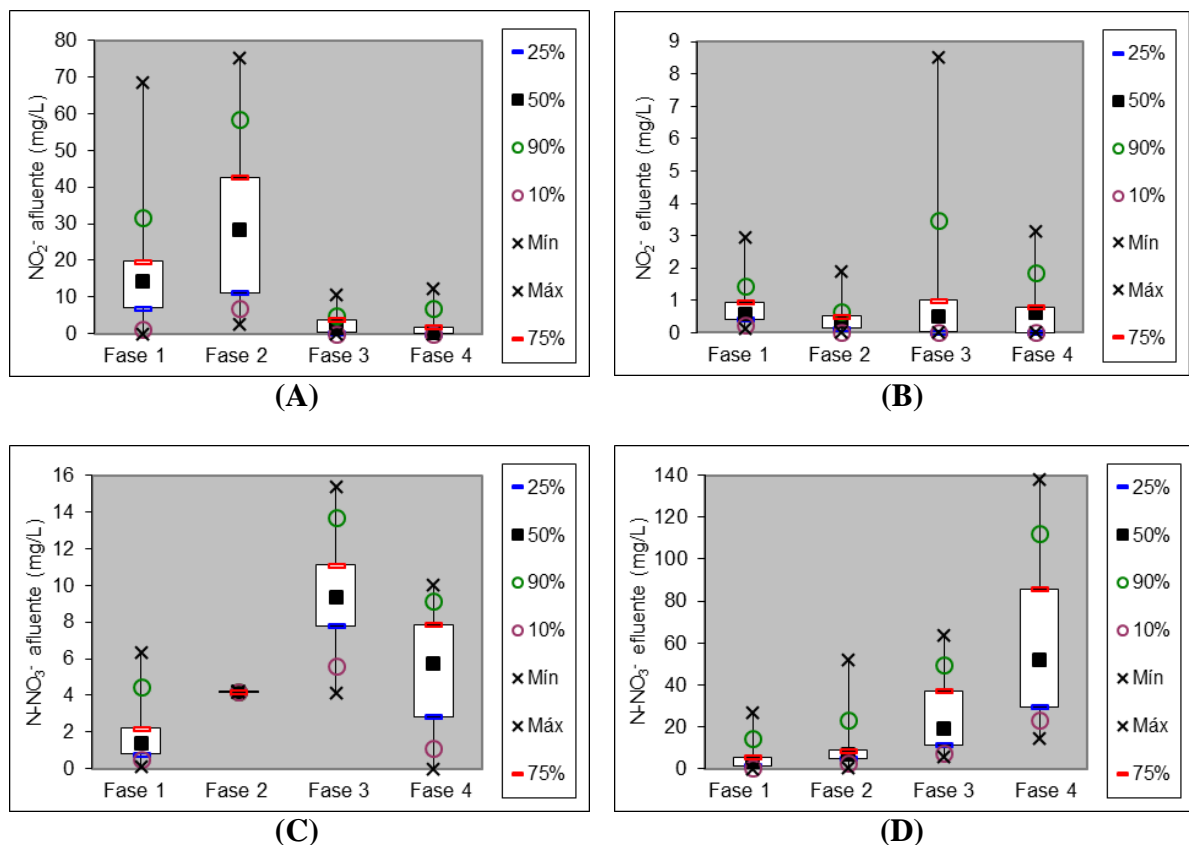
As concentrações afluentes medianas de N-NO_2^- nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 14, 29, 2 e 0 mg/L, respectivamente (Figura 5.5, A). Esses valores foram ligeiramente baixos em virtude nas etapas anaeróbias de tratamento dos resíduos alimentares, anteriormente do tratamento do digestato no RBS. As concentrações efluentes medianas de N-NO_2^- nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 1, 0, 0 e 1mg/L, respectivamente (Figura 5.5, B). No entanto, houve diferença significativa nas concentrações de N-NO_2^- no efluente somente entre as fases 1 e 2. Portanto, a mudança de tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/21 min (fase1) para 7 min/14 min (fase 2) diminuiu significativamente as concentrações efluentes de N-NO_2^- .

Porém, as diferentes estratégias de aeração adotadas não favoreceram o acúmulo de N-NO_2^- , que apresentou valores medianos abaixo de 1 mg/L em todas as fases, sugerindo que este composto foi praticamente totalmente assimilado pela comunidade microbiana no sistema. A ausência de acúmulo de N-NO_2^- mostra que o sistema teve desempenho estável em termos de atividade de microrganismos que consomem este substrato.

As concentrações afluentes medianas de N-NO_3^- nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 1, 4, 9 e 6 mg/L, respectivamente (Figura 5.5, C), que foram menores em relação as concentrações de N-NO_2^- afluente nas fases de 1 a 4. As concentrações efluentes medianas de N-NO_3^- nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 3, 7, 19 e 52 mg/L, respectivamente (Figura 5.5, D). Nota-se que as concentrações de N-NO_3^- foram gradualmente aumentando ao longo das fases. Esse acúmulo está relacionado ao aumento da intensidade da reação anammox e também a deficiência de matéria orgânica biodegradável, que limitou a desnitrificação heterotrófica.

Houve diferença significativa entre as concentrações efluentes de N-NO_3^- entre as fases 1 e 3, 1 e 4 e 2 e 4. Portanto, a mudança de períodos aeróbios/anóxicos (7 min/21 min - fase 1 - e 7 min/14 min - fase 2) com taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L para a condição de período aeróbio/anóxico de 7 min/7 min sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L (fase 4) aumentou significativamente a concentração efluente de N-NO_3^- .

Figura 5.5 - Box-plot das concentrações afluentes e efluentes de nitrito (itens A e B) e de nitrato (itens C e D) nas fases 1, 2, 3 e 4



Lackner *et al.* (2014) observaram que episódios de acúmulo de N-NO_2^- e N-NO_3^- são usualmente encontrados em sistemas NP/A. Segundo os autores, o acúmulo de N-NO_2^- é sanado em cerca de uma semana, enquanto que a reversibilidade do acúmulo de N-NO_3^- pode levar períodos mais longos. Miao *et al.* (2016) observaram acúmulo de N-NO_3^- (de 5 para 38 mg/L) mesmo sob baixas concentrações de OD ($0,17 \pm 0,08$ mg/L) em sistema de NP/A com aeração contínua tratando esgoto doméstico. Segundo os autores, a adoção de aeração intermitente (7 min/21min) reduziu as concentrações de N-NO_3^- , mantendo-as abaixo de 1,3 mg/L, com carga de nitrogênio removida de 73 mg/L.d. Na presente pesquisa, notou-se que a diminuição dos períodos anóxicos em relação aos períodos aerados gradualmente propiciou o aumento da concentração de N-NO_3^- efluente. No entanto, nota-se que a aeração intermitente é uma estratégia operacional efetiva para a inibição da atividade de BON e acúmulo de N-NO_3^- em sistemas de NP/A.

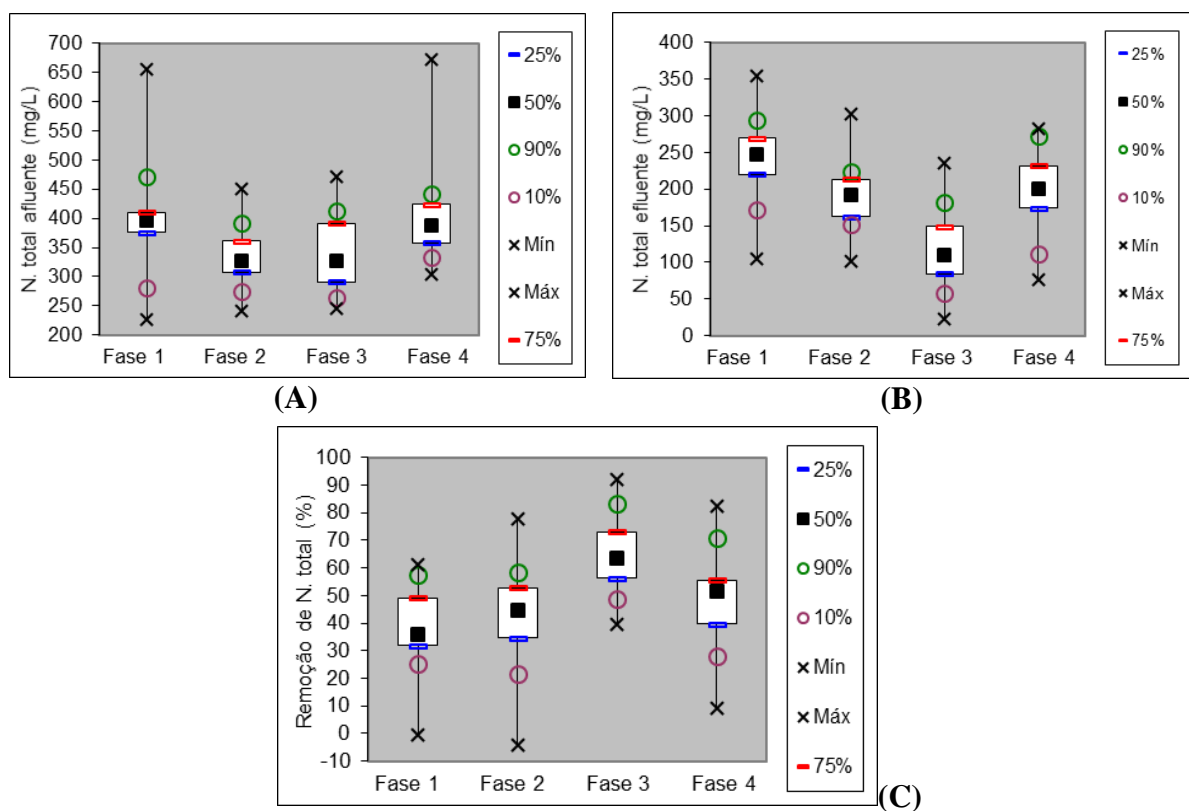
As concentrações medianas afluentes de nitrogênio total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 396, 327, 326 e 389 mg/L, respectivamente (Figura 5.6, A). Portanto, o digestato utilizado continha altas concentrações de nitrogênio total em todas as fases de estratégias de aeração. As concentrações medianas efluentes de nitrogênio total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 247, 192, 110 e 201 mg/L, respectivamente (Figura 5.6, B). Observa-se que na fase 3 foi obtida a menor concentração mediana efluente de nitrogênio total.

Com relação às eficiências de remoção de nitrogênio total, nas fases 1, 2, 3 e 4 estas foram de 36, 44, 63 e 52%, respectivamente (Figura 5.6, C). Houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de nitrogênio entre as fases 1 e 3, 2 e 3 e 3 e 4. Portanto, a mudança da condição de aeração com tempos aeróbio/anóxico de 7 min/21 min (fase 1) para 7 min/14 min (fase 2) por si só não melhorou significativamente a remoção de nitrogênio total. No entanto, a mudança de taxa de ar aplicado de 0,025 L/min.L (fase 2) para 0,050 L/min.L (fase 3) mostrou-se efetiva para melhorar significativamente a eficiência de remoção de nitrogênio total. Posteriormente, sob taxa de ar de 0,050 L/min.L, a mudança de tempos aeróbio/anóxico de 7 min/14 min para 7 min/7 min reduziu significativamente a eficiência de remoção de nitrogênio total.

Miao *et al.* (2018) observaram eficiências de remoção de nitrogênio total de 31 a 77% em RBS com NP/A utilizando aeração intermitente para o tratamento de esgoto doméstico. Miao *et al.*

(2016) obtiveram eficiências de remoção de nitrogênio total de 15% (sob aeração contínua) e de 77% (sob aeração intermitente). Pereira (2018) observou eficiência mediana de remoção de nitrogênio total de 3 a 49% em RBS tratando digestato de resíduos alimentares. A autora aplicou tempos aeróbios de 15 minutos e tempos anóxicos variados. Os resultados do presente trabalho apontam para a fase 3 (tempos aeróbios/anóxicos de 7min/21min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L) como uma das melhores para se obter o processo de NP/A, uma vez que o reduzido tempo de aeração e o posterior período anóxico mais extenso propiciam maior eficiência de remoção de nitrogênio total (63,46%) sem o acúmulo acentuado de $N-NO_3^-$

Figura 5.6 - Box-plots das concentrações afluentes (A), efluentes (B) em mg/L e eficiência de remoção (C) em % de nitrogênio total nas fases 1, 2, 3 e 4

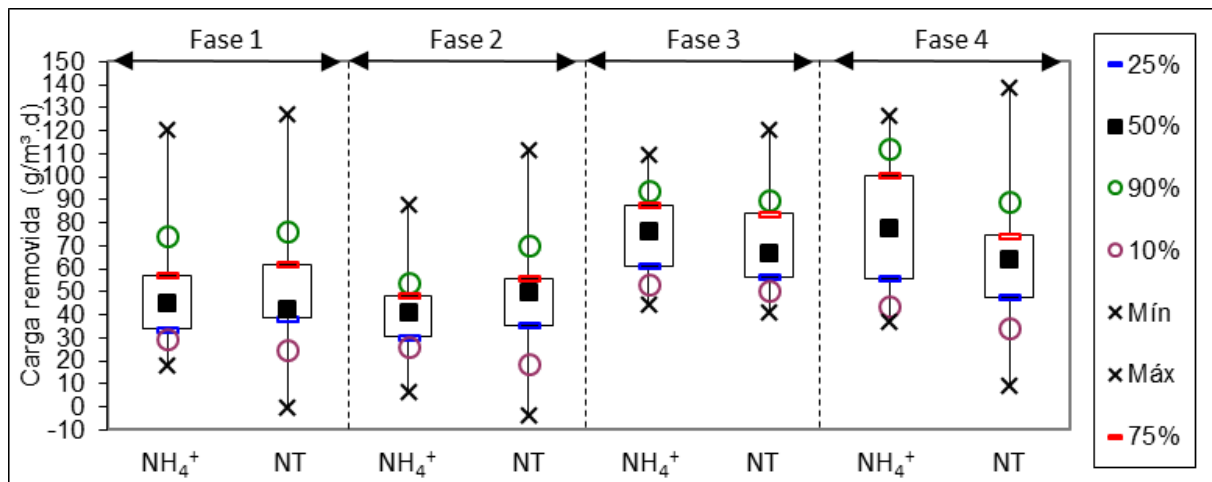


As medianas das cargas de $N-NH_4^+$ removidas nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 45, 41, 76 e 77 $gNH_4^+/m^3.d.L$, respectivamente (Figura 5.7). Não houve diferença significativa entre as cargas de $N-NH_4^+$ removidas nas fases 1 e 2, portanto, a alteração dos tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/21 min para 7 min/14 min, sob taxa de ar aplicado de 0,025 L/min.L não melhorou nem piorou significativamente o desempenho do sistema em termos de carga de $N-NH_4^+$ removida.

No entanto, houve diferença significativa entre as fases 1 e 3 e 2 e 3, bem como entre as fases 1 e 4 e 2 e 4. Portanto, o aumento na taxa de ar aplicado de 0,025 (fase 1 e 2) para 0,050 L/min.L (fases 3 e 4) melhorou significativamente a eficiência do sistema em termos de carga de N-NH₄⁺ removida. Não houve diferença significativa entre as cargas de N-NH₄⁺ removidas nas fases 3 e 4, portanto, a mudança de tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min para 7 min/7 min, sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L não melhorou significativamente o desempenho do sistema em termos de carga de N-NH₄⁺ removida.

No geral, as cargas de nitrogênio total foram ligeiramente inferiores às cargas de N-NH₄⁺ removidas em virtude da carga de N-NO₃⁻ produzida. Com relação às cargas de nitrogênio total removidas, as medianas nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 43, 50, 67 e 64 g/m³.d, respectivamente (Figura 5.7). Houve diferença significativa entre as fases 1 e 3 e 2 e 3, portanto, a mudança de taxa de ar aplicada de 0,025 (fases 1 e 2) para 0,050 (fase 3) melhorou significativamente o desempenho do sistema em relação à carga de nitrogênio total removida. No entanto, a posterior mudança de tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min (fase 3) para 7 min/7 min (fase 4) não alterou significativamente a remoção de nitrogênio total em termos de carga.

Figura 5.7 - Box-plot das cargas de nitrogênio NH₄⁺ e de nitrogênio total removidas (g/m³.d) nas fases 1, 2, 3 e 4



Wang *et al.* (2016) operaram um sistema de NP/A em dois estágios tratando lixiviado de aterro sanitário, obtendo taxa de remoção de nitrogênio de 0,5 a 1200 g/m³.d, muito superiores às aquelas observadas nas fases de 1 a 4 (-5 a 95 g/m³.d; o valor negativo deu-se em virtude do incremento de NT em vez de remoção). Langone *et al.* (2016) avaliaram a NP/A em reatores de dois e um

estágio, obtendo cargas de nitrogênio removidas de 430-560 e 270 g/m³.d, respectivamente. Miao *et al.* (2016) obtiveram remoção de 60 g/m³.d em RBS tratando efluente doméstico com NP/A utilizando aeração intermitente com tempos aeróbios/anóxicos de 7min/21min. Neste estudo, a carga mediana de nitrogênio total removida sob estas mesmas condições foi de 43 g/m³.d (fase 1). No entanto, uma vez que as concentrações de nitrogênio amoniacal no presente estudo foram muito superiores às aquelas usualmente encontradas em efluentes domésticos, a diminuição dos tempos anóxicos com relação aos aeróbios fez-se necessária para o melhor desempenho do sistema.

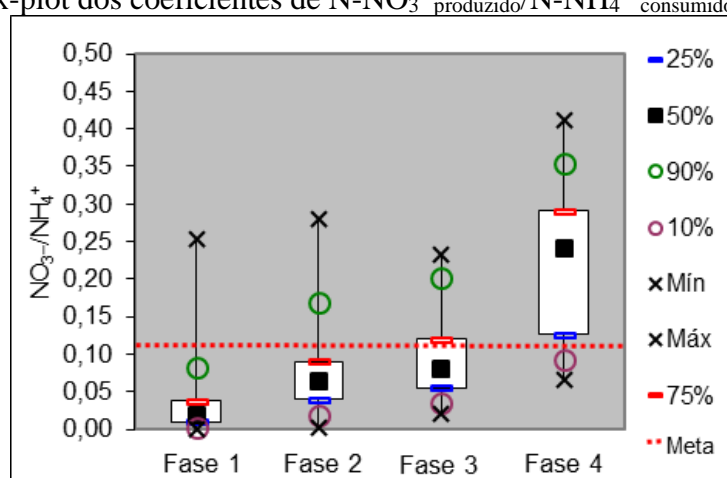
A relação N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido dá noção do desempenho do processo de NP/A. Sliackers *et al.* (2002) analisaram a estequiometria do processo de NP/A e propuseram que, para cada mol de NH₄⁺ consumido na NP/A, 0,11 mol de N-NO₃⁻ é gerado. Os coeficientes estequiométricos medianos de NO₃⁻ produzido/NH₄⁺ consumido nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 0,02, 0,06, 0,08 e 0,24, respectivamente (Figura 5.8). Nota-se, portanto, que nas fases 1, 2 e 3 o coeficiente estequiométrico mediano foi menor do que o proposto pela literatura, o que pode ter ocorrido pela desassimilação do N-NO₃⁻ e também pela desnitrificação heterotrófica, no entanto, na fase 3, o coeficiente foi próximo ao reportado na literatura. Bactérias heterotróficas desnitrificantes promovem a reação de produção de N-N₂ na presença de N-NO₃⁻ e o aceptor de elétrons da reação, a matéria orgânica. Relação N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido inferiores a 0,11 também foram observadas por Ma *et al.* (2015) e Yuan *et al.* (2018), e atribuídas à desnitrificação heterotrófica do NO₃⁻ gerado na reação anammox. Adicionalmente, Miao *et al.* (2018) verificou a diminuição da relação N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido (de 0,65 para 0,11) com o aumento da relação C/N de 1,1 para 2,5.

Já na fase 4, uma vez que a mediana do coeficiente estequiométrico de N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido foi maior do que o proposto na literatura, pode-se admitir que houve excesso de N-NO₃⁻ produzido, em virtude da nitrificação total. Houve diferença significativa entre os coeficientes estequiométricos considerando as fases 1 e 4 e 2 e 4. Portanto, a fase 4, com tempos aeróbios/anaeróbios de 7 min/7 min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L contribuíram significativamente para o incremento de N-NO₃⁻ produzido / N-NH₄⁺ consumido devido a nitrificação total. Assim, a redução do tempo anóxico de 14 min (fase 2 e 3) para 7 min (fase 4) favorece a nitrificação total e limita a NP/A.

Miao *et al.* (2016) observaram valores acima de 0,11 (0,88) para o coeficiente em sistema NP/A sob aeração contínua. Yang *et al.* (2015) observaram valores acima de 0,11 (0,19 a 0,45) em sistema sob altas concentrações de OD (1,5 a 3,5 mg/L). Pereira (2018) também observou valores acima de 0,11 (0,21 e 0,17) mesmo sob aeração intermitente e com taxa de ar aplicada de 0,026 L/min.L, porém com períodos aeróbios extensos, de 15 minutos. Em um sistema NP/A/D com reator contendo meio suporte, Zheng *et al.* (2016) verificaram que mesmo com aeração intermitente (20min *on*/20 min *off*), a relação N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido foi de 0,39 a 0,54, muito maior do que o valor de referência de 0,11. Os autores aplicaram taxa de ar de 107 L/min/L_{reator} com OD de 5,6 a 7,4.

O presente trabalho mostrou que a estratégia testada na fase 3, de tempos aeróbios/anóxicos de 7min/14min sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L aproxima a relação NO₃⁻ produzido / NH₄⁺ consumido do valor reportado na literatura, no tratando de digestato de resíduos alimentares. Portanto, a estável operação de NP/A sob aeração intermitente e controle adequado de OD parece previne a nitrificação total e aproxima a relação N-NO₃⁻ produzido / N-NH₄⁺ consumido do valor reportado na literatura (0,11).

Figura 5.8 - Box-plot dos coeficientes de N-NO₃⁻ produzido/N-NH₄⁺ consumido nas fases de 1 a 4



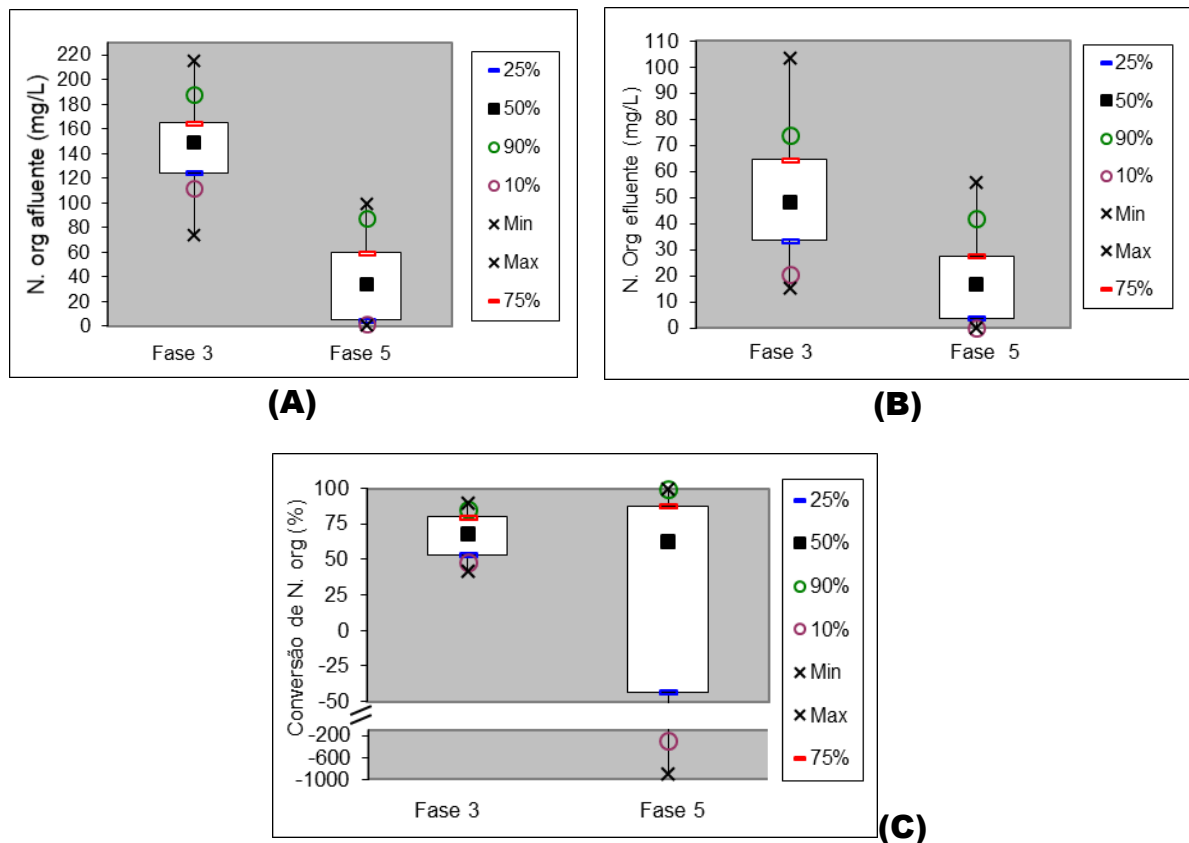
5.1.2 Efeitos de diferentes temperaturas na dinâmica dos compostos nitrogenados

As concentrações medianas de nitrogênio orgânico afluyente nas fases 3 e 5 foram de 149 e 34 mg/L, respectivamente (Figura 5.9, A). Portanto, na fase 5 o digestato estava menos concentrado em termos de nitrogênio orgânico. As concentrações medianas efluentes de nitrogênio orgânico nestas fases foi de 48 e 17 mg/L (Figura 5.9, B), respectivamente. Assim,

a assimilação de nitrogênio orgânico e a consequente amonificação não foram completamente realizadas nestas fases, sob diferentes temperaturas de operação (35°C e de 26 a 29°C).

As eficiências medianas de remoção de nitrogênio orgânico foram de 68 e 63%, respectivamente (Figura 5.9, C). Não houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de nitrogênio orgânico entre as fases 3 e 5. Portanto, sob aeração com tempos aeróbios/anóxicos de 7min/14min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L, a diminuição da faixa de temperatura (35°C na fase 3 para temperatura ambiente – entre 26 e 29°C - na fase 5) não afetou significativamente a atividade de microrganismos amonificadores, uma vez que não houve diferença significativa nas eficiências de remoção de nitrogênio orgânico. No entanto, a menor concentração de nitrogênio orgânico na fase 5 levou ao menor incremento de $N.NH_4^+$ no sistema.

Figura 5.9 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de nitrogênio orgânico no RBS nas fases 3 e 5

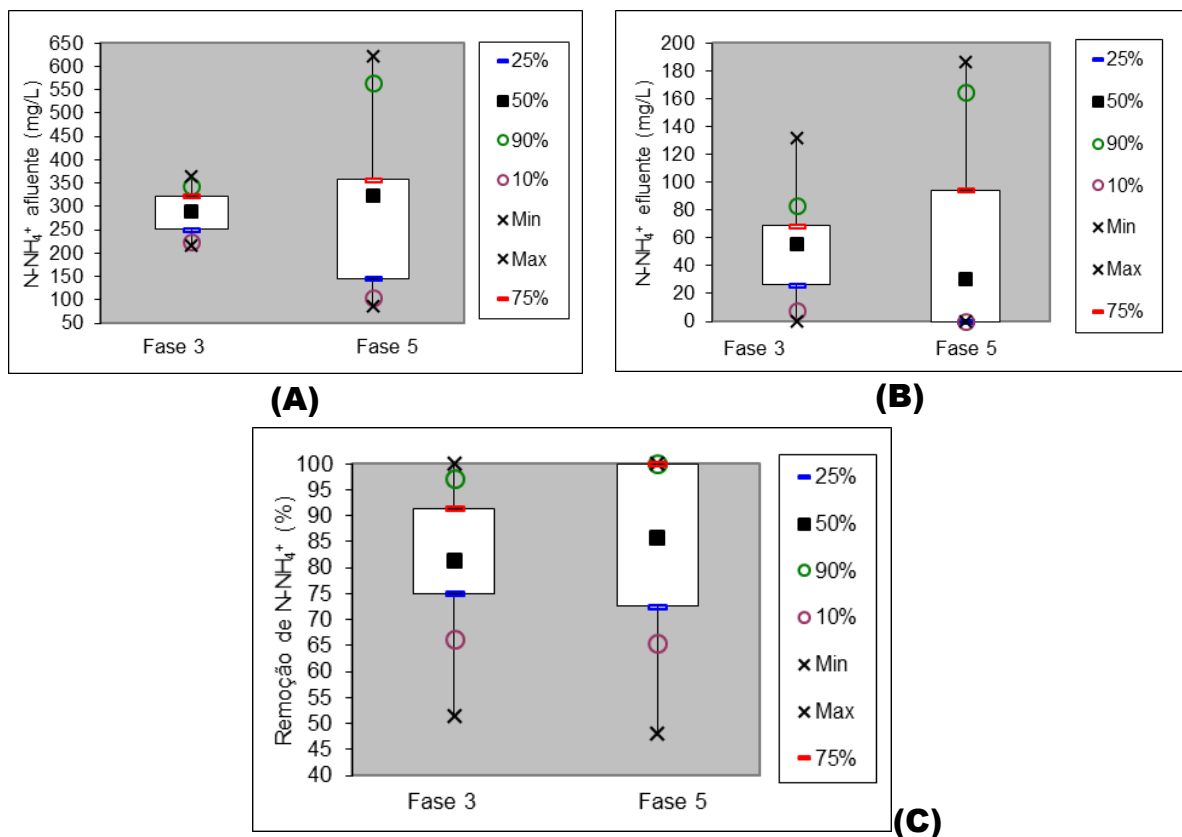


As concentrações medianas afluentes de $N.NH_4^+$ nas fases 3 e 5 foram de 289 e 232 mg/L, respectivamente (Figura 5.10, A). Ou seja, a limitação da amonificação na fase 5 não afetou a

concentração de $N-NH_4^+$, pelo contrário, as concentrações de $N-NH_4^+$ nesta fase foram superiores à fase 3. As concentrações medianas efluentes de $N-NH_4^+$ nas fases 3 e 5 foram de 56 e 31 mg/L, respectivamente (Figura 5.10, B). Nota-se que as concentrações efluentes foram discretas em ambas as fases, portanto, indicando que a remoção de $N-NH_4^+$ foi estabelecida com sucesso.

As remoções medianas de $N-NH_4^+$ foram de 81 e 86%, respectivamente (Figura 5.10, C). Não houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de $N-NH_4^+$ nas fases 3 e 5. Assim, pode-se afirmar que o processo sob temperatura ambiente (de 26 a 29°C) não foi desestabilizado e foi mantido o mesmo desempenho no RBS, em termos de remoção de $N-NH_4^+$ em comparação ao processo controlado a 35°C. Esse resultado mostra que é possível o desenvolvimento do processo de NP/A em sistemas em escala plena sob temperatura ambiente.

Figura 5.10 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de $N-NH_4^+$ no RBS nas fases 3 e 5

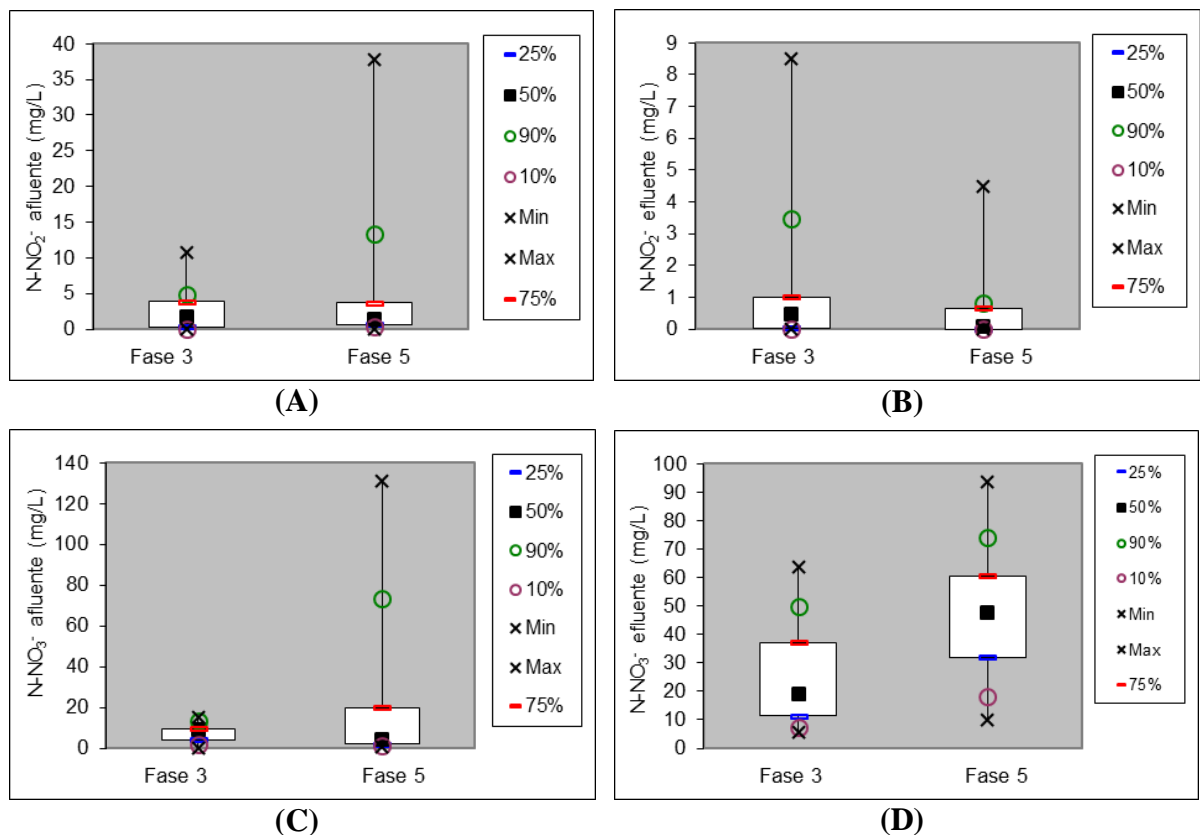


Wu *et al.* (2016) observaram diminuição na remoção de nitrogênio com a diminuição da temperatura de 35 para 21°C, com gradual recuperação ao longo da operação. Com

concentração média afluyente de N-NH_4^+ variou de 1195 ± 68 mg/L, os autores observaram eficiências médias de remoção de nitrogênio sob as temperaturas de 35 e 21°C de $88,4 \pm 4,8$ e $72,4 \pm 5,1\%$, respectivamente. Ma *et al.* (2015) observaram que em sistemas de NP/A com aeração intermitente e baixas concentrações de OD sob temperaturas acima de 20°C, a concentração efluyente de nitrogênio total foi de 7 ± 3 mg/L (concentração afluyente de 62 ± 3 mg/L). Fernandes *et al.* (2018) observaram que a eficiência de remoção de N-NH_4^+ em um RBS-anammox aumentou de 98 para 100% quando a temperatura diminuiu de 35 para 25°C.

As concentrações afluyentes medianas de N-NO_2^- nas fases 3 e 5 foram de 2 e 1 mg/L, respectivamente (Figura 5.11, A). As concentrações efluyentes medianas de N-NO_2^- nas fases 3 e 5 foram de 0 mg/L (Figura 5.11, B). No entanto, não houve diferença significativa entre as concentrações de N-NO_2^- no efluyente entre as fases 3 e 5. Ou seja, as diferentes temperaturas de operação não apresentaram mudança significativa na concentração efluyente de N-NO_2^- , que manteve valores medianos abaixo de 1 mg/L.

Figura 5.11 - Box-plot das concentrações afluyentes e efluyentes de N-NO_2^- (itens A e B, respectivamente) e de N-NO_3^- (itens C e D, respectivamente) nas fases 3 e 5

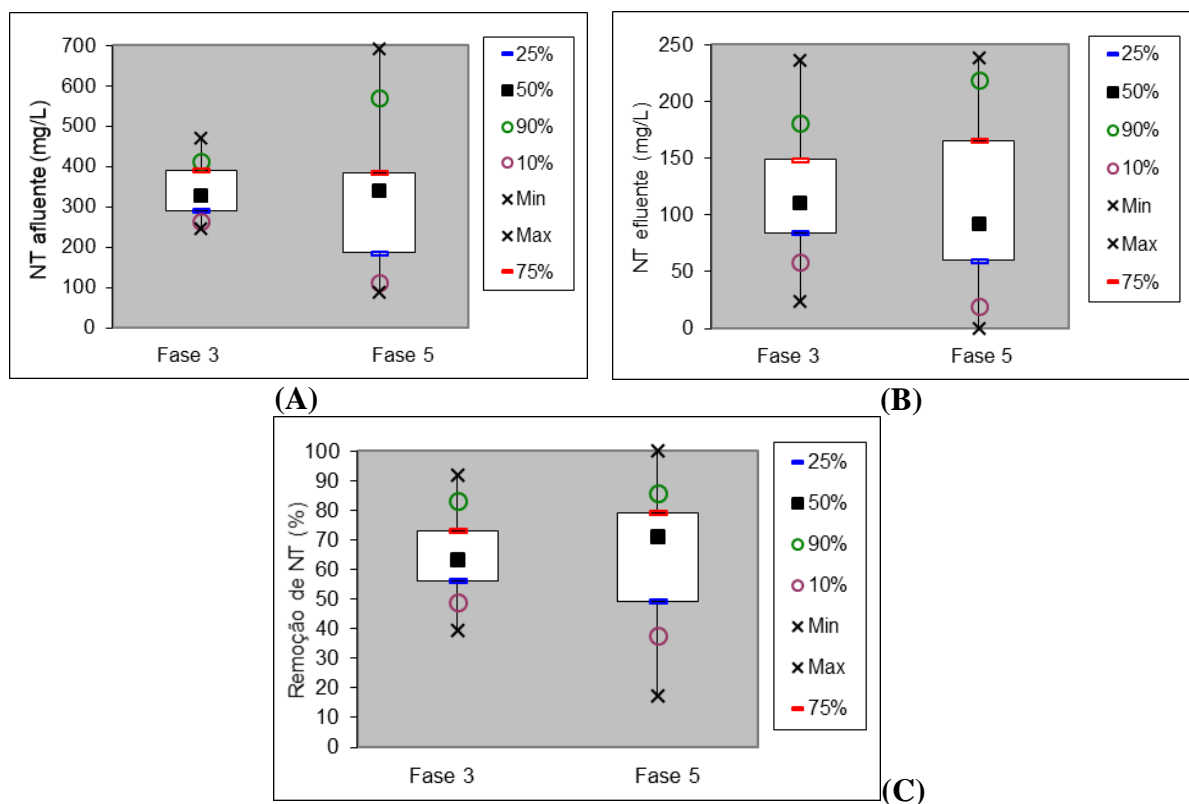


As concentrações afluentes medianas de N-NO_3^- foram relativamente baixas. Nas fases 3 e 5 esses valores foram de 9 e 4 mg/L, respectivamente (Figura 5.11, C). As concentrações efluentes medianas de N-NO_3^- nas fases 3 e 5 foram de 19 e 48 mg/L, respectivamente (Figura 5.11, D). Houve diferença significativa nas concentrações efluentes de N-NO_3^- entre as fases 3 e 5, portanto, a mudança de temperatura de 35°C (fase 3) para temperatura ambiente de 26 a 29°C (fase 5) aumentou significativamente a concentração efluente de N-NO_3^- .

Lotti *et al.* (2014) observaram acúmulo de N-NO_2^- e N-NO_3^- após a diminuição da temperatura numa faixa de 5°C (20 para 15°C). Os autores atribuíram o fato a diminuição da atividade anammox. No entanto, no presente estudo, a diminuição da temperatura numa faixa de 6 a 9°C (35°C para 29 a 26°C) não levou ao acúmulo de N-NO_2^- , mas levou ao acúmulo de N-NO_3^- .

As concentrações medianas afluentes de nitrogênio total nas fases 3 e 5 foram de 326 e 341 mg/L, respectivamente (Figura 5.12, A). As concentrações medianas efluentes de nitrogênio total nas fases 3 e 5 foram de 110 e 92 mg/L, respectivamente (Figura 5.12, B).

Figura 5.12 - Box-plots das concentrações afluentes (A), efluentes (B) em mg/L e eficiência de remoção (C) em % de nitrogênio total nas fases 3 e 5



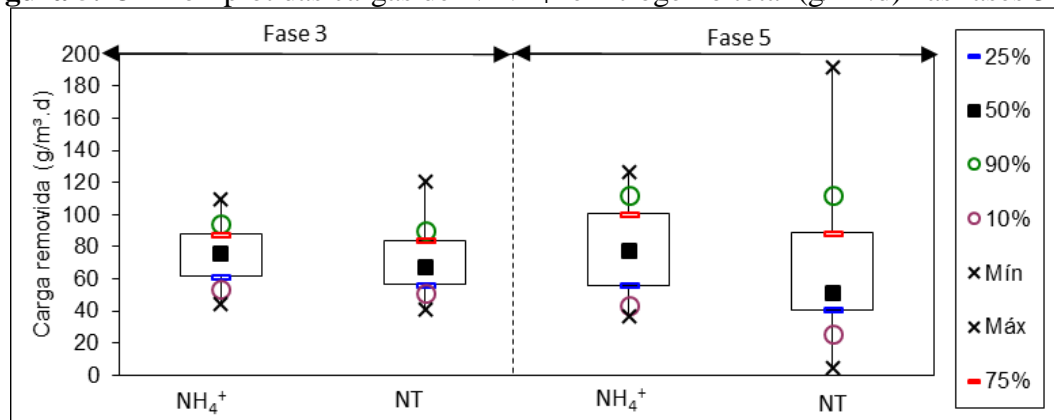
Observa-se que na fase 5 (sob temperatura ambiente, de 26 a 29°C) foi obtida a menor concentração mediana efluente de nitrogênio total. Com relação às eficiências de remoção de nitrogênio total, nas fases 3 e 5 foram alcançadas medianas de 63 e 71%, respectivamente (Figura 5.12, C).

Não houve diferença significativa entre as fases 3 e 5 quanto a eficiência de remoção de nitrogênio total. Portanto, a mudança de temperatura de 35°C (fase 3) para temperatura ambiente (fase 5) não afetou significativamente a eficiência de remoção de nitrogênio total, comprovando que o bom desempenho do sistema, em termos de eficiência de remoção de nitrogênio total - pode ser alcançado sem a necessidade de controle da temperatura.

Ma *et al.* (2015) observaram que um RBS com NP/A no pós-tratamento de efluente doméstico alcançou elevadas remoções de nitrogênio total, de 60 a 85%, sob temperatura de 19-23°C. Uma vez que é possível altas remoções de nitrogênio total, mesmo sob temperaturas inferiores à fase 5 (26 a 29°C), as condições operacionais precisam ser otimizadas para promover o melhor desempenho do processo. Yang *et al.* (2011) observaram eficiências de remoção de nitrogênio total de 70 a 90% em sistemas anammox sob temperatura ambiente variando de 33 a 23°C. Segundo os autores, o desempenho do sistema não foi comprometido com a variação e diminuição da temperatura. Li *et al.* (2013) alcançaram eficiência de remoção de nitrogênio total de 63% em sistema de NP/A tratando lixiviado de aterro sob 29°C.

Quanto às cargas de nitrogênio removidas, as medianas de cargas de N-NH₄⁺ removidas nas fases 3 e 5 foram de 76 e 77 g/m³.d, respectivamente. Já as medianas de cargas de nitrogênio total nas fases 3 e 5 foram de 70 e 51 g/m³.L.d, respectivamente (Figura 5.13).

Figura 5.13 - Box-plot das cargas de N-NH₄⁺ e nitrogênio total (g/m³.d) nas fases 3 e 5

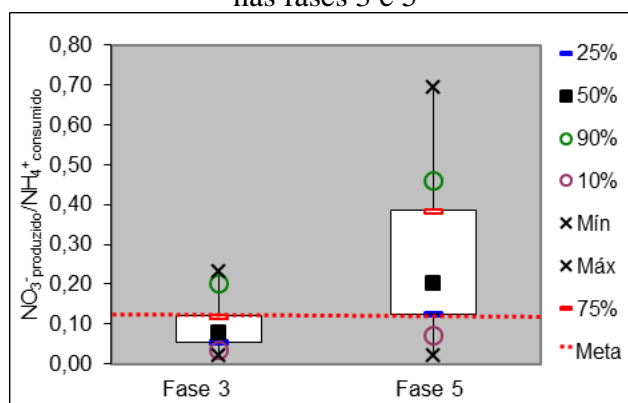


Não houve diferença significativa entre as cargas de N-NH_4^+ e de nitrogênio total removidas nas fases 3 e 5, ou seja, a variação de temperatura controlada a 35°C (fase 3) para temperatura ambiente (fase 5) não alterou significativamente a remoção de N-NH_4^+ e de nitrogênio total em termos de carga.

Lotti *et al.* (2014b) observaram que a diminuição da temperatura de 20 para 15°C provocou redução na taxa de remoção de nitrogênio de $0,45$ para $0,34$ gN/L.d . Neste estudo foi confirmado que a mudança da faixa de temperatura de 35°C para 26 a 29°C não gera impactos significativos para sistemas anammox em termos de cargas de nitrogênio removidas.

As medianas dos coeficientes de NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido nas fases 3 e 5 foram de $0,08$ e $0,20$, respectivamente (Figura 5.14). Na fase 5, o coeficiente foi maior do que o reportado na literatura para a NP/A (Sliekers *et al.*, 2002 - $0,11$), indicando que houve excesso na produção de N-NO_3^- , que não foi gerado apenas pelas reações simultâneas de NP/A, mas também pela nitrificação total. Houve diferença significativa entre os coeficientes estequiométricos entre as fases 3 e 5, portanto, a mudança da temperatura de 35°C (fase 3) para temperatura ambiente (fase 5) aumentou significativamente a relação de NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido.

Figura 5.14 - Box-plot dos coeficientes estequiométricos de NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido nas fases 3 e 5



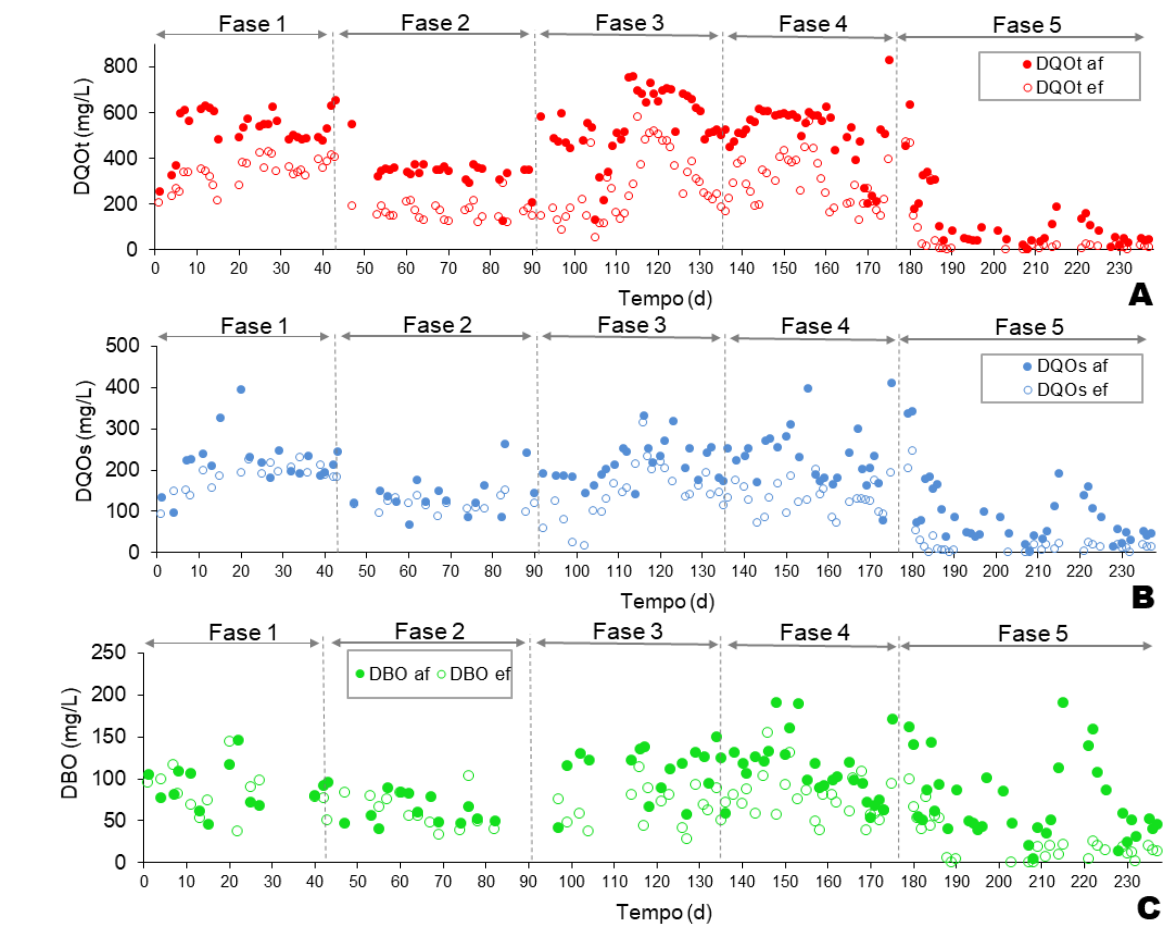
Segundo Alleman (1985), um dos fatores cruciais para a nitrificação total é a diminuição da temperatura, que pode aumentar a atividade de BON, que por sua vez consomem mais rapidamente o N-NO_2^- no meio e o oxidam a N-NO_3^- . Para Hellinga *et al.* (1998), a temperatura de 35°C favorece a taxa de crescimento de BOA em comparação a BON, enquanto que temperaturas de 5 a 20°C promovem o efeito contrário.

No presente estudo, foi observado que a nitrificação total aumentou na mudança de temperatura de 35°C para 26 a 29°C – com mediana de 28°C -, o que pode ter favorecido BON sob as condições operacionais utilizadas. O aumento desta relação pode ter ocorrido tanto pela diminuição da temperatura em si, quanto pelos efeitos da fase antecessora à fase 5 com temperatura ambiente. Na fase 4, a diminuição do período aeróbio em relação ao anóxico provocou aumento da relação NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido, configurando a nitrificação total.

5.2 Dinâmica dos compostos orgânicos

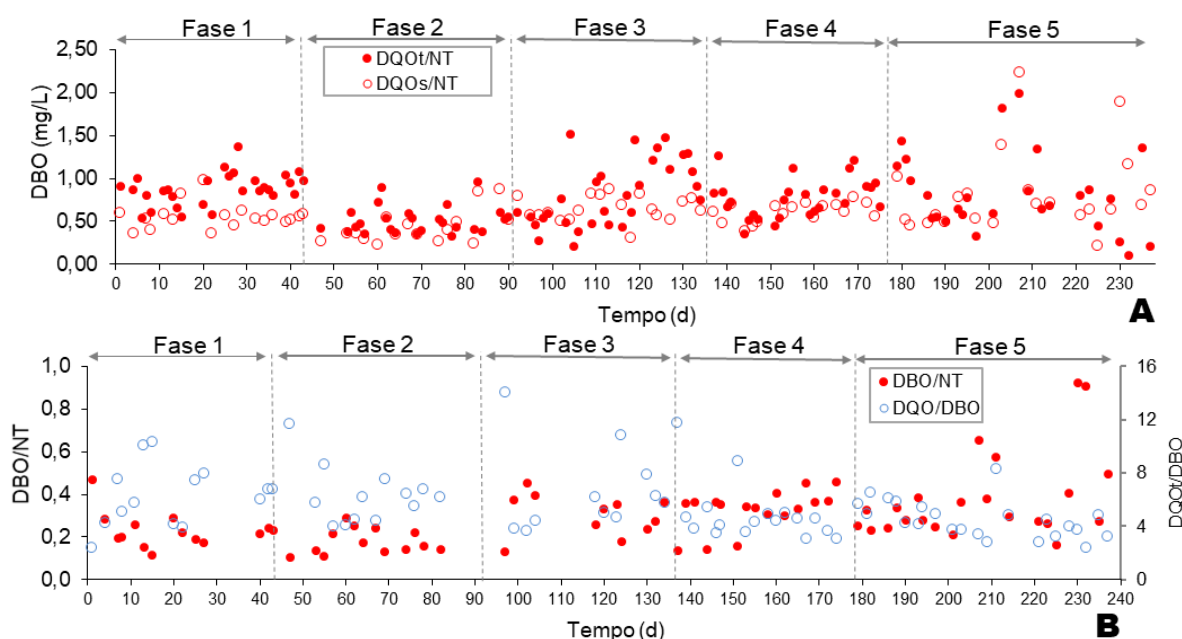
A dinâmica dos compostos orgânicos nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 (Figura 5.15) sugerem que as faixas de concentração de DQO total, DQO solúvel e DBO foram diferentes, com concentrações de DQO total superiores a DQO solúvel, que por sua vez foram maiores que as concentrações de DBO.

Figura 5.15 - Série temporal das concentrações afluentes e efluentes dos compostos orgânicos (DQO total, DQO solúvel e DBO) nas Fases 1, 2, 3, 4, e 5



As relações C/N afluentes foram avaliadas de acordo com DQO total/nitrogênio total (DQOt/NT), DQO solúvel/nitrogênio total (DQOs/NT) e DBO/nitrogênio total (DBO/NT) (Figura 5.16). Observa-se que as relações C/N considerando a matéria orgânica biodegradável (DBO) foram muito reduzidas, permanecendo abaixo de 1 durante toda a operação do RBS (Figura 5.16, B).

Figura 5.16 - Relação DQO total/ nitrogênio total e DQO solúvel/nitrogênio total (A), e relação DBO/nitrogênio total e relação DQO/DBO no digestato diluído afluente nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 (B).



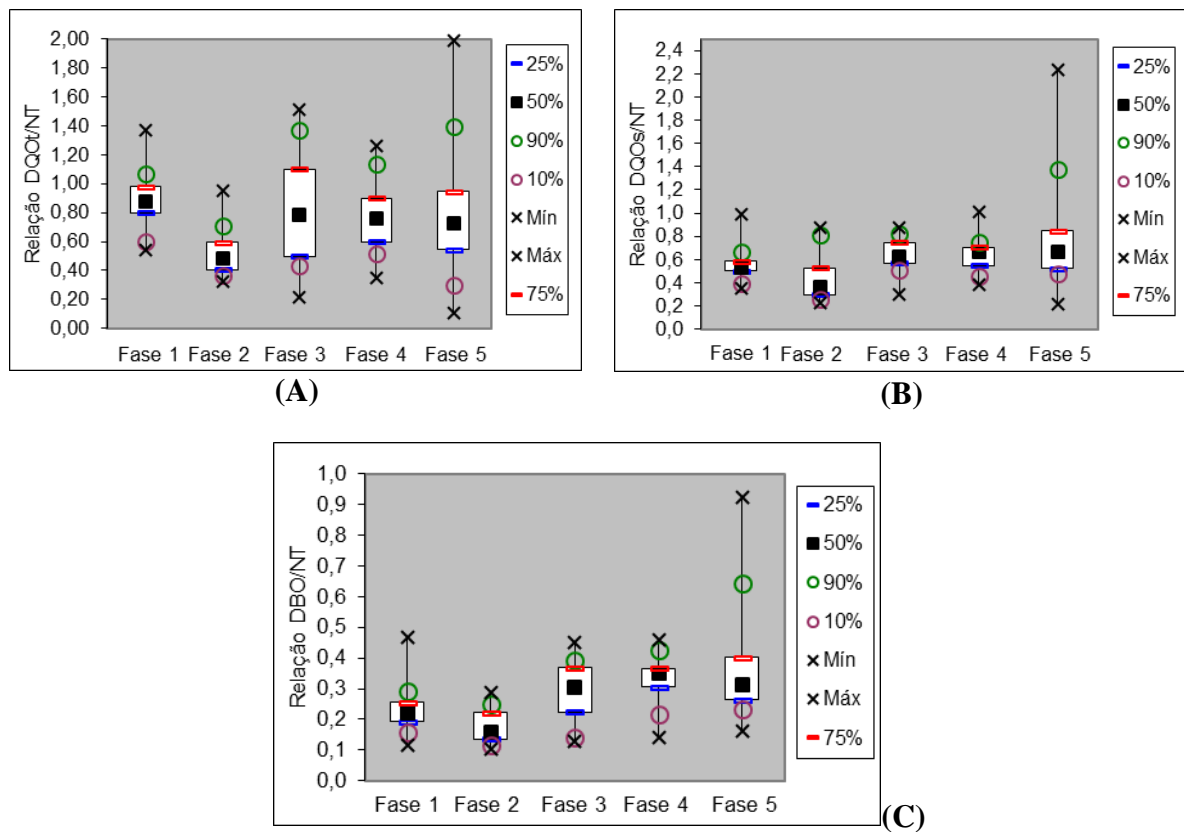
As relações DQO/DBO no digestato afluente ao RBS mantiveram-se na faixa de 2 a 14,5 entre as fases 1 a 5 (Figura 5.16, B). As concentrações medianas da relação DQO/DBO nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 6,4, 6,2, 6,0, 4,4 e 4,2, respectivamente. De acordo com Von Sperling (2014), relações DQO/DBO superiores a 4,0 indicam que a fração inerte do efluente é elevada, ou seja, apresenta baixa degradabilidade. Ainda segundo o autor, é natural que efluentes pós-tratamento apresentam relações DQO/DBO elevadas, em virtude da remoção da matéria orgânica biodegradável ao longo do tratamento. Assim ocorre com o digestato utilizado neste estudo, uma vez que previamente passou por unidades de digestor anaeróbico, reator UASB e leito de secagem.

A baixa degradabilidade do digestato pode ser benéfica a sistemas de NP/A. De acordo com Jin *et al.* (2012), o crescimento de bactérias heterotróficas desnitrificantes é limitado pela baixa

disponibilidade de matéria orgânica facilmente biodegradável, uma vez que limita o crescimento de bactérias heterotróficas no sistema. A limitação de substrato para bactérias heterotróficas pode favorecer a atividade de BOA e anammox, tornando-as mais competitivas.

As medianas de DQOt/NT nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 0,87, 0,49, 0,78, 0,76 e 0,73, respectivamente (Figura 5.17, A). As medianas de DQOs/NT nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 0,53, 0,37, 0,63, 0,67 e 0,66, respectivamente (Figura 5.17, B). E as medianas de DBO/NT foram de 0,22, 0,16, 0,30, 0,35 e 0,31, respectivamente (Figura 5.17, C). Observa-se que a relação C/N é menor considerando a DBO com relação a DQO total e solúvel.

Figura 5.17 - Box-plots das relações DQOt/NT (A), DQOs/NT (B) e DBO/NT (C) do digestato diluído afluente nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



De acordo com Lackner *et al.* (2014), as estações de NP/A em escala real, em sua maioria, utilizam efluente com relação C/N menor que 1, resultando na dominância de remoção de nitrogênio como acceptor de elétrons dominante. A baixa disponibilidade de matéria orgânica favorece o desempenho de bactérias anammox em detrimento de bactérias desnitrificantes

heterotróficas. No presente estudo, tanto a disponibilidade quanto o consumo de matéria orgânica foram limitados.

Liu *et al.* (2017) através de modelos de simulação observaram que relações C/N de 0,2 a 1 podem promover eficiência de remoção de nitrogênio total de até 90% em sistemas de NP/A. Wen *et al.* (2017) obtiveram eficiências de remoção de DQO e nitrogênio total de 35 a 44 e até 90%, respectivamente, em um sistema de SNAD com relação C/N de 0,2 a 1 com alimentação sintética e adição de glicose como fonte de matéria orgânica.. Assim, mesmo baixa relação C/N pode favorecer a atividade de bactérias heterotróficas, bem como a remoção de nitrogênio via desnitrificação heterotrófica. No entanto, o presente estudo foi realizado com efluente real (digestato de resíduos alimentares), e com baixa degradabilidade, dificultando a assimilação de matéria orgânica por bactérias heterotróficas.

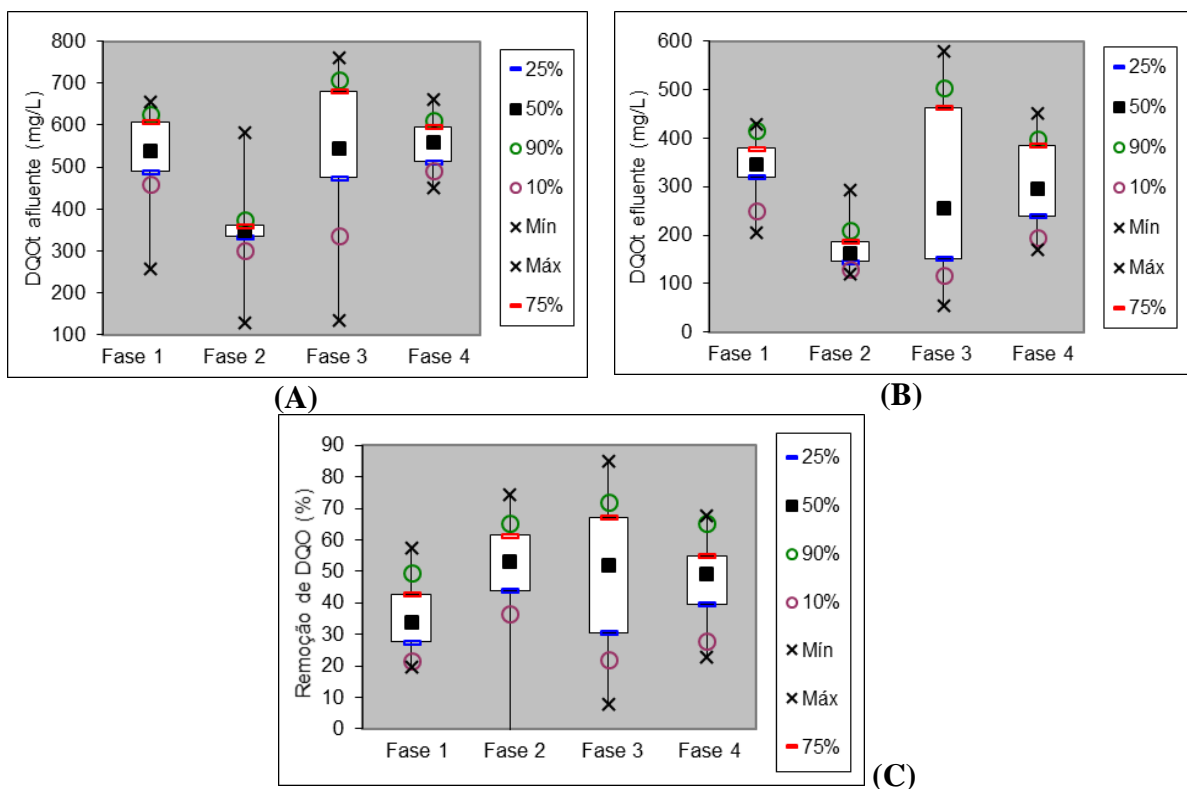
Miao *et al.* (2018) observaram que relações C/N elevadas (2,5) promoveram o aumento da remoção de nitrogênio, no entanto, a atividade anammox permaneceu a mesma de relações C/N inferiores. Os autores concluíram que a remoção de nitrogênio foi promovida por bactérias heterotróficas e que a taxa de crescimento de bactérias anammox foi inibida. Zou *et al.* (2018) observaram que baixas relações DQO/N protegem a atividade anammox da inibição por bactérias heterotróficas desnitrificantes. Os autores constataram que relação C/N igual a 4,5, a atividade de bactérias anammox foi inibida, causando diminuição drástica na eficiência de remoção de nitrogênio. Tomar & Gupta (2017) observaram que a via anammox foi dominante comparada a desnitrificação e degradação anaeróbia sob C/N de 0,04 a 0,75, e que houve predominância de degradação anaeróbia com C/N entre 0,83 a 1,67.

5.2.1 Efeitos da aeração intermitente na dinâmica de compostos orgânicos

Nas fases 1, 2, 3 e 4 foram aplicadas diferentes condições de aeração sob temperatura controlada a 35°C. Observou-se que as concentrações medianas afluentes de DQO total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 539, 349, 546 e 558 (Figura 5.18, A). A variabilidade das concentrações de DQO total era esperada, uma vez que sistemas tratando efluente real estão sujeitos à mudança na composição do efluente. Nota-se que, mesmo sob altas concentrações de matéria orgânica em termos de DQO, o processo anammox não foi inibido, uma vez que o sistema alcançou bom desempenho em termos de remoção de nitrogênio, reportados anteriormente no item 5.1.

As concentrações medianas de DQO total efluente mantiveram-se a 346, 162, 256 e 297 nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. (Figura 5.18, B), indicando que a DQO total não foi totalmente assimilada pelo sistema. As eficiências medianas de remoção de DQO total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 34, 53, 52 e 48%, respectivamente (Figura 5.18, C). Foi observada eficiência negativa de remoção de DQO total na fase 2, que ocorreu devido ao arraste de sólidos e matéria orgânica com o efluente do RBS. Houve diferença significativa nas eficiências de remoção de DQO total entre as fases 1 e 2, 1 e 3. Portanto, a aeração intermitente com 7 min *on* / 21 min *off* com taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L (fase 1) obteve a menor eficiência de remoção de DQO total, enquanto que a condição de 7 min *on* / 14 min *off* (fase 2 e 3, com taxas de oxigênio aplicadas de 0,025 a 0,050 L/min.L, respectivamente) obtiveram eficiências de remoção de DQO total significativamente maiores.

Figura 5.18 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO total no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4



Leal *et al.* (2016) observaram que concentrações de DQO (com efluente sintético e adição de glicose como fonte de matéria orgânica) inibiram o processo anammox. Segundo os autores, com concentração de DQO de 487 mg/L, a eficiência de remoção de N-NH₄⁺ diminuiu de 92

para 22%. Miao *et al.* (2015) observaram que lixiviado de aterro sanitário concentrações de DQO de 600 mg/L não inibem o processo anammox, mas quando estas concentrações aumentaram para 800 mg/L, o processo anammox foi inibido. Zhong *et al.* (2016) aplicaram uma unidade de remoção prévia de DQO e de nitrificação parcial anteriormente ao processo anammox no tratamento de lixiviado, para que concentrações de 2250 mg/L de DQO não inibissem bactérias anammox. Zhang *et al.* (2019) observaram que a aplicação de lixiviado com concentrações de DQO solúvel de 1100 mg/L em sistema NP/A pode ser realizada com desempenho satisfatório do sistema através da alimentação intermitente. A alimentação intermitente evita a inibição do processo anammox por choques de carga de DQO. O presente estudo, com NP/A aplicado ao digestato anaeróbico de resíduos alimentares (diluído de 4x) mostrou que é possível alcançar um adequado desempenho do processo de NP/A, mesmo concentrações de DQO em torno de 550 mg/L.

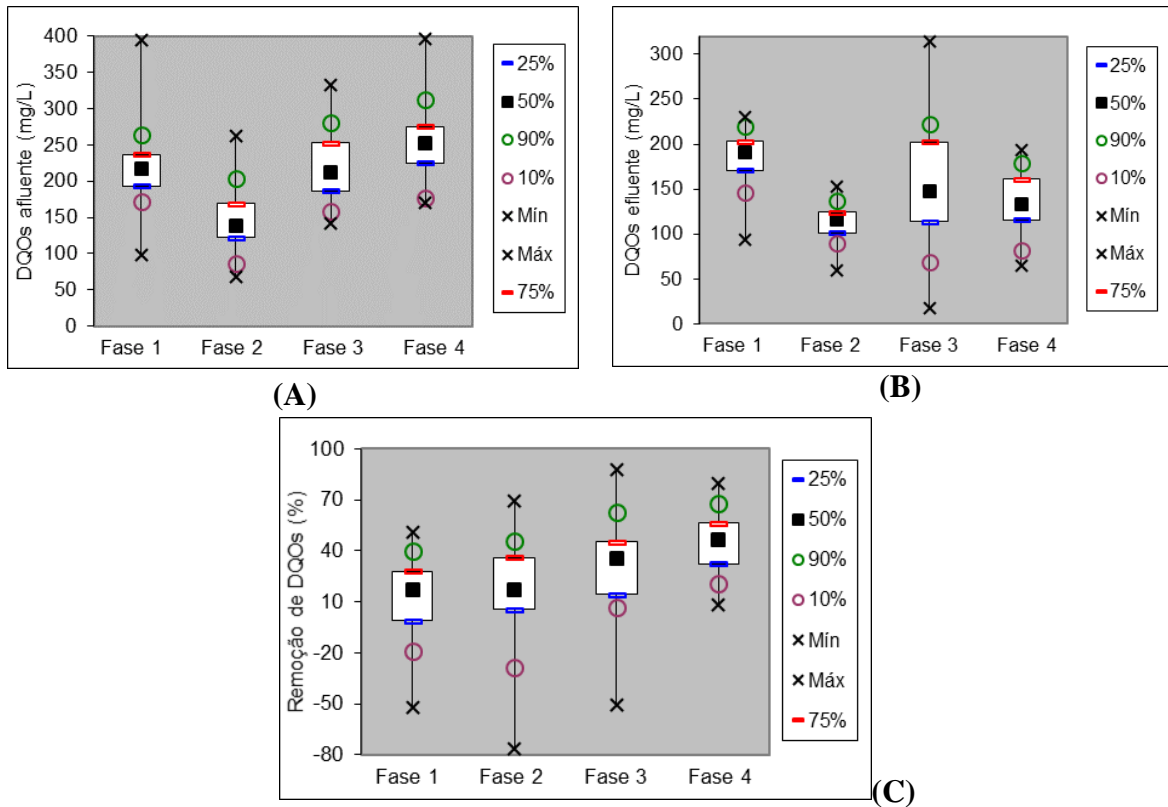
Com relação às concentrações medianas afluentes de DQO solúvel, os valores nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 217, 139, 212 e 253 mg/L, respectivamente (Figura 5.19, A). Nota-se que estas foram muito menores em comparação com as concentrações de DQO total. As concentrações efluentes de DQO solúvel foram nas fases de 1 a 4 foram de 191, 116, 147 e 133 mg/L, respectivamente (Figura 5.19, B). As concentrações medianas de DQO solúvel afluente e efluente foram muito próximas, indicando que este composto não foi assimilado de maneira acentuada.

As eficiências de remoção de DQO solúvel nas fases de 1 a 4 foram de 17, 17, 35 e 46 %, respectivamente (Figura 5.19, C). Nota-se que as eficiências de remoção de DQO solúvel foram muito inferiores às eficiências de DQO total, principalmente nas fases 1 e 2. Houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de DQO solúvel entre as fases 1 e 4 e fases 2 e 4. Portanto, a assimilação da DQO solúvel pelo sistema foi significativamente maior na fase 4 (tempos aeróbio/anóxico de 7 min/7 min, e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L) em comparação às fases 1 e 2 (com taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L, e tempos aeróbios/anóxicos de 7 min / 21 min e 7 min / 14 min, respectivamente).

De acordo com Von Sperling (2011), a matéria orgânica solúvel podem ser assimiladas mais rapidamente por bactérias heterotróficas, uma vez que não é necessário realizar a hidrólise desse composto antes da assimilação. No entanto, de acordo com o mesmo autor, a DQO solúvel

também é constituída de matéria inerte, que não pode ser metabolizada por microrganismos. Nesse sentido, o monitoramento de DBO pode subsidiar uma melhor percepção sobre a atividade de bactérias heterotróficas, por ser uma medida indireta da concentração de matéria orgânica biodegradável capaz de ser assimilada pela comunidade microbiana.

Figura 5.19 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO solúvel no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4

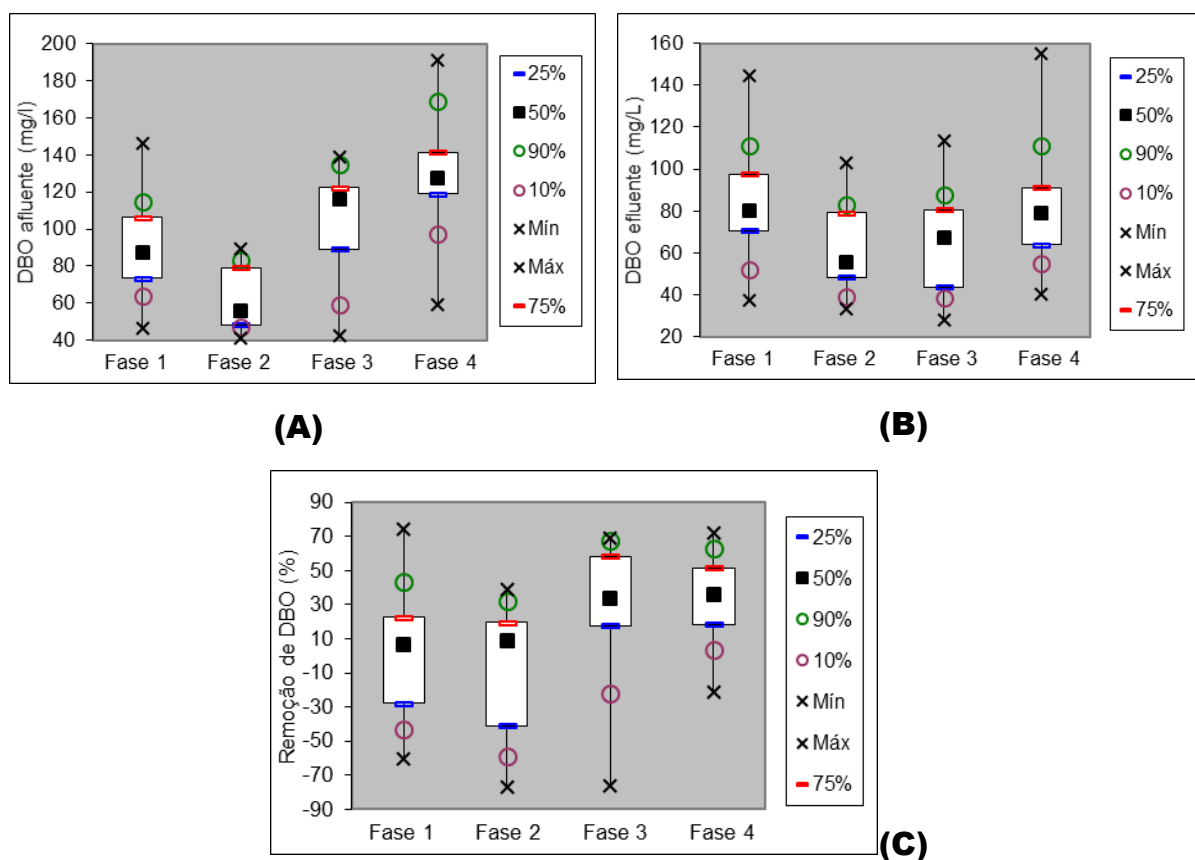


As concentrações medianas afluentes de DBO nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 87, 56, 116 e 128 mg/L, respectivamente (Figura 5.20, A). Esses valores foram menores em comparação com as concentrações afluentes de DQO total e DQO solúvel, confirmando que os compostos orgânicos presentes no digestato contém baixa degradabilidade. As concentrações medianas efluentes de DBO foram de 80, 56, 67 e 79 mg/L, respectivamente (Figura 5.20, B). Este composto também não foi totalmente assimilado no sistema, assim como a DQO total e solúvel.

As eficiências de remoção de DBO medianas nas fases de 1 a 4 foram de 6, 9, 34 e 36%, respectivamente (Figura 5.20, C). Portanto, as condições operacionais na fase 4 favoreceram a atividade heterotrófica através do consumo da DBO. Houve diferença significativa entre as

remoções de DBO somente entre as fases 2 (9%) e 4 (36%). Adicionalmente, as fases 2 e 4 têm condições operacionais distintas, com taxas de oxigênio aplicada de 0,025 a 0,050 L/min.L, respectivamente, e tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min e 7 min/7min, respectivamente. Assim, o maior consumo de DBO pode ter sido causado por um destes dois fatores. No entanto, no geral, o consumo de DBO foi discreto em todas as fases. Portanto, as condições no sistema limitaram a atividade de bactérias heterotróficas. Além disso, foram observadas eficiências de remoção de DQO negativas nas fases 1, 2, 3 e 4.

Figura 5.20 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DBO no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4



Os dados deste estudo corroboram com Miao *et al.* (2015), que observaram que em sistema anammox tratando lixiviado de aterro sanitário, a desnitrificação heterotrófica foi limitada em virtude da limitação de compostos orgânicos biodegradáveis, mesmo com concentrações de DQO de 600 ± 50 mg/L. No entanto, quando a concentração de DQO subiu

para 800 ± 50 mg/L, houve efeitos adversos à comunidade anammox em virtude da inibição causada pela matéria orgânica não biodegradável.

Tomar & Gupta (2017) obtiveram eficiência de DQO de 95% em reator anammox de fluxo ascendente. Lan *et al.* (2011) alcançaram eficiência de DQO de 87% em sistema SNAD Wang *et al.* (2016) alcançaram eficiência de remoção de DQO de 62% tratando lixiviado em sistema anammox de dois estágios. Em relações a estes, o presente estudo apresentou remoções de matéria orgânica em termos de DQO total, DQO solúvel e DBO muito inferiores em todas as fases.

5.2.2 Efeitos de diferentes temperaturas na dinâmica dos compostos orgânicos

As fases 3 e 5 tiveram as mesmas condições de aeração intermitente (7 min *on* /14min *off*), com taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L. No entanto, a fase 3 foi operada sob temperatura de 35°C e a fase 5 sob temperatura ambiente, que variou de 26 a 29°C. Na fase 3, a temperatura foi mantida a 35°C, por esta temperatura estar na faixa de crescimento e atividade ótimos de bactérias anammox. No entanto, para aplicação do processo em sistemas em escala real, o controle da temperatura é inviabilizado pelos altos custos envolvidos, além da complexidade operacional. Por isso, após estabelecer a melhor condição de aeração intermitente, o RBS com processo de NP/A foi operado a temperatura ambiente (de 26 a 29°C, com mediana de 28°C) para avaliar a aplicabilidade deste processo sem o controle da temperatura.

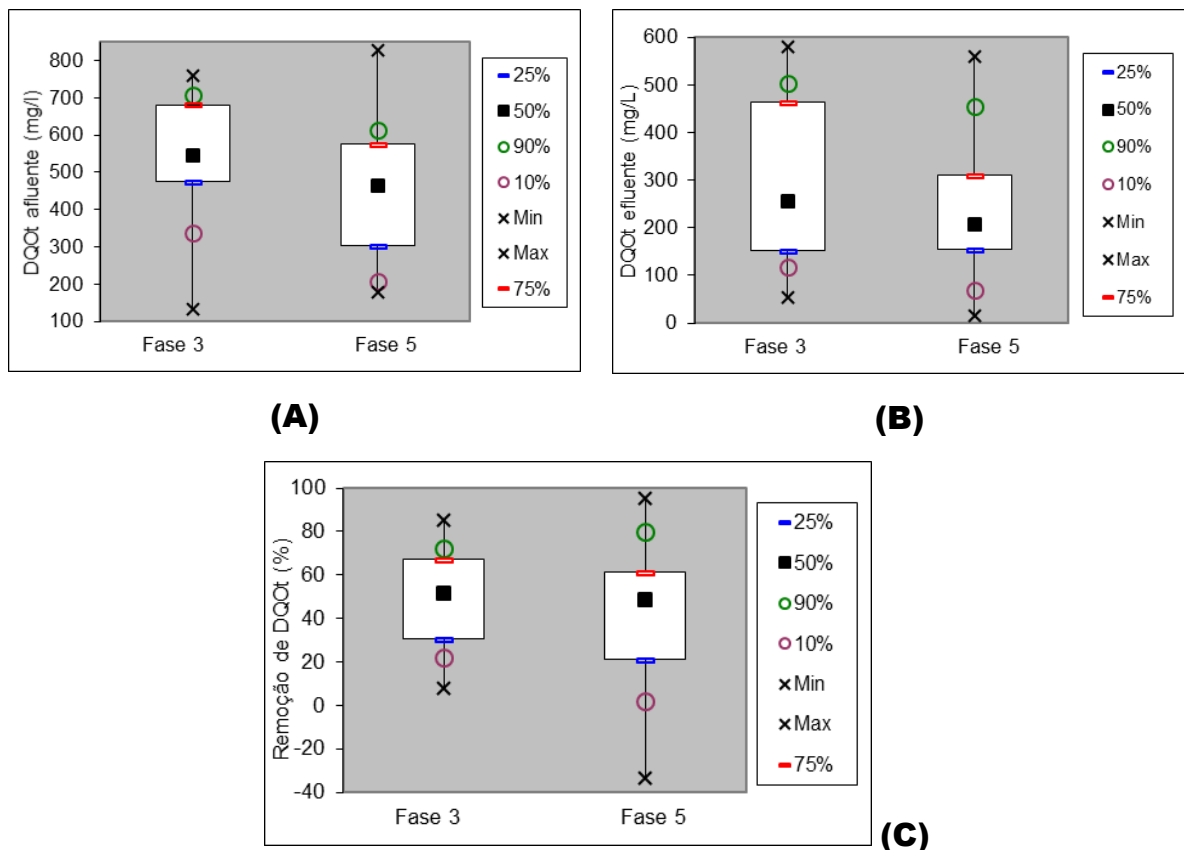
Com relação a DQO total afluyente, as concentrações medianas nas fases 3 e 5 foram de 546 e 465 mg/L, respectivamente (Figura 5.21, A). As concentrações medianas efluentes nas fases 3 e 5 foram de 256 e 208 mg/L, respectivamente (Figura 5.21, B). Novamente, nota-se que o sistema não foi capaz de assimilar grande parte da DQO total, conferindo altas concentrações efluentes deste composto e indicando uma limitação do sistema na assimilação do mesmo..

As eficiências medianas de remoção de DQO total foram de 52 e 49%, respectivamente (Figura 5.21, C). Foi observado que na fase 5, houve remoção negativa de DQO total, que pode ser sido causada pelo arraste de matéria orgânica juntamente com o efluente tratado. Uma vez que a temperatura ambiente (de 26 a 29°C) nesta fase foi inferior a temperatura anteriormente de 35°C. A sedimentação das partículas é desacelerada com a diminuição da temperatura, em

virtude do aumento da viscosidade do fluido. A desaceleração de partículas potencializa a retirada destas no sistema, configurando a saída de sólidos, de matéria orgânica e outros compostos.

Apesar da eficiência de remoção ter sido ligeiramente maior na fase 3 (temperatura de 35°C) em relação a fase 5 (temperatura ambiente), não houve diferença significativa na remoção de DQO total entre as fases 3 e 5. Portanto, a mudança de temperatura de 35°C para temperatura ambiente (mediana igual a 28°C) no RBS com NP/A sob aeração intermitente (7min *on*/14min *off*) e taxa de ar aplicada de 0,050L/min.L não alterou significativamente o consumo de DQO total.

Figura 5.21 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO total no RBS nas fases 3 e 5

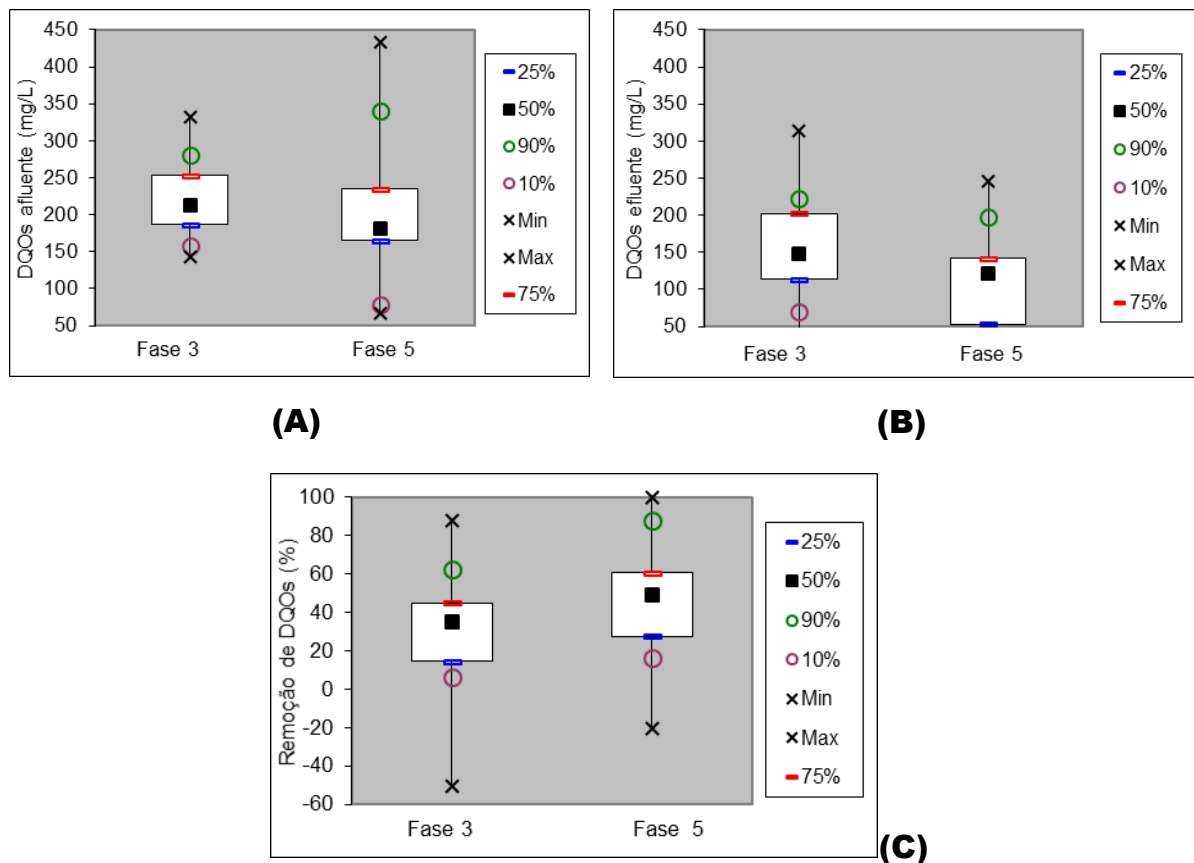


Considerando a DQO solúvel afluente, as concentrações medianas nas fases 3 e 5 foram de 212 e 182 mg/L, respectivamente (Figura 5.22, A). As concentrações medianas efluentes de DQO solúvel nas fases 3 e 5 foram de 147 e 121 mg/L, respectivamente ((Figura 5.22, B). Já as eficiências medianas de remoção de DQO solúvel foram de 35 e 49%, respectivamente (Figura

5.22, C). Foram observadas eficiências de remoção de DQO solúvel negativas nas duas fases, que podem ter sido causadas em virtude do acúmulo excessivo de DQO solúvel no sistema devido ao longo tempo de sedimentação para posterior descarte (1 a 1,5h), e também pelo decaimento de alguns grupos microbianos, como bactérias heterotróficas. Segundo Von Sperling (2014), o decaimento de bactérias heterotróficas gera resíduo inerte e matéria orgânica carbonácea.

Assim, como para DQO total, não houve diferença significativa na remoção de DQO solúvel entre as fases 3 e 5. Portanto, pode se concluir que no RBS com NP/A sob aeração intermitente (7min *on*/14min *off*) e taxa de ar aplicada de 0,050L/min.L_{reator}, a mudança de temperatura de 35°C para 26 a 29°C não alterou significativamente o consumo de DQO solúvel, embora a remoção na fase 5 tenha sido superior a remoção na fase 3.

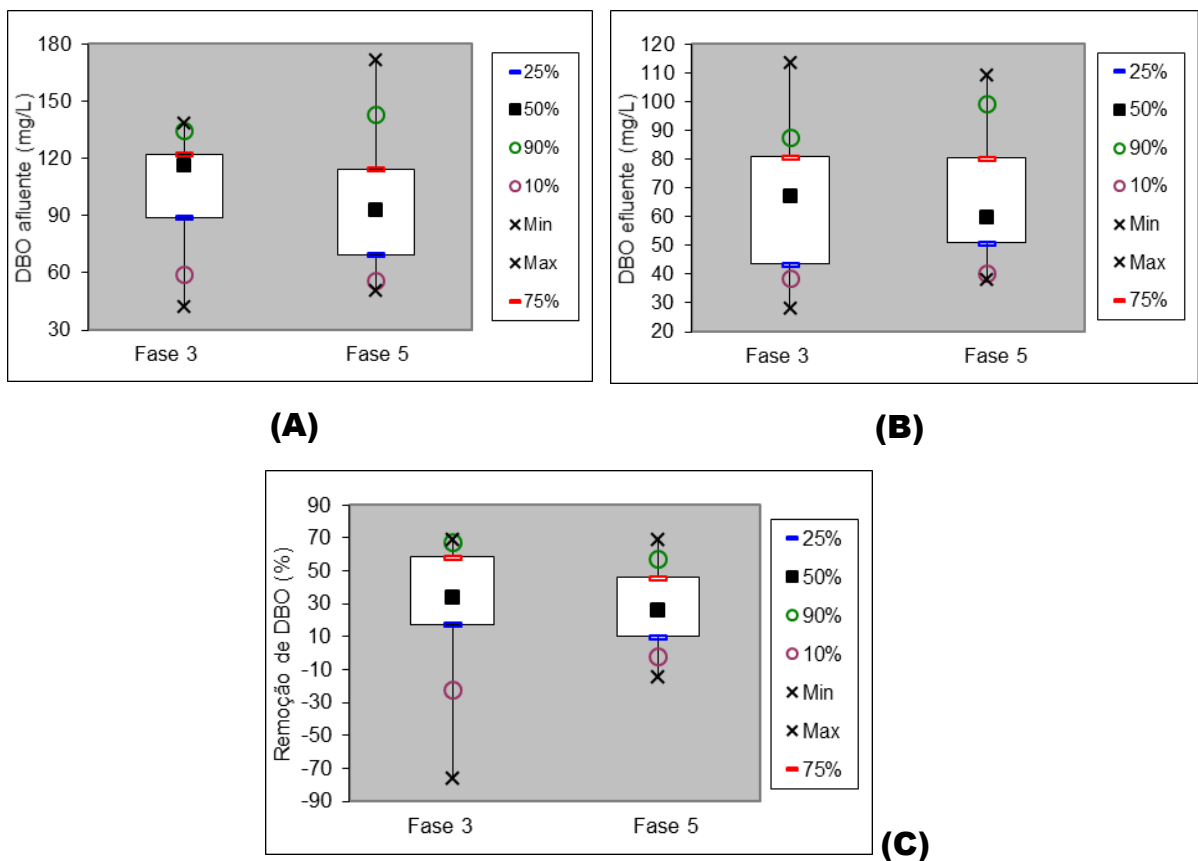
Figura 5.22 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DQO solúvel no RBS nas fases 3 e 5



Para a DBO afluyente, as concentrações medianas nas fases 3 e 5 foram de 116 e 93 mg/L, respectivamente (Figura 5.23, A). As concentrações medianas efluentes de DBO nas fases 3 e

5 foram de 67 e 60 mg/L, respectivamente (Figura 5.23, B). Já as eficiências de remoção foram de 34 e 26%, respectivamente (Figura 5.23, C). Novamente, nota-se que o sistema não foi capaz de assimilar grande parte da DBO, assim como ocorreu para DQO total e solúvel nas fases 3 e 5. Não houve diferença significativa na remoção de DBO nas fases 3 e 5, embora a fase em temperatura ambiente (fase 5) tenha apresentado menor consumo de DBO em relação a fase sob temperatura de 35°C (fase 3). Portanto, pode se concluir que no RBS com NP/A sob aeração intermitente (7min *on*/14min *off*) e taxa de ar aplicada de 0,050L/min.L, a mudança de temperatura de 35°C para temperatura ambiente (mediana igual a 28°C) não alterou significativamente o consumo de DBO.

Figura 5.23 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg/L, e das eficiências de remoção (C), em porcentagem, de DBO no RBS nas fases 3 e 5



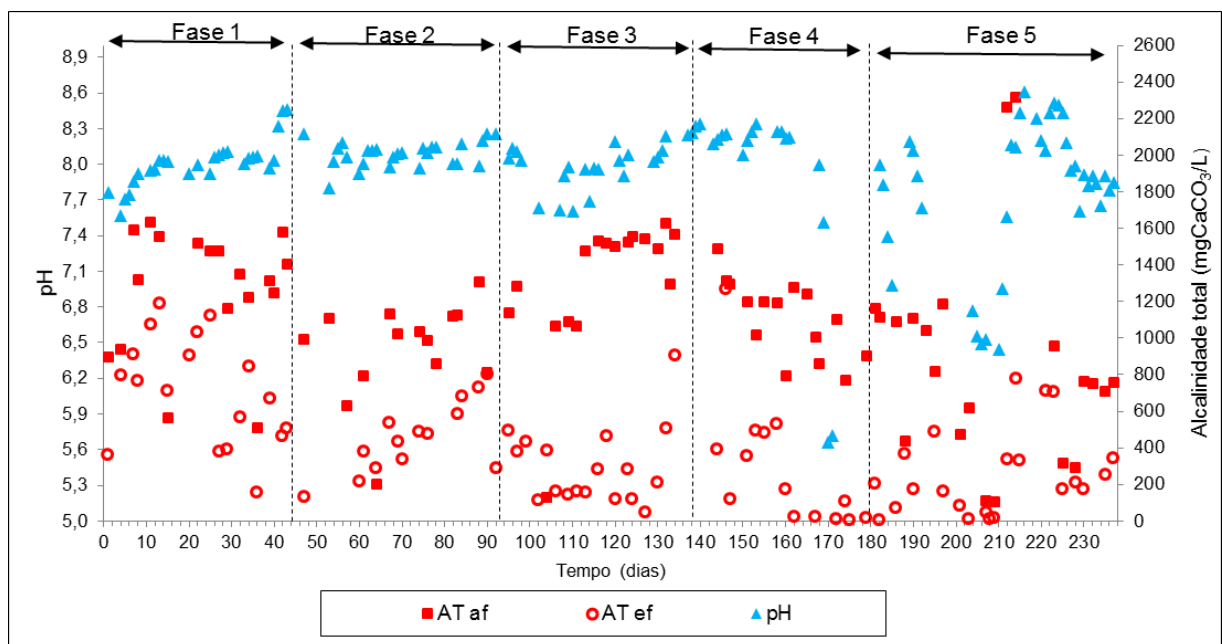
5.3 Dinâmica das variáveis relacionadas à estabilidade do sistema

As variáveis pH, temperatura (°C), OD (mg/L) e alcalinidade total (mgCaCO₃/L) estão relacionadas a estabilidade do sistema e tiveram diferentes comportamentos e tendências

durante os testes de aeração intermitente (exceto temperatura, que, nas fases 1, 2, 3 e 4 foi mantida a 35°C). Essas variáveis influenciam fortemente na estabilidade do processo, uma vez que controlam as reações em processos como a NP/A.

A dinâmica de alcalinidade total e pH ao longo da operação do sistema está exposta na Figura 5.24. Nota-se que, mesmo com a nitrificação parcial, processo que consome alcalinidade, esta não foi totalmente consumida. Portanto, o digestato com elevadas concentrações de alcalinidade (variando de 100 a 1500 mgCaCO₃/L) é promissor para a aplicação do processo de NP/A, prevenindo o sistema de frequentes diminuições bruscas de pH, que poderia levar a instabilidade do processo e conseqüentemente afetar o desempenho do sistema. No entanto, é possível notar alguns episódios de consumo da alcalinidade e diminuição do pH acentuados nas fases 4 e 5. Esses episódios não foram frequentes, o que significa que, no geral, foi mantida a estabilidade no sistema.

Figura 5.24 - Série temporal da dinâmica das concentrações afluentes e efluentes de alcalinidade total (AT) e do pH no sistema nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



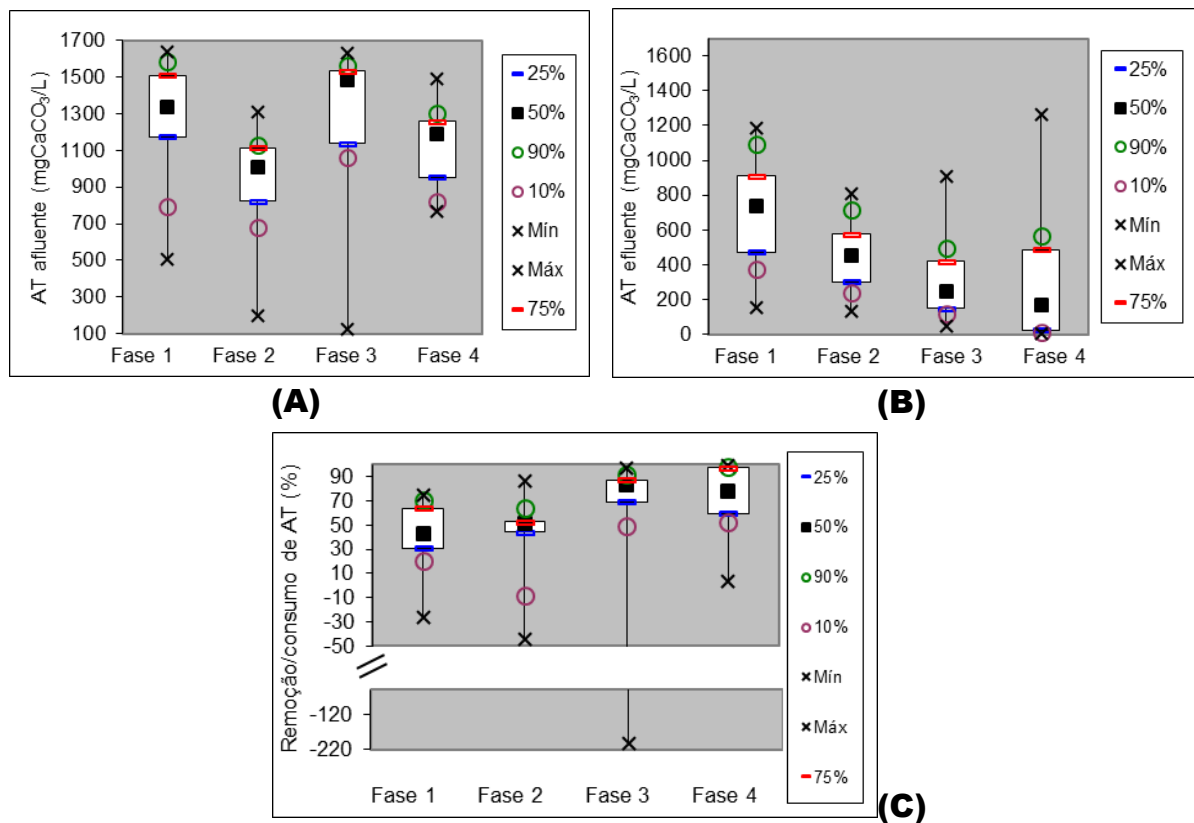
Houve também alguns episódios de concentrações de alcalinidade total afluentes maiores em comparação com a concentração efluente. De acordo com Santos *et al.* (2016), embora o processo de nitrificação seja responsável pelo consumo de alcalinidade total, os processos de amonificação, desnitrificação heterotrófica e processo anammox são processos produtores de

alcalinidade. Da mesma forma, o alto TDH do sistema pode ter favorecido o acúmulo de alcalinidade.

5.3.1 Efeitos das estratégias de aeração no consumo de alcalinidade

Nas fases 1, 2, 3 e 4, a alcalinidade do digestato diluído aplicado no RBS foi elevada, com concentrações medianas de 1333, 1009, 1486 e 1190 mg/L, respectivamente (Figura 5.25, A). As concentrações medianas de alcalinidade total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 739, 453, 249 e 171 mg/L, respectivamente (Figura 5.25, B). Já a eficiência de remoção (percentual de consumo) de alcalinidade total nas fases 1, 2, 3 e 4 foram de 34, 52, 83 e 72%, respectivamente (Figura 5.25, C).

Figura 5.25 - Box-plots das concentrações afluentes (A) e efluentes (B), em mg CaCO₃/L, e da remoção/consumo (C) (%), de alcalinidade total no RBS nas fases 1, 2, 3 e 4



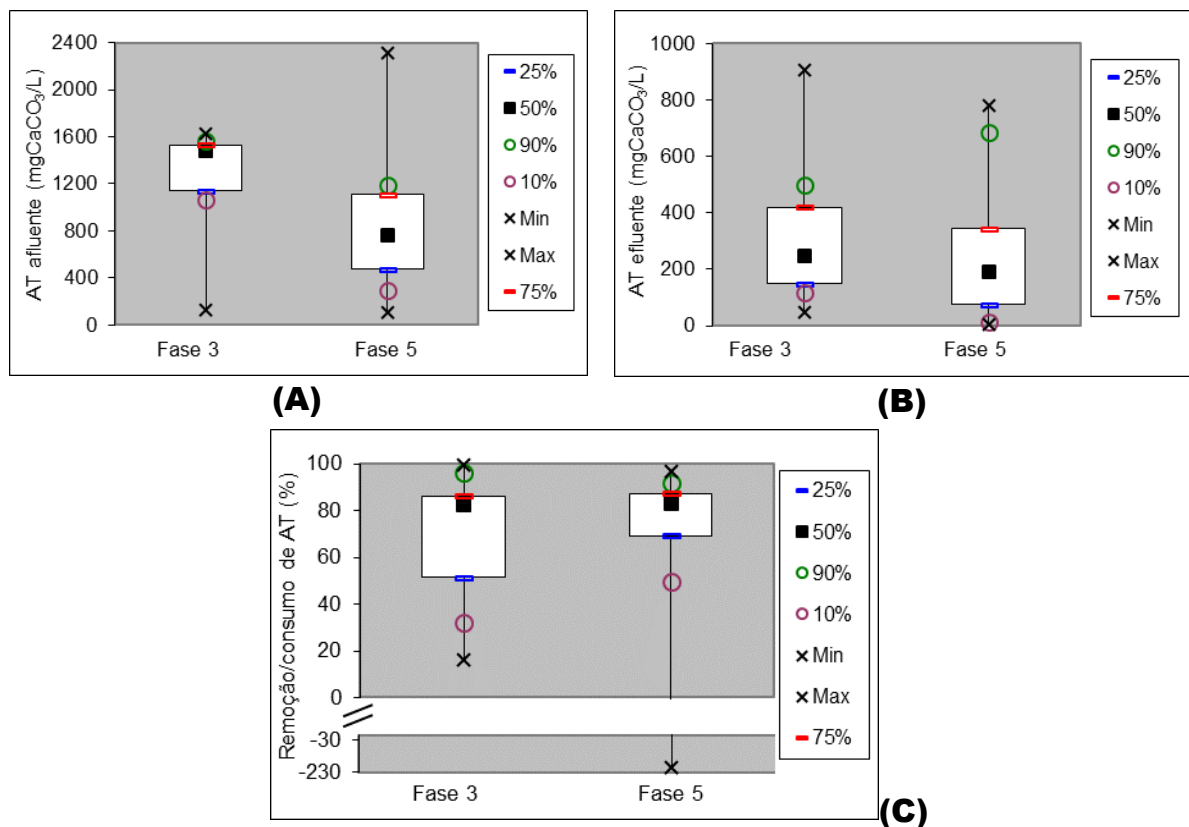
Houve diferença significativa entre o consumo de alcalinidade total entre as fases 1 e 3, 1 e 4, 2 e 3 e 2 e 4. Portanto, a mudança de tempos aeróbio/anóxico de 7 min / 21 min (fase 1) para 7 min/14 min (fase 2), sob taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L não alterou significativamente o consumo de alcalinidade total no sistema. Da mesma forma, a mudança de tempos

aeróbio/anóxico de 7 min/14 min (fase 3) para 7 min/7 min (fase 4), sob taxa de ar aplicada de 0,050L/min.L também não alterou significativamente o consumo de alcalinidade total no sistema. No entanto, a mudança de taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L (fases 1 e 2) 0,050 L/min.L (fase 3 e 4) ocasionou diferença significativa quanto ao consumo de alcalinidade total. Portanto, o fator decisivo para o aumento significativo do consumo de alcalinidade total foi a taxa de ar aplicada e não as diferentes estratégias de tempos aeróbio/anóxico. Esse resultado sugere que a nitrificação parcial foi mais efetiva nas fases com taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L (fases 3 e 4).

5.3.2 Efeitos de diferentes temperaturas no consumo de alcalinidade

Nas fases 3 e 5, as concentrações medianas de alcalinidade total afluyente foram de 1486 e 765 mg/L, respectivamente (Figura 5.26, A). Já as medianas das concentrações efluentes de alcalinidade total nas fases 3 e 5 foram de 249 e 190 m/L, respectivamente (Figura 5.26, B).

Figura 5.26 - Alcalinidade afluyente (A), efluente (B), em mgCaCO₃/L, e eficiência de remoção/consumo (%) (C) nas fases 3 e 5.



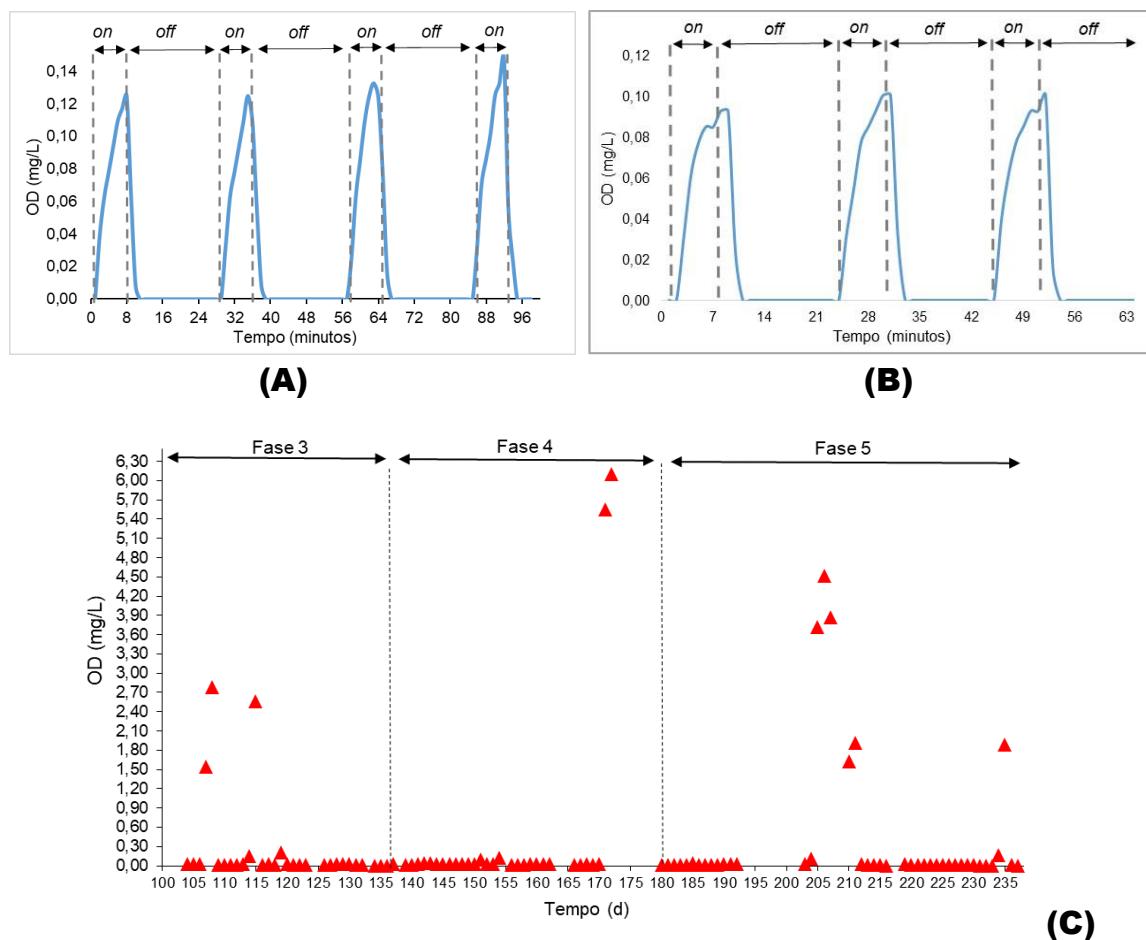
As eficiências de remoção (percentual de consumo) de alcalinidade total nas fases 3 e 5 foram de 83 e 85%, respectivamente (Figura 5.26, C). Não houve diferença significativa no consumo de alcalinidade total entre as fases 3 e 5. Portanto, a mudança de temperatura de 35°C (fase 3) para temperatura ambiente (de 26 a 29°C, fase 5) não afetou significativamente o consumo de alcalinidade total no sistema.

Durante as fases 1 e 2, não foi realizado o monitoramento diário das concentrações de OD, no entanto, foi traçado o perfil das concentrações de OD ao longo dos períodos aerados/não aerados no final de cada fase (Figura 5.27, A e B). Foi observada nestas duas fases que o perfil de OD realizado ao final de cada fase apresentou comportamento semelhante, mesmo com diferenças nos períodos aeróbios/anóxicos (7min/21min na fase 1, e 7min/14min na fase 2, sob taxa de ar aplicada de 0,025L/min.L). Durante o período aerado (7 minutos em ambas as fases), houve um pico na concentração de OD, ainda que com valores sempre baixos, que poucos minutos após o desligamento do compressor de ar, voltou a concentração nula, de 0 mg/L. Esses resultados indicam o rápido consumo de OD no meio, sendo consumido tão logo era fornecido ao sistema.

A partir da fase 3, a instalação de software, que propiciou a gravação dos dados de OD a cada minuto e posterior exportação destes dados, permitiu o melhor monitoramento desta variável ao longo da operação do sistema. Foi possível observar que as concentrações de OD nas fases 3, 4 e 5 mantiveram-se abaixo de 0,20 mg/L, exceto por alguns picos de OD nestas fases (Figura 5.27, C). Na fase 3, os picos nas concentrações de OD ocorreram após finais a falta de operação em finais de semana, concomitantemente com concentrações efluentes de N-NH_4^+ nulas. Este fato sugere que houve o acúmulo de OD foi ocasionado pela ausência da nitrificação, uma vez que o substrato para a reação foi totalmente consumido no meio.

As concentrações médias de OD nas fases 1, 2 considerando apenas o período aerado foram de 0,080 e 0,070 mg/L. Para as mesmas fases, considerando tanto os períodos aerados e anóxicos, nas concentrações médias de OD nas fases 1 e 2 foram de 0,030 e 0,026 mg/L. Já as concentrações medianas de OD ao longo de todo o ciclo de operação nas fases 3, 4 e 5 foram de 0,020, 0,029 e 0,016 mg/L, respectivamente. Por conta dos picos nas concentrações de OD após finais de semana sem operação, os valores máximos obtidos nas fases 3, 4 e 5 foram de 2,781, 6,102 e 4,514 mg/L, respectivamente (Tabela 5.1).

Figura 5.27 - Perfis das concentrações de OD (mg/L) no final das fases I (A), II (B), e médias diárias das concentrações de OD (mg/L) nas fases III e IV (C)



Segundo Seuntjens *et al.*(2018), mesmo concentrações muito reduzidas de OD podem ter efeitos deletérios à biomassa anammox. Os autores constataram que concentrações de OD de 0,06-0,12 a 1 mg/L provocaram perdas irreversíveis na atividade anammox de 5 a 9%, respectivamente. Assim como a recuperação é menor devido a longos tempos de contato (9 a 24h) com concentrações de inibição de 0,5 a 8 mg/L. Portanto, os pontuais aumentos excessivos da concentração de OD no sistema podem ter levado a instabilidade temporária no sistema.

Tabela 5.1 - Estatística descritiva das concentrações de OD nas fases 1, 2, 3, 4 e 5

Fase	Número de dados	Média aritmética	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
1*	98	0,030	0,000	0,000	0,148
2*	66	0,026	0,000	0,000	0,100
3**	31	0,250	0,020	0,005	2,781
4**	31	0,406	0,029	0,011	6,102
5**	44	0,418	0,016	0,000	4,514

* Monitoramento somente ao final da fase; ** Monitoramento diário

Não houve diferença significativa entre as concentrações de OD nas fases 1 e 2. Portanto, a mudança dos tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/21 min para 7 min/14 min sob taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L não alterou significativamente a concentração de OD no RBS. Houve diferença significativa entre as concentrações de OD nas fases 3 e 4. Portanto, a mudança dos tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min para 7 min/7 min sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L aumentou significativamente a concentração de OD no RBS. Não houve diferença significativa entre as concentrações de OD nas fases 3 e 5. Portanto, sob períodos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L, a mudança de temperatura de 35°C (fase 3) para 26 a 29°C (fase 5) não alterou significativamente a concentração de OD no RBS.

Lan *et al.* (2011) observaram que concentrações de OD superiores a 2 mg/L em um RBS podem levar a nitrificação completa, enquanto que concentrações inferiores a 0,5 mg/L podem reduzir a taxa de nitrificação parcial e o desempenho do sistema. No entanto, o presente estudo mostrou que o consumo de OD pode ser demasiadamente acelerado, e como resposta, a concentração de OD no sistema mantém-se em níveis baixos.

Portanto, baixos níveis de OD não significam que não haja fornecimento adequado de OD para o sistema, mas podem significar que este é rapidamente consumido pela comunidade microbiana. Ratificando este argumento, Miao *et al.* (2016) observaram que uma vez que a aeração era retomada após o período anóxico, a taxa de consumo de OD aumentava rapidamente.

Ma *et al.* (2015) observaram através do monitoramento contínuo de OD e $N-NH_4^+$ que a concentração média de OD era de 0,15 mg/L durante a oxidação de NH_4^+ , após essa reação, o nível de OD aumentava para 0,5 mg/L e o compressor era desligado, dando início a fase anóxica. Portanto, sistemas inteligentes de controle de OD considerando as concentrações de $N-NH_4^+$ otimizam o controle operacional de sistemas NP/A em comparação a sistemas com tempos aeróbios/anóxicos fixos.

Zou *et al.* (2018) observaram que em um fotobiorreator com sistema SNAD, concentrações de cerca de 0,8 mg/L ocasionaram a drástica diminuição de remoção de nitrogênio em função do crescimento excessivo de BON e acúmulo de $N-NO_3^-$. Por outro lado, reatores MBBR com NP/A parecem suportar maiores concentrações de OD sem a nitrificação total. Yang *et al.*

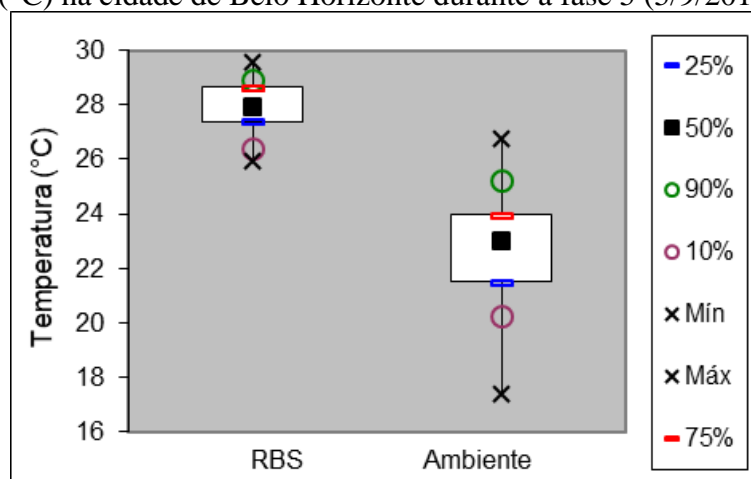
(20145) observaram concentrações de OD de 1,5 a 2,5 mg/L, com cargas de nitrogênio removidas de 2 a 2,5 gN/m³.d. Nesse sentido, MBBR podem requerer maior fornecimento de OD para a NP/A, elevando os custos energéticos.

Segundo Liu *et al.* (2017), o consumo de oxigênio para oxidar a matéria orgânica pode ser benéfico para proteger bactérias anammox, e manter a atividade anammox estável. Os autores observaram que o OD manteve-se a cerca de 0,4 mg/L devido ao consumo para a oxidação da matéria orgânica.

5.3.3 Temperatura

Durante as fases 1, 2, 3 e 4, a temperatura no RBS foi mantida a 35°C. Na fase 5, o sistema de controle da temperatura foi desligado e o RBS foi mantido a temperatura ambiente. A temperatura ambiente na fase 5 variou de 26 a 30°C, com mediana igual a 28°C (Figura 5.28). De acordo com dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2018), a temperatura na cidade de Belo Horizonte durante a fase 5 (de 9/10/2018 a 5/12/2018, na primavera) variou de 17 a 27°C, com mediana igual a 23°C (Figura 5.28). Portanto, a temperatura no interior no reator foi ligeiramente maior do que a temperatura média da cidade onde este situa-se.

Figura 5.28 – Box-plot da temperatura média diária no líquido (°C) no RBS e temperatura média do ar (°C) na cidade de Belo Horizonte durante a fase 5 (5/9/2018 a 5/12/2018)

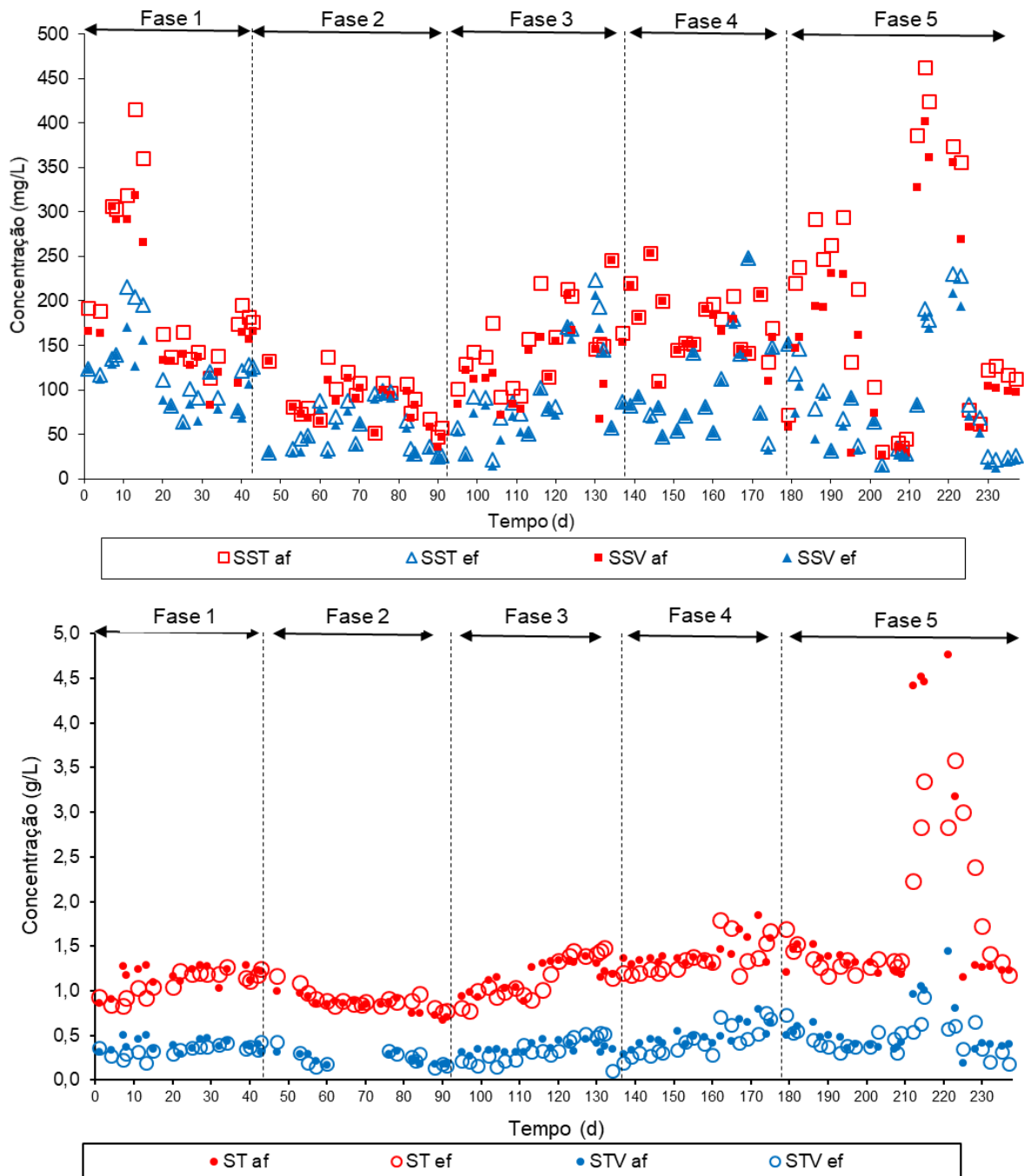


5.4 Dinâmica de sólidos no sistema

As concentrações afluentes e efluentes de ST foram muito superiores às concentrações afluentes e efluentes de STV, enquanto que a variação entre SST e SSV, uma vez que grande parte dos

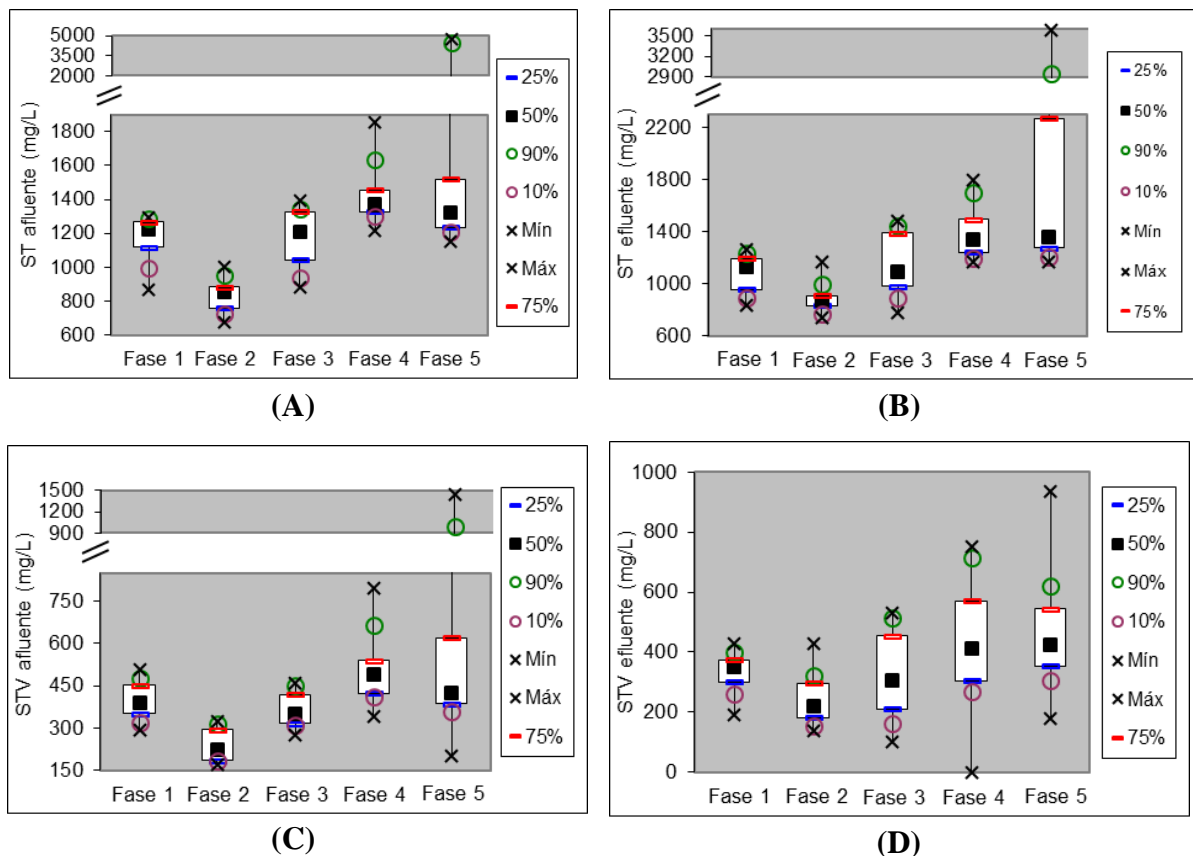
SST correspondiam à fração volátil (SSV) (Figura 5.29).. Na fase 5, houve um pico de sólidos afluente ao sistema, em termos de ST e SST.

Figura 5.29 - Série temporal da dinâmica das concentrações afluentes e efluentes de SST e SSV (mg/L) e de ST e STV (g/L), respectivamente, nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



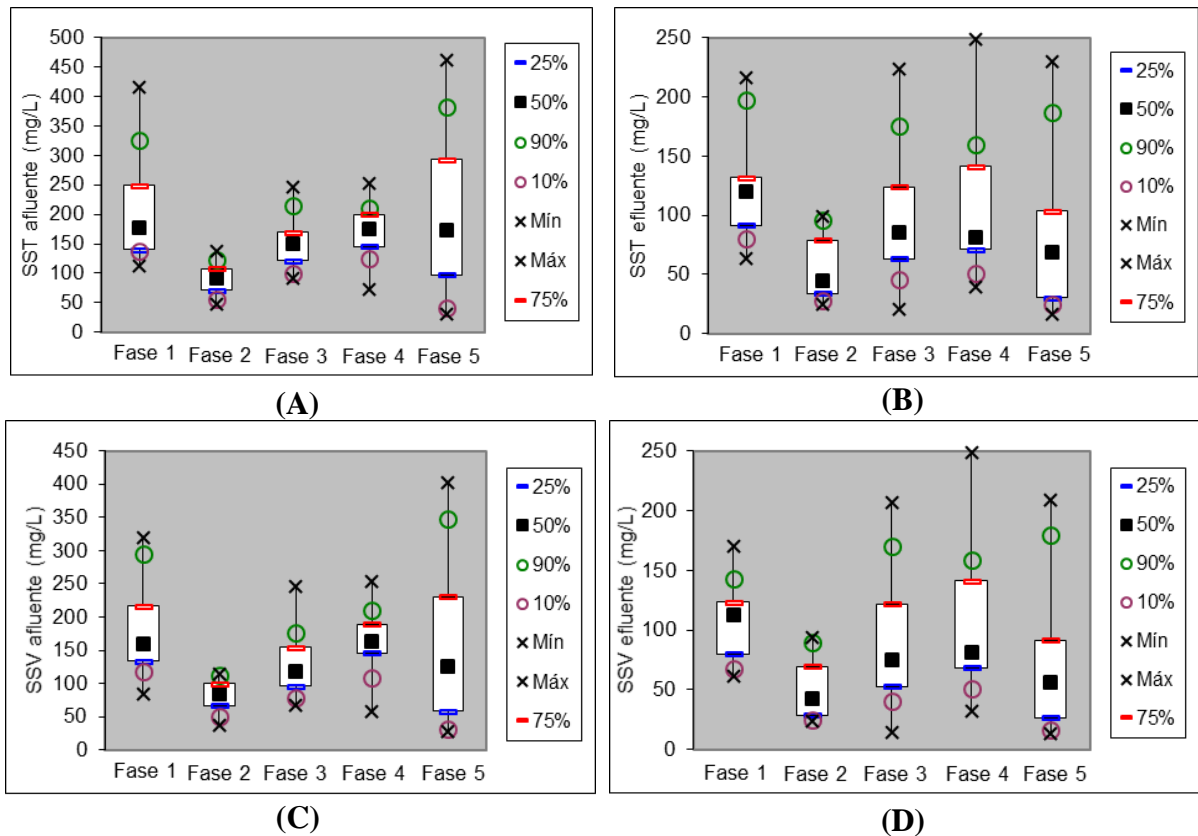
As concentrações medianas afluentes de ST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 1220, 860, 1210, 1370 e 1320 g/L, respectivamente (Figura 5.30, A). Já as concentrações medianas efluentes de ST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 1130, 880, 1090, 1340 e 1360 g/L, respectivamente (Figura 5.30, B). As concentrações medianas afluentes de STV nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 390, 220, 350, 490 e 420 g/L, respectivamente (Figura 5.30, C). Já a concentrações medianas efluentes de STV foram de 350, 220, 300, 420 e 420 g/L, respectivamente (Figura 5.30, D).

Figura 5.30 - Box-plots das concentrações afluentes e efluentes (mg/L) de ST (A e B), STV (C e D) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



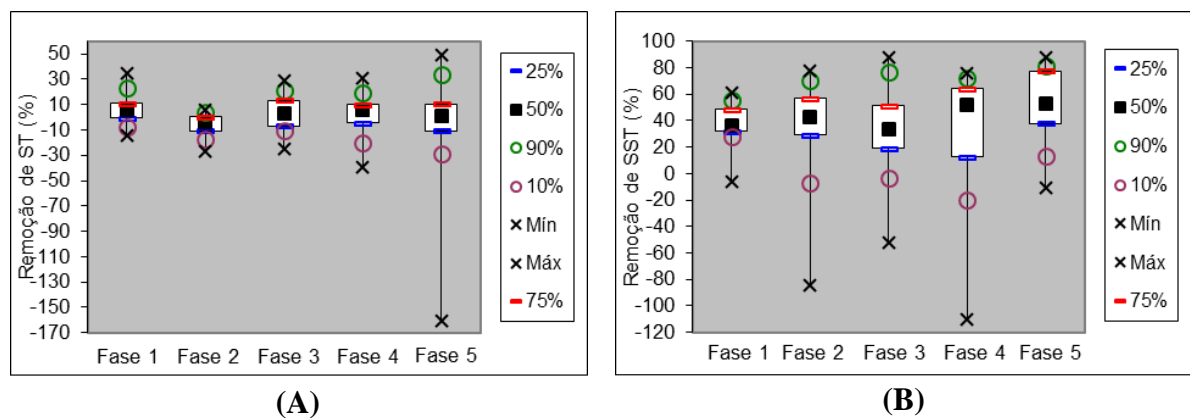
As concentrações medianas afluentes de SST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 177, 149, 174 e 172 mg/L, respectivamente (Figura 5.31, A). As concentrações medianas efluentes de SST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 120, 45, 85, 81 e 68 mg/L, respectivamente (Figura 5.31, B). As concentrações medianas afluentes de SSV nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 159, 83, 118, 162 e 126 mg/L, respectivamente (Figura 5.31, C). E as concentrações medianas efluentes de SSV nestas mesmas fases foram de 112, 43, 74, 81 e 56 mg/L, respectivamente (Figura 5.31, D). Os sólidos efluentes podem não ter relação com os sólidos afluentes, uma vez que a maioria é formada por sólidos biológicos que são produzidos no sistema.

Figura 5.31 - Box-plots das concentrações afluentes e efluentes (mg/L) de SST (A e B), SSV (C e D) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



As eficiências de remoção medianas de ST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 6, -4, 3, 9 e 1%, respectivamente. Houve diferença significativa somente entre as fases 1 e 2, quanto a eficiência de remoção de ST. Portanto, a mudança de períodos aeróbios/anóxicos de 7 min/21min (fase 1) para 7min/14min (fase 2) diminuiu significativamente a eficiência de remoção de sólidos no sistema.

Figura 5.32 -Eficiências de remoção (%) de ST (A) e SST (B) nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



As eficiências de remoção medianas de SST nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 36, 42, 34, 52 e 531%, respectivamente (

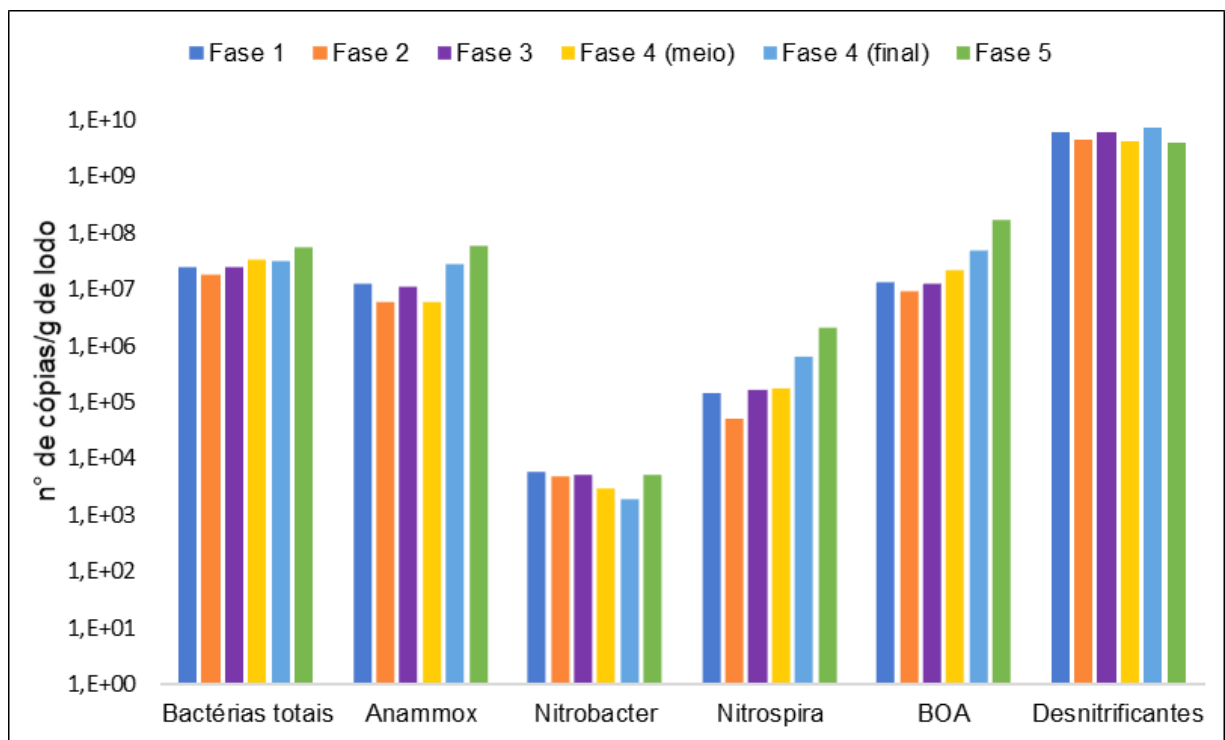
Figura 5.32, B). Não houve diferença significativa entre as eficiências de remoção de SST entre as fases 1 a 5. Portanto, as diferentes estratégias de aeração e diferentes temperaturas de operação não alteraram significativamente a eficiência de remoção (retenção) de SST no sistema.

5.5 Avaliação da comunidade microbiana

5.5.1 Dinâmica de microrganismos envolvidos no ciclo no nitrogênio através da qPCR

A dinâmica das concentrações de bactérias anammox, *Nitrobacter*, *Nitrospira* (estimadas através da quantificação n° de cópias de RNAr 16S /g de lodo) e de BOA e bactérias desnitrificantes (estimadas, respectivamente, por meio do n° de cópias de *AmoA*/ g de lodo e n° de cópias de *nosZ*/ g de lodo) ao final das fases 1, 2, 3, 4 e 5, e na metade da fase 4 estão apresentadas na Figura 5.33 e na Tabela 5.2.

Figura 5.33 - Concentrações dos diferentes microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio ao final das fases 1, 2, 3, 4 e 5



A fase 2 foi a única onde foi observada ligeira diminuição simultânea de todos os grupos microbianos analisados na qPCR. Portanto, períodos aeróbios/anóxicos de 7min/14min sob taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L diminuiu as comunidades de desnitrificantes heterotróficas, *Nitrobacter* e *Nitrospira*, esta última, de forma mais acentuada, mas também de BOA e bactérias anammox. Da mesma forma, a operação a temperatura ambiente (fase 5) promoveu o crescimento de todos os grupos microbianos analisados na qPCR, exceto bactérias desnitrificantes, que diminuiram nesta fase.

Tabela 5.2 – Resumo das concentrações e desvio padrão das comunidades microbianas nas fases 1, 2, 3, 4 e 5 obtidas a partir da qPCR

Fases	Bactérias totais (RNAr 16s)	Anammox (RNAr 16s)	Nitrobacter (RNAr 16s)	Nitrospira (RNAr 16s)	BOA (<i>AmoA</i>)	Desnitrificantes (<i>NosZ</i>)
1	2,40E+07±	1,21E+07±	6,06E+03	1,48E+05±	1,29E+07±	5,82E+09±
	1,21E+06	2,80E+05	±1,35E+02	3,02E+04	7,16E+04	7,51E+08
2	1,76E+07±	5,77E+06	4,88E+03	4,96E+04±	8,86E+06±	4,25E+09±
	1,46E+06	±6,81E+05	8,46E+02	4,03E+03	3,27E+05	2,80E+08
3	2,34E+07±	1,06E+07	5,39E+03	1,63E+05±	1,21E+07±	5,53E+09±
	2,69E+06	±2,04E+06	±6,07E+02	9,03E+03	6,46E+05	9,25E+08
4 (meio)	3,24E+07±	5,77E+06	2,99E+03	1,71E+05±	2,14E+07±	4,03E+09±
	2,28E+06	±4,65E+05	±3,86E+01	1,30E+04	5,26E+05	3,50E+08
4 (final)	2,98E+07±	2,67E+07	2,01E+03	6,45E+05±	4,82E+07±	6,87E+09±
	3,84E+06	±4,17E+06	±5,62E+02	2,37E+04	1,19E+06	1,00E+09
5	5,22E+07±	5,56E+07	5,10E+03	2,07E+06±	1,59E+08±	3,79E+09±
	6,06E+05	±8,12E+05	±2,22E+03	6,98E+05	7,90E+06	6,30E+08

A concentração de bactérias totais (RNAr 16s) permaneceu na ordem de grandeza de 10^7 durante todas as fases operacionais do sistema (Tabela 5.2). Da mesma forma, a concentração de bactérias anammox (RNAr 16s) e BOA (*AmoA*) também mantiveram-se na ordem de grandeza de 10^7 durante as fases de diferentes condições de aeração intermitente sob 35°C (1, 2, 3 e 4). Tanto anammox quando BOA aumentaram a concentração para ordem de grandeza de 10^8 na fase 5, que foi mantida a temperatura ambiente (mediana de 28°C). Houve ligeira variação no número de bactérias anammox e BOA (mantendo a ordem de grandeza de 10^7) entre as fases 1 e 2 (tempos aeróbios/anóxicos de 7min/21min e 7min/14min, respectivamente, com taxa de ar

aplicada de 0,025 L/min.L). Ambas as comunidades voltaram a crescer na fase 3, que contou com as mesmas condições de aeração intermitente da fase 2, com diferença na taxa de ar aplicado (0,050 L/min.L)

O comportamento de bactérias anammox e BOA foi distinto no início até a metade da fase 4, onde houve ligeira variação de bactérias anammox e aumento de BOA. A fase 4 contou com o menor tempo aeróbio em relação ao anóxico (7min/7min). Além disso, houve instabilidade de pH, OD e alcalinidade nesta fase, que contribuíram para a variação, ainda que discreta, de bactérias anammox. No entanto, a partir da metade da fase 4, a concentração de bactérias anammox voltou a crescer, mostrando que esta comunidade se adaptou sob as novas condições operacionais adotadas.

Na fase 5, sob tempos aeróbios/anóxicos de 7min/14min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L (semelhante à fase 3), e sob temperatura ambiente (mediana de 28°C), as concentrações de bactérias anammox e BOA atingiram seus valores máximos, na ordem de grandeza de 10^8 . Portanto, a temperatura ambiente não afetou a taxa de crescimento de BOA e anammox.

Pereira (2018) observou concentrações de bactérias anammox e BOA na faixa de $4,83 \times 10^7$ a $3,91 \times 10^8$ e $1,90 \times 10^4$ a $1,13 \times 10^7$ n° de cópias/g de lodo, respectivamente. A autora encontrou grande diferença entre as concentrações de BOA e anammox durante quase todas as fases de aeração intermitente, o que pode ter limitado a remoção de nitrogênio no sistema. O presente estudo apresentou concentrações máximas de bactérias anammox ($5,77 \times 10^6$ a $5,56 \times 10^7$ n° de cópias/g de lodo) na mesma ordem de grandeza com relação a Pereira (2018) – igual a 10^8 . No entanto, neste estudo, as eficiências de remoção de nitrogênio foram superiores e as relações NO_3^- produzido/ NH_4^+ consumido menores em comparação ao observado por Pereira (2018). Essa comparação mostra que as bactérias anammox no presente estudo tinham maior atividade e foram capazes de promover o bom desempenho do sistema.

Leal (2015) observou concentração de bactérias anammox de $2,08 \times 10^9$ cópias/g de lodo, mesmo quando a biomassa foi submetida a variadas relações DQO/N. Miao *et al.* (2018) observaram o crescimento de bactérias anammox mesmo em condições extremas de C/N de 2 a 2,5, com concentração de até $4,19 \times 10^9$ n° de cópias/gSSV. No entanto, os autores constataram que embora a comunidade tenha aumentado, sua atividade diminuiu em virtude das novas condições

de C/N. Neste estudo, as relações C/N permaneceram abaixo de 1, o que pode ter propiciado o bom desempenho do sistema juntamente com as condições operacionais adotadas.

Wang *et al.* (2016) observaram concentrações de BOA e anammox ao final da operação de sistema NP/A de dois estágios tratando lixiviado de aterro sanitário com altas concentrações de nitrogênio. No primeiro estágio, as concentrações de anammox e BOA foram de $1,46 \times 10^6$ e $3,57 \times 10^8$, respectivamente. No segundo estágio, estas concentrações foram de $1,26 \times 10^8$ e $5,73 \times 10^6$, respectivamente. No entanto, o presente estudo, assim como outros reportados na literatura tem mostrado que é possível cultivar bactérias anammox e BOA de maneira eficaz em RBS de estágio único (LEAL *et al.*, 2016; MA *et al.*, 2015; FERNANDES *et al.*, 2018; PEREIRA, 2018, MIAO *et al.*, 2018).

Ma *et al.* (2015) estudaram o processo NP/A tratando esgoto doméstico com aeração intermitente e baixas concentrações de OD sob baixas temperaturas de 11 a 23°C. Os autores observaram que a distribuição de anammox e BOA foi diferente nas biomassas granulares e floculentas. Na biomassa floculenta, houve dominância de BOA, enquanto que na biomassa granular houve predominância de bactérias anammox. As concentrações de BOA e anammox no sistema foram de $2,69 \times 10^4$ e $2,33 \times 10^{10}$ n° de cópias/g de lodo, respectivamente. Em comparação ao presente estudo, a comunidade de BOA foi menor, enquanto que a comunidade anammox foi maior.

Fernandes *et al.* (2018) observaram diminuição gradual na concentração de bactérias anammox com a diminuição da temperatura de 35 para 25 e 20°C em reator anammox com adição de N-NO₂⁻ e esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente. A diminuição da comunidade anammox foi mais acentuada sob 20°C do que sob 25°C. De 35°C para 20°C, a concentração de bactérias anammox reduziu de $2,8 \times 10^9$ para $1,5 \times 10^8$ n° de cópias/g de lodo. No entanto, a eficiência de remoção de nitrogênio permaneceu acima de 90%. Portanto, concentrações de bactérias anammox na ordem de grandeza de 10^8 , semelhante a fase 5 deste estudo, são capazes de promover bom desempenho de sistemas anammox.

Nitrobacter e *Nitrospira* são os principais gêneros de BON em sistemas para remoção de nitrogênio. Uma vez que estes microrganismos realizam a nitrificação total, a sua presença não é desejada em sistemas anammox, embora seja difícil promover a inibição destes grupos. No entanto, estes se mantiveram em ordens de grandeza inferiores em comparação à bactérias

anammox. A ordem de grandeza de *Nitrobacter* e *Nitrospira* foi de 10^4 e 10^5 (fase 1) e de 10^3 e 10^4 (fase 2), respectivamente. Portanto, a mudança de tempos aeróbios/anóxicos de 7min/21min para 7min/14min diminuiu a comunidade de BON. Na fase 3, a ordem de grandeza tanto de *Nitrobacter* e *Nitrospira* foi de 10^3 e 10^5 , portanto, sob períodos aeróbios/anóxicos de 7min/14min e taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L favoreceu o aumento da ordem de grandeza de *Nitrospira*. Nas fases 4 e 5, a concentração de *Nitrobacter* permaneceu na ordem de grandeza de 10^3 . No entanto, a concentração de *Nitrospira* aumentou progressivamente ao longo das fases 3 a 5. Portanto, a mudança de taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L (fases 1 e 2) para 0,050 L/min.L (fases 3, 4 e 5) contribuiu para o aumento da comunidade de *Nitrospira*.

Pereira (2018) observou a diminuição de *Nitrospira* em RBS após a aplicação de períodos de recuperação sem aeração no sistema. A concentração de *Nitrospira* diminuiu de $1,90 \times 10^7$ para $6,75 \times 10^5$ n° de cópias/g de lodo. Miao *et al.* (2018) também observaram concentrações notáveis de *Nitrobacter* e *Nitrospira* em sistema NP/A sob aeração intermitente. Os autores aplicaram TDS de 50 dias, descartando 200 mL de biomassa floculenta diariamente. Os autores afirmam que estes gêneros apresentaram concentrações de $1,72 \times 10^8 \pm 2,74 \times 10^2$ e $8,90 \times 10^9 \pm 1,40 \times 10^3$ para $1,37 \times 10^8 \pm 5,75 \times 10^4$ e para $2,61 \times 10^{10} \pm 3,01 \times 10^5$ n° de cópias/gSSV, respectivamente, no início e no final dos experimentos. Portanto, nota-se que a comunidade de *Nitrobacter* diminuiu ligeiramente, enquanto que *Nitrospira* aumentou, mesmo com descarte diário de biomassa floculenta.

Miao *et al.* (2016) observaram que sob aeração contínua em NP/A, as concentrações iniciais e finais de *Nitrospira* e *Nitrobacter* foram de $2,61 \times 10^8$ e não detectado para $1,67 \times 10^{10}$ e $7,47 \times 10^7$ n° de cópias/gSSV, respectivamente. Já sob aeração intermitente, as concentrações iniciais e finais de *Nitrospira* e *Nitrobacter* foram de $6,16 \times 10^9$ e $2,83 \times 10^7$ para $1,97 \times 10^9$ e $4,45 \times 10^8$ n° de cópias/g de lodo, respectivamente. Portanto, a aplicação da aeração intermitente alterou a comunidade de BON. Neste estudo foi observado que além disso, as diferentes estratégias de aeração intermitente também afetaram esta comunidade. Ademais, os gêneros de BON são frequentemente encontrados em sistemas de NP/A, uma vez que longos TRS favorecem a permanência desse grupo em sistemas, mesmo sob condições críticas de aeração.

Nas fases 1, 2, 3, 4 (intermediária), 4 (final) e 5, houve alternância nas ordens de grandeza das concentrações de desnitrificantes heterotróficas (*NosZ*) de 10^{10} , 10^9 , 10^{10} , 10^9 , 10^{10} e 10^9 ,

respectivamente. Ressalta-se que a maior concentração de desnitrificantes heterotróficas em relação a bactérias totais se devem ao fato de que foram quantidades em relação a genes funcionais e RNA_r 16s, respectivamente. Dentre as fases da etapa de testes de diferentes estratégias de aeração intermitente (1 a 4), a fase 4 obteve a maior concentração de desnitrificantes. Nesta fase, foram aplicados os maiores períodos aeróbios em relação aos períodos anóxicos (7min/7min) e taxas de oxigênio de 0,050L/min.L. A concentração de desnitrificantes, igual a $6,87 \times 10^9$ n° de cópias/ g de lodo. Enquanto que a fase 2, a concentração final de desnitrificantes foi a menor entre as fases 1 a 4, igual a $4,25 \times 10^9$ n° de cópias/g de lodo. A fase 2 foi operada com taxa de ar de 0,025L/min.L e períodos aeróbios/anóxicos de 7min/14min. No entanto, a menor concentração de desnitrificantes dentre todas as fases foi obtida na fase 5, sob temperatura ambiente. Ou seja, a faixa de temperatura de 28°C contribuiu para a ligeira variação de bactérias desnitrificantes, com concentração igual a $3,79 \times 10^9$ n° de cópias/g de lodo.

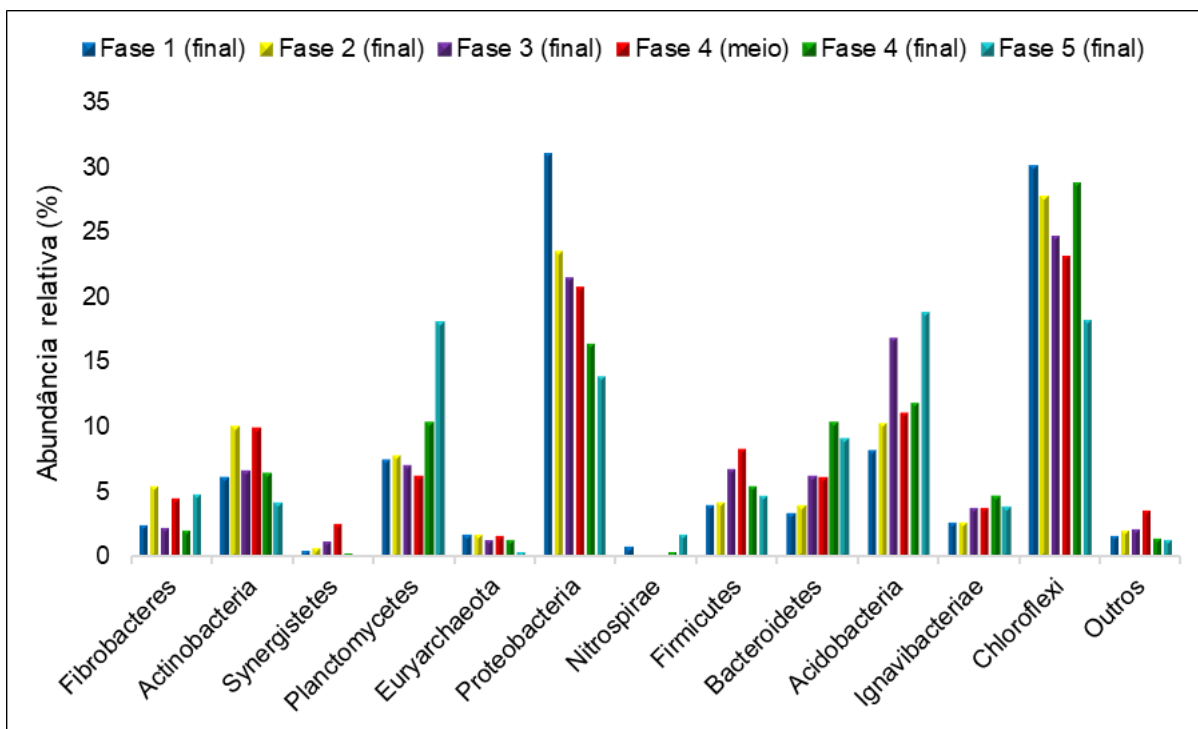
A sobrevivência de bactérias desnitrificantes foi favorecida pelas presenças simultâneas de matéria orgânica e NO₃⁻. Embora a matéria orgânica presente no reator tenha apresentado baixa degradabilidade e eficiências de remoção inferiores a 50%. Leal (2015) observou que em um RBS alimentado com meio de cultura e inoculado com lodo aeróbio (lodos ativados), com diferentes relações DQO/N e com efluente real anaeróbio mais nitrito, as concentrações de bactérias desnitrificantes foram de $2,57 \times 10^9$, $9,28 \times 10^9$ e $1,65 \times 10^9$ n° de cópias/g de lodo. Portanto, mesmo em sistemas anammox sem aeração para a promoção de NP, pode haver um número expressivo de bactérias heterotróficas.

Pereira (2018) operou RBS inoculado com lodo aeróbio, alimentado com efluente sintético, digestato mais N-NO₂⁻ e digestato sob aeração para NP/A, obtendo concentrações de desnitrificantes de até $1,23 \times 10^9$, $2,18 \times 10^8$ e $1,10 \times 10^9$ n° de cópias/g de lodo. Portanto, a presença de bactérias desnitrificantes não está relacionada intrinsecamente com sistema de aeração para NP, podendo estar presente em sistemas sem sistema de aeração, alimentados com efluente sintético e com efluente real que utilizam lodo aeróbio proveniente de sistema de lodos ativados como inóculo, que frequentemente contém grupos de bactérias heterotróficas desnitrificantes. Para avaliar em maiores detalhes a composição da comunidade microbiana presente neste reator ao longo das fases, foi realizado o sequenciamento de nova geração.

5.5.2 Diversidade microbiana através do sequenciamento de nova geração

Foram observados 12 filós com abundância relativa igual ou superior a 1% em pelo menos uma das fases de 1 a 5, sendo eles *Fibrobacteres*, *Actinobacteria*, *Synergistetes*, *Planctomycetes*, *Euryarchaeota*, *Proteobacteria*, *Nitrospirae*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Ignavibacteriae* e *Chloroflexi* (Figura 5.34). No total, 33 filós foram identificados, porém os demais foram menos abundantes (< 1%) e podem ser agrupados como “outros”.

Figura 5.34 – Abundâncias relativas (>1%) a nível de filo nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



A aplicação da ACP para o nível taxonômico de Filo resultou na extração de 33 componentes principais. Entretanto, somente as 5 primeiras componentes foram consideradas devido ao critério de Kaiser, que considera como explicativas as componentes com autovalores maiores ou iguais a 1, isto é, componentes que expliquem pelo menos 1 unidade de variância. Além disso, as 5 primeiras componentes explicaram 100% da variância das amostras. A componente principal 1 (CP 1) explicou 70,4% da variância; CP 2 explicou 11,8% da variância; CP 3 representou 10,4%; CP 4 apresentou 5,6% e CP 5 1,8%. Na Tabela 5.3 estão especificados os autovetores maiores do que 0,500 obtidos a partir das componentes principais extraídas.

Tabela 5.3 - Autovalores e Autovetores mais expressivos obtidos a partir das componentes principais extraídas

Autovalores					
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Autovalor	78,174	13,126	11,567	6,167	2,024
Proporção	0,704	0,118	0,104	0,056	0,018
Acumulado	70,4%	82,20%	92,6%	98,2%	100%
Autovetores					
Filo	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Fibrobacteres	0,040	-0,006	0,210	0,501	-0,227
Planctomycetes	0,423	0,576	-0,212	0,355	0,107
Proteobacteria	-0,624	0,500	0,315	-0,165	0,211
Acidobacteria	0,407	0,115	0,321	-0,588	-0,526
Chloroflexi	-0,412	-0,032	-0,671	-0,162	-0,389

A CP 1 foi explicada pelo autovetor negativo (-0,624) referente ao filo Proteobacteria. Em seguida, a CP 2 foi explicada pelos autovetores positivos (0,576 e 0,500) referentes aos filios Planctomycetes e Proteobacteria. A CP 3 foi explicada pelo filo Chloroflexi com autovetor negativo (-0,671); CP 4 foi explicada pelos autovetores positivo (0,501) e negativo (-0,588) para os filios Fibrobacteres e Acidobacteria respectivamente. Por fim, a CP 5 foi explicada pelo autovetor negativo (-0,526) e representou o filo Acidobacteria. A ocorrência de dois autovetores positivos na CP 2 para os filios Planctomycetes e Proteobacteria sugerem que a abundância relativa destes filios ocorreram de forma diretamente proporcional, enquanto que na CP 4, a diferença dos autovetores, positivo e negativo para Fibrobacteres e Acidobacteria, respectivamente, sugerem que a abundância destes filios ocorreu de forma inversamente proporcional. Dentre os 33 filios iniciais, presentes nos dados de entrada, os filios responsáveis pela maior variância das abundâncias relativas dos 33 diferentes filios encontrados foram Fibrobacteres, Planctomycetes, Proteobacteria, Acidobacteria e Chloroflexi.

Planctomycetes é o filo o qual percentem as bactérias anammox, e sua distribuição em sistemas anammox é de extrema importância. Ye *et al.* (2017) verificaram o aumento de Planctomycetes em 6,65% em reator anammox. Zhu *et al.* (2018a) verificaram que a distribuição de

Planctomycetes em biomassa com diferentes diâmetros variou. Segundo os autores, na biomassa com diâmetros >0,2mm, 0,5 a 0,9 mm e 2 a 2,5 mm, a abundância relativa de Planctomycetes foi de 6,5, 16,6 e 13%. Portanto, a biomassa granular com diâmetro de 0,5 a 0,9 mm teve maior abundância de Planctomycetes. Neste estudo, a biomassa do sistema foi mista (floculenta e granular). Chu *et al.* (2015) verificaram abundância do filo Planctomycetes de 35 a 42% em sistema anammox alimentado com efluente sintético.

Neste trabalho, as abundâncias relativas de microrganismos do filo Planctomycetes foram de 7,50, 7,90, 7,14, 6,29, 10,44 e 18,18% nas amostras de 1 a 5, respectivamente. Portanto, as diferentes fases de aeração intermitente e a diminuição da temperatura de 35°C para a faixa de 29 a 26°C não diminuiu a abundância relativa do filo Planctomycetes, exceto na metade da fase 4, mas até o final desta fase, voltou a crescer. Fernandes *et al.* (2018) observaram que a frequência relativa deste filo aumentou (de 0,9 para 3 %) com a mudança de temperatura de 35 a 25°C, em acordo com os resultados deste trabalho.

As abundâncias relativas do filo Proteobacteria foram diminuindo ao longo da operação do sistema, com valores de 30,95, 23,44, 21,49, 16,38 e 13,96% nas fases 1, 2, 3, 4 (meio), 4 (final) e 5, respectivamente. Segundo Madigan *et al.* (2016), o filo Proteobacteria diversos microrganismos atuantes no ciclo do nitrogênio, como diazotróficos (fixadores de N), desnitrificantes, BOA e BON. Portanto, é comumente encontrado em sistemas anammox. Fernandes *et al.* (2018) observaram aumento do filo Proteobacteria com a diminuição da temperatura de 35, 25 e 20°C. Li *et al.* (2018) também observaram aumento de Proteobacteria com a diminuição da temperatura em sistema anammox com efluente sintético. Já Wu *et al.* (2016) observaram abundância relativa do filo de 2,2 a 2,9% em sistema de NP/A com efluente real sob diferentes temperaturas de operação. Portanto, as condições operacionais de aeração intermitente aplicadas favoreceram a diminuição da abundância relativa de Proteobacteria, em contraste com outros trabalhos observados aplicando nitrito ou efluente sintético em sistemas anammox..

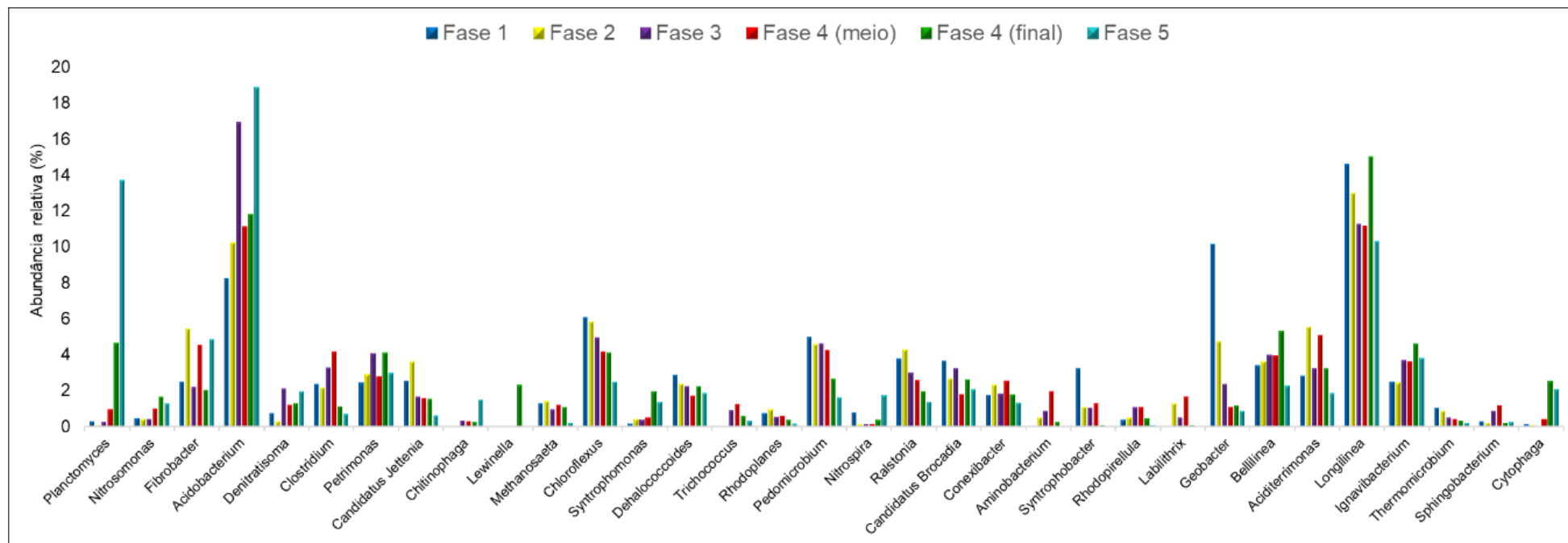
As abundâncias relativas do filo Acidobacteria foram de 8,25, 10,27, 16,92, 11,13, 11,84 e 18,89% nas fases 1, 2, 3, metade da fase 4, final da fase 4 e fase 5, respectivamente. Portanto, a abundância deste grupo aumentou gradualmente ao longo da operação do sistema. As abundâncias relativas do filo Chloroflexi foram de 30,05, 27,71, 24,69, 23,17, 28,68 e 18,21%,

nas fases 1, 2,3, 4 (meio), 4 (final) e 5, respectivamente A abundância relativa deste filo também diminuiu gradualmente ao longo da operação, exceto no final da fase 2, quando houve aumento da abundância. De acordo com Pereira *et al.* (2017) o filo Chloroflexi é frequentemente encontrado em reatores anammox, podendo exercer a degradação de produtos microbianos derivados da decomposição da biomassa. Yuan *et al.* (2018) observaram variação da abundância de Chloroflexi de 20,25 para 21,71% com o aumento da disponibilidade de DQO.

Leal (2015) e Guo *et al.* (2018) também identificaram os filios Chloroflexi, Planctomycetes, Proteobacteria e Actinobacteria em sistema anammox. Wang *et al.* (2018) observou que além de Planctomycetes, outros filios como Proteobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes e Acidobacteria dominavam a biomassa em sistemas anammox sob flutuações de temperatura de 35 a 15°C. Fernandes *et al.* (2018) observaram a diminuição do filo Chloroflexi e Actinobacteria com a diminuição da temperatura de 35 para 25 e 20°C, corroborando com os resultados do presente estudo. As abundâncias relativas do filo Fibrobacteres nas amostras de 1 a 5 foram de 2,52, 5,48, 2,25, 4,57, 2,09 e 4,89%, respectivamente. Este filo não é comumente encontrado em sistemas anammox. Gonzales Martinez *et al.* (2015) identificaram este filo com abundância de 0,7% em sistema anammox com MBBR alimentado com efluente sintético. De acordo com Rahman *et al.* (2015), *Fibrobacteres* são bactérias com metabolismo anaeróbico que podem realizar a hidrólise de celulose. A permanência destas bactérias no sistema pode ter sido possível devido a compostos de celulose oriundos do digestato. No entanto, segundo Madigan *et al.* (2016), estas bactérias são comumente encontradas no rúmem bovino.

Com relação ao nível taxonomico de gênero, 33 gêneros obtiveram abundância relativa maior ou igual a 1% em pelo menos uma das amostras. Os gêneros estão descritos na Tabela 5.4, onde pode-se observar que os gêneros mais abundantes foram *Planctomyces*, *Acidobacterium*, *Geobacter* e *Longilinea*. No entanto, foram identificados gêneros de BOA e BON (*Nitrosomonas* e *Nitrospira*) e de bactérias anammox (*Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia*), bem como desnitrificantes (*Ralstonia*, *Denitratisoma*, *Rhodoplanes* e *Rhopopirellula*) com abundância relativa igual ou superior a 1% em pelo menos uma das amostras.

Tabela 5.4 - Abundâncias relativas (>1%) a nível de filo nas fases 1, 2, 3, 4 e 5



Em nível de gênero, a aplicação da ACP gerou 431 componentes principais, tendo as 5 primeiras componentes explicado 100% da variância total das amostras. Desta forma, estas foram extraídas, tendo-se portanto CP 1, CP 2, CP 3, CP 4 e CP 5, com explicações da variância total de 65,2%, 16,1%, 9,5%, 6,9% e 2,3% respectivamente. Na Tabela 5.5 estão mostrados os autovetores maiores do que 0,500 obtidos a partir das componentes principais extraídas.

Tabela 5.5 – Autovalores e autovetores mais expressivos obtidos a partir das componentes principais extraídas a nível de gênero

Autovalores					
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Autovalor	55,660	13,770	8,147	5,899	1,951
Proporção	0,652	0,161	0,095	0,069	0,023
Acumulado	0,652	0,813	0,908	0,977	1,000
Autovetores					
Planctomyces	-0,671	-0,492	0,053	0,243	0,088
Fibrobacter	-0,042	0,032	-0,113	0,574	-0,255
Geobacter	0,342	-0,599	-0,415	-0,115	0,049

A CP 1 foi explicada pelo autovetor negativo (-0,671) para o gênero *Planctomyces*. A CP 2 foi explicada pelo autovetor negativo (-0,599) para o gênero *Geobacter*. Por fim a CP 4 foi explicada pelo autovetor positivo (0,574) para o gênero *Fibrobacter*. As CP's 3 e 5 não apresentaram autovetores maiores do que 0,500. Isto pode ter acontecido devido à grande quantidade de dados de entrada e devido à variabilidade dos mesmos. Dentre os 431 gêneros iniciais, os gêneros responsáveis pela maior variância das amostras foram *Planctomyces*, *Geobacter* e *Fibrobacter*. Vale ressaltar que o principal objetivo da aplicação da ACP neste estudo foi diminuir e selecionar a quantidade de dados para um melhor entendimento destes, além de determinar a expressividade de cada filo e gênero nas amostras.

Segundo Madigan *et al.* (2016), *Geobacter* é um gênero de bactérias que pode degradar acetato utilizando Fe³⁺ como aceptor de elétrons. No entanto, Wan *et al.* (2018) observaram que este gênero tem uma relação sintrófica com bactérias desnitrificantes heterotróficas. Os autores observaram que a presença de *Geobacter* favoreceu a desnitrificação heterotrófica, tornando esta reação mais curta e eficiente. De acordo com Madigan *et al.* (2016), *Fibrobacter* são

bactérias anaeróbias obrigatórias fermentativas gram-gerativas e tem capacidade de fermentar carboidratos, inclusive celulose. Segundo os autores, são frequentemente encontradas em rúmen bovino e trato intestinal de animais.

As abundâncias relativas de *Planctomyces* nas fases 1, 2, 3, 4 (meio), 4 (final) e 5 foram de 0,33, 0,11, 0,30, 1,02, 4,69 e 13,74%, respectivamente. Na fase 5, houve um pico na abundância relativa deste gênero em relação às outras fases. As abundâncias relativas de *Geobacter* foram de 10,15, 4,79, 2,41, 1,12, 1,23 e 0,92% nas fases 1, 2, 3, 4 (metade e final) e 5, respectivamente. Esse gênero foi gradualmente diminuindo ao longo da operação do RBS. As abundâncias relativas de *Fibrobacter* foram de 2,52, 5,48, 2,25, 4,57, 2,09 e 4,89% nas fases 1, 2, 3, 4 (metade e final) e 5, respectivamente. Esse gênero não apresentou um padrão de crescimento como os gêneros *Planctomyces* e *Geobacter*, pelo contrário, variaram muito ao longo das fases e até mesmo dentro da mesma fase (fase 4 com amostras intermediárias e finais).

Os principais gêneros atuantes no ciclo do nitrogênio, como bactérias anammox, BOA, BON e bactérias desnitrificantes heterotróficas foram avaliados (Tabela 5.6). Os gêneros de bactérias anammox *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* foram os gêneros dominantes no sistema, embora tenham sido detectados os gêneros *Ca. Anammoximicrobium* e *Ca. Kuenenia* em concentrações menores que 0,1%. Os gêneros dominantes tiveram comportamentos distintos durante as fases.

Antes do início da operação do RBS sob as condições operacionais aplicadas neste estudo, as abundâncias de *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* eram de 0,9 e 5,6%, respectivamente (Pereira, 2018). No entanto, ao final da fase 1, as abundâncias de *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* foram de 3,69 e 2,57%, respectivamente. Assim, as novas condições operacionais (períodos aeróbios/anóxicos de 7min/21min) favoreceram *Ca. Brocadia* em detrimento de *Ca. Jettenia*. Na fase 2 (7min/14min), a abundância de *Ca. Brocadia* diminuiu para 2,69% e de *Ca. Jettenia* aumentou para 3,66%. Ressalta-se que nas fases 1 e 2 foram encontradas as menores eficiências de remoção de nitrogênio. Após a mudança para a fase 3 (tempos aeróbios/anóxicos de 7min/14min com aumento de taxa de ar aplicada de 0,025 para 0,050 L/min.L) foi obtida a maior eficiência mediana de remoção de nitrogênio, e foi observado que a população de *Ca. Brocadia* aumentou enquanto que a população de *Ca. Jettenia* diminuiu. Portanto, *Ca. Brocadia* parece ser mais competitiva sob condições de aumento da taxa de ar aplicada.

Em seguida, na fase 4, ambas as populações de *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* diminuíram para (1,85 e 1,63% de abundância relativa, respectivamente) até a metade desta fase diante da aplicação de menores períodos aeróbios em relação aos períodos anóxicos (7min/7min). No entanto, da metade até o final desta fase, a abundância de *Ca. Brocadia* aumentou para 2,67%, enquanto *Ca. Jettenia* diminuiu para 1,57%.

Sob temperatura ambiente (mediana de 28°C) (fase 5), as abundâncias de *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* diminuíram para 2,13 e 0,65%, respectivamente. Segundo Ali & Okabe (2015), *Ca. Brocadia* e *Ca. Jettenia* têm crescimento ótimo sob 37°C. No entanto, o presente estudo mostrou que *Ca. Brocadia* pode ser mantida em sistemas NP/A sob temperatura de 28°C. Tomaszewski *et al.* (2017a) observaram que *Ca. Brocadia* tem sido a espécie anammox dominantes sob baixas temperaturas e parece ter pré-disposição para adaptar-se nestas condições.

Anteriormente a este estudo e no mesmo sistema. Pereira (2018) observou a substituição de *Ca. Brocadia* por *Ca. Jettenia* após período de recuperação do reator devido a distúrbios causados pela aeração excessiva. Após o período de recuperação, Pereira (2018) períodos aeróbios/anóxicos de 15min/45min e 15min/30min, respectivamente, ambos sob taxa de ar aplicada de 0,026 L/min.L. Portanto, este estudo comprova que *Ca. Brocadia* se adaptou melhor às condições de encurtamento de tempos aeróbios e de tempos anaeróbios, aumento de taxas de oxigênio aplicadas e diminuição da temperatura de 35 para 28°C.

Cho *et al.* (2017) observaram que a ausência de matéria orgânica favorece o gênero anammox *Ca. Jettenia*. Corroborando os resultados encontrados, Lauren *et al.* (2016) observaram que *Ca. Brocadia* tem vantagem na competição com outras espécies de bactérias anammox na presença de substratos complexos, como é o caso do digestato de resíduos alimentares. Lauren *et al.* (2016) observaram que *Ca. Brocadia* não foi inibida pela incorporação de compostos orgânicos em meio a efluente doméstico, como foi proposto por Güven *et al.* (2005) em meio a propionato. Wen *et al.* (2017) identificaram o gênero *Brocadia* como dominante em sistema de NP/A. Ye *et al.* (2017) também observaram dominância de *Ca. Brocadia* em relação a *Ca. Jettenia* em sistema SNAD, com abundâncias de 4,86 e 0,86%, respectivamente. Assim, a presença de compostos orgânicos, como no digestato utilizado, pode não ter sido incorporado - conforme foi observado por Güven *et al.* (2005) - pelas células da bactéria anammox *Brocadia*,

diminuindo a potencialidade de efeito inibidor por matéria orgânica. Mas pode ter afetado a população de *Ca. Jettenia*, bem como a temperatura.

Tabela 5.6 – Principais gêneros atuantes no ciclo do nitrogênio com abundâncias relativas superiores a 1% nas fases 1, 2, 3, 4 e 5

Filo/Gênero	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4 (meio)	Fase 4 (final)	Fase 5
Bactérias anammox*						
Planctomycetes; <i>Ca. Brocadia</i>	3,69	2,69	3,28	1,85	2,67	2,13
Planctomycetes; <i>Ca. Jettenia</i>	2,57	3,66	1,71	1,63	1,57	0,65
Total de anammox	6,26	6,37	5,00	3,50	4,29	2,81
Bactérias oxidadoras de nitrito (BON)						
Nitrospirae; <i>Nitrospira</i>	0,81	0,18	0,18	0,19	0,44	1,80
Total de BON	0,81	0,18	0,18	0,19	0,44	1,80
Bactérias oxidadoras de amônio (BOA)						
B-Proteobacteria- <i>Nitrosomonas</i>	0,50	0,44	0,47	1,04	1,71	1,34
Total de BOA	0,86	0,87	0,99	1,56	2,15	1,74
Desnitrificantes heterotróficas						
B-Proteobacteria; <i>Ralstonia</i>	3,84	4,32	3,05	2,64	1,99	1,42
B-Proteobacteria; <i>Denitratisoma</i>	0,80	0,34	2,14	1,26	1,34	2,01
A-Proteobacteria; <i>Rhodoplanes</i>	0,79	1,00	0,57	0,64	0,41	0,19
Planctomycetes; <i>Rhodopirellula</i>	0,42	0,55	1,14	1,11	0,52	0,14
Total de desnitrificantes	8,00	7,53	8,73	6,07	5,63	

O único gênero de BOA com abundância relativa maior que 1% foi *Nitrosomonas*, com abundâncias relativas nas fases 1, 2, 3, 4 (metade), 4 (final) e 5 de 0,50, 0,44, 0,47, 1,04, 1,71 e 1,34%, respectivamente. A partir da fase 4, foi observado aumento em mais de 50% da população de *Nitrosomonas*, devido ao aumento do tempo aeróbio em função do tempo anóxico de 7min/14min para 7min/7min. Com a redução da temperatura de 35°C para 28°C na fase 5, a

abundância relativa de *Nitrosomonas* também aumentou. No entanto, a abundância deste gênero foi menor do que a de *Ca. Brocadia*, bactéria anammox dominante no sistema.

Wen *et al.* (2017) também identificaram que em sistema de NP/A sob baixas concentrações de OD, a BOA dominante foi *Nitrosomonas*. Ye *et al.* (2017) observaram que a abundância relativa de *Nitrosomonas* e *Nitrospira* em RBS anammox foi de 7,53 e 0,41%, respectivamente. Segundo os autores, o gênero *Nitrosomonas* tem algumas espécies anaeróbias facultativas. Portanto, estas podem ter sido favorecidas sob períodos anaeróbios aplicados neste estudo para a aeração intermitente. Grunditzm & Dalhammar (2011) observaram que a temperatura ótima para o gênero *Nitrosomonas* é de 35°C. No entanto, neste trabalho, a diminuição da temperatura de 35°C para 26 a 29°C, com mediana de 28°C na fase 5 praticamente dobrou a abundância relativa de *Nitrosomonas* no sistema. Lauren *et al.* (2016) observaram que, sob 15°C, um sistema de NP/A teve como BOA dominante o gênero *Nitrosomonas*. Wu *et al.* (2016) observaram em um sistema NP/A que as abundâncias relativas de *Nitrosomonas* sob temperaturas de 35, 21 e 13°C foi de 2,2, 2,9 e 2,9%, respectivamente. Ratificando as observações do presente estudo, a diminuição da temperatura pode favorecer a comunidade de *Nitrosomonas* como BOA.

O gênero BON dominante no sistema foi *Nitrospira*. As abundâncias relativas deste microrganismo nas fases 1, 2, 3, 4 (metade da fase), 4 (final da fase) e 5 foram de 0,81, 0,18, 0,18, 0,19, 0,44 e 1,10%, respectivamente. De acordo com Ma *et al.* (2016), a comunidade de BON do gênero *Nitrospira* aumenta significativamente em comparação a *Nitrobacter* em longos períodos sob baixas condições de OD. Ye *et al.* (2017) observaram que tempos de sedimentação reduzidos, de 10 minutos, em reatores anammox alimentados com efluente sintético impossibilitaram o aumento da população de *Nitrospira*, com abundância relativa de 0,42 e 0,41% no início e no final da operação do sistema, respectivamente. No entanto, em sistemas reais, a diminuição do tempo de sedimentação pode promover a saída de anammox e BOA, principalmente. Não foi detectada a presença de outro gênero de BON no NSG, somente de *Nitrospira*.

Pereira (2018) observou em RBS com NP/A tratando digestato de resíduos alimentares que o gênero *Nitrospira* esteve presente no sistema em concentrações de até 9,4%, mesmo após período de recuperação. No presente estudo, os curtos períodos aerados foram uma boa

estratégia para inibir a população de *Nitrospira*. Ma *et al.* (2015) observaram que a população de BON foi inibida com sucesso utilizando aeração intermitente e baixas concentrações de OD em sistema de NP/A (2 a 2,6% da comunidade bacteriana). Wang *et al.* (2016) observaram abundância relativa de *Nitrospira* de 1,34% em sistema de NP/A de dois estágios. Dessa forma, a abundância relativa de *Nitrospira* em sistemas de NP/A em estágio único e de dois estágios não é drasticamente variada. Fernandes *et al.* (2018) observaram que a abundância de *Nitrospira* em sistema anammox com adição de esgoto doméstico e nitrito foi de 1,3, 1,2 e 1,5% sob temperaturas de 35, 25 e 20°C, respectivamente. Portanto, a presença de *Nitrospira* não é exclusiva de sistemas de NP/A, podendo ocorrer também em sistemas sem aeração.

Quanto aos gêneros de bactérias heterotróficas desnitrificantes, foram identificados quatro gêneros com abundância relativa igual ou superior a 1% em pelo menos uma das amostras. Os gêneros *Ralstonia*, *Rhodoplanes* e *Rhodopirelulla* diminuíram gradualmente ao longo das fases de operação. Portanto, as diferentes estratégias de aeração adotadas, bem como a operação sob temperatura ambiente – mediana de 28°C – contribuiu para a diminuição destes grupos de bactérias heterotróficas desnitrificantes. No entanto, o gênero *Denitratisoma* foi o único que mostrou comportamento contrário quanto a abundância relativa, que de maneira geral, aumentou em todas as fases, exceto pela fase 2. As fases 2 e 3 tiveram tempos aeróbios/anóxicos semelhantes, de 7min/14min e taxa de aplicação de oxigênio de 0,025 e 0,050 L/min.L. A partir da fase 3, a produção de N-NO₃⁻ no sistema aumentou, devido ao aumento da eficiência de remoção de N-NH₄⁺. A partir da fase 3, foi observado o aumento de *Denitratisoma*. Portanto, a maior disponibilidade de N-NO₃⁻ favoreceu a atividade e o aumento da abundância deste gênero.

Leal (2015) identificou o gênero *Denitratisoma* em sistema anammox sob diferentes relações de DQO/N e alimentado com efluente doméstico real. Wang *et al.* (2018) observaram que *Denitratisoma* foi o gênero dominante em sistema anammox, com abundância relativa variando de 0,5 a 2%. Wen *et al.* (2017) identificaram que em sistema de NP/A sob baixas concentrações de OD, as desnitrificantes dominantes foram *Thauera* e *Pseudomonas*, com abundâncias de 2,3 e 0,6%, respectivamente. Neste estudo, as abundâncias relativas da *Thauera* e *Pseudomonas* foram de 0 a 0,25% e 0,05 a 0,26%, respectivamente.

Portanto, gêneros de desnitrificantes diferentes do presente estudo foram observados em outros sistemas de NP/A. O gênero *Denitratisoma*, foi observado por Fernandes *et al.* (2018), sob temperaturas de 35, 25 e 20°C, as abundâncias relativas deste gênero foram de 1,3, 4,7 e 5,0%, respectivamente. No presente estudo, a diminuição da temperatura de 35°C para 28°C também aumentou a abundância deste gênero.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que a aeração intermitente foi estabelecida com sucesso em processo de NP/A para a remoção de nitrogênio oriundo de digestato de resíduos alimentares. No entanto, faz-se necessário observar não somente a duração dos períodos aeróbios e anaeróbios, mas também a vazão de ar aplicada. A vazão de ar deve ser selecionada considerando o volume do sistema, mas também a concentração de NH_4^+ presente no efluente a ser tratado. Conforme a concentração de NH_4^+ aumenta, a taxa de ar aplicada deve aumentar também.

Neste estudo, a mudança de período aeróbio/anóxico de 7 min/21min para 7min/14min (fases 1 e 2), com taxa de ar aplicada de 0,025 L/min.L não foi capaz de aumentar a eficiência de remoção de nitrogênio. No entanto, a melhor estratégia de aeração encontrada foi a de tempos aeróbios/anóxicos de 7min/14min, porém com taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L (fase 3). No entanto, sob taxa de ar aplicada de 0,050 L/min.L, a diminuição dos períodos aeróbios em relação aos anóxicos para 7min/7min promoveu distúrbios no sistema, provocados pelo excesso de nitrificação, que seguiu até a fase de nitratação. No entanto, o bom desempenho sob essas condições pode ser diferente em reatores com diferentes configurações e efluentes aplicados.

Assim, este estudo forneceu dados interessantes em três diferentes cenários: baixo fornecimento de OD e subsequente deficiência de nitrificação parcial e remoção de nitrogênio (fases 1 e 2), condições ótimas de fornecimento de OD e aeração intermitente, promovendo excelente desempenho do sistema, e, por fim, o excesso de fornecimento de oxigênio (fase 3), causando nitrificação total e diminuição da remoção de nitrogênio (fase 4).

Quando o processo foi aplicado em temperatura ambiente (variando de 26 a 29°C, com mediana de 28 °C no líquido), a eficiência de remoção de nitrogênio não foi afetada significativamente, pelo contrário, a eficiência e a carga de NH_4^+ removida foram superiores, indicando que é possível aplicar o processo de NP/A sob temperatura ambiente em regiões tropicais.

O digestato de resíduos alimentares é um efluente com altas concentrações de nitrogênio também na forma orgânica, que eventualmente foi amonificado no RBS, contribuindo para o incremento de nitrogênio amoniacal no sistema. Ainda assim, o RBS se mostrou eficiente para remover nitrogênio deste tipo de efluente. Ademais, a presença de compostos como matéria

orgânica, anteriormente reportada na literatura como tendo efeito inibitório do processo de NP/A, mesmo presente em elevadas concentrações, no entanto com pouca taxa de degradabilidade, não impediu que elevadas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e orgânico fossem alcançadas. Portanto, o processo de NP/A é adequado para ser aplicado em digestato de resíduos alimentares para remoção de nitrogênio.

A concentração de bactérias anammox e BOA permaneceram na ordem de grandeza de 10^7 n° de cópias/g de lodo durante as fases de aeração intermitente, o que significa que o fornecimento de OD não promoveu na redução destas comunidades. O aumento da temperatura favoreceu o aumento da comunidade anammox, portanto, a operação de reatores anammox em temperatura ambiente de 26 a 29°C não é prejudicado em termos de cultivo destas bactérias.

O gênero de bactéria anammox dominante foi gradualmente alterado de *Ca. Jettenia* para *Ca. Brocadia*, portanto, este gênero adapta-se melhor nas condições de aeração intermitente, presença de compostos orgânicos e temperatura de 26^a 29°C. O gênero de BON *Nitrospira* também foi favorecido em temperatura ambiente. A comunidade de desnitrificantes teve três gêneros dominantes (*Ralstonia*, *Denitratisoma*, *Rhoplanes* e *Rhodopirellula*), a origem do inóculo (sistema de lodos ativados) e a presença de matéria orgânica biodegradável, ainda que em concentrações limitadas, permitiu a permanência destes microrganismos no sistema.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS/RECOMENDAÇÕES

A questão da remoção de nitrogênio via processo anammox é muito interessante e vem ganhando destaque nos últimos anos, no entanto, ainda há algumas lacunas quanto a sua aplicação, principalmente em efluentes como o efluente anaeróbio de resíduos alimentares. Recomenda-se que próximos trabalhos com NP/A aplicados a digestatos de resíduos alimentares sejam direcionados a:

- Avaliar outras estratégias de aeração intermitente para aplicação de NP/A simultaneamente em diferentes sistemas, uma vez que as condições de determinada estratégia pode ter reflexos na etapa futura;
- Avaliar a redução do TDH e da diminuição da diluição do efluente, para verificar se a comunidade microbiana se adaptaria a estas novas condições;
- Avaliar o impacto de diferentes inóculos ou da mistura de inóculos aeróbios e anaeróbios para a partida de reatores anammox;
- Investigar a partida de novos sistemas anammox sob aeração intermitente para a nitrificação parcial, uma vez que a alimentação com meio de cultura para a partida de novos sistemas pode desenvolver biomassa não adaptada a condições de aeração;
- Avaliar o desempenho de sistemas de NP/A em diferentes estações do ano e em diferentes regiões do Brasil, para verificar a aplicabilidade do processo em diferentes localidades e vencer as possíveis limitações locais;
- E verificar outros tipos de configuração de reator para a aplicabilidade deste processo, para que sistemas mais eficientes e econômicos sejam criados, visando a difusão do processo anammox.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, Y. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*, v. 41, 2006.

ALLEMAN, J. E.; Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Science & Technology*, v. 17, p. 409-419, 1985.

ALI, M & OKABE, S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. *Chemosphere*, v. 141, p. 144-153, 2015.

ALI, M.; SHAW, D. R.; ZHANG, L.; HAROON, M. F.; NARITA, Y.; EMWAS, A.; SAIKALY, P. E.; OKABE, S. Aggregation ability of three phylogenetically distant anammox bacterial species. *Water Research*, v. 143, p. 10-18, 2018.

APHA/AWWA/WEF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 23^a ed. Washington, DC. EUA. WEF. 2012.

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. *Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 15, n. 2, p. 205-212, 2010.

ARAÚJO, J. C.; CAMPOS, A. C.; CORREA, M. M.; SILVA, E. C.; MATTÉ, M. H.; MATTÉ, G. R.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Anammox bactéria enrichment and characterization from municipal activated sludge. *Water Science & Technology*, v. 64, v. 7, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS (ABRELPE). Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil. Rio de Janeiro, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS (ABRELPE). Estimativa dos custos para viabilizar a universalização da destinação adequada de resíduos sólidos no Brasil. Rio de Janeiro, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS (ABRELPE) & INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL DOS PLÁSTICOS (PLASTIVIDA). Resíduos sólidos urbanos: recuperação energética. Rio de Janeiro, 2012.

CANFIELD, D. E., GLAZER, A. N., FALKOWSKI, P. G. The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science*, v. 330, 2010.

CHO, S.; IM, W. KIM, D.; KIM, M. SHIN, H. OH, S. Dry anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and methanogenic community analysis. *Bioresource Technology*, v. 131, p. 210-217, 2013.

CHO, K.; CHOI, M.; JEONG, D.; LEE, S.; BAE, H. Comparison of inoculum sources for long-term process performance and fate of anammox bacteria niche in poly(vinyl alcohol)/sodium alginate gel beads. *Chemosphere*, v. 185, p. 394-402, 2017.

CHU, Z.; WANG, K.; LI, X.; ZHU, M.; ZHANG, J. Microbial characterization of aggregates within a one-stage nitrification-anammox system using high-throughput amplicon sequencing. *Chemical Engineering Journal*, v. 262, p. 41-48, 2015.

COSTA, M. C. M. S.; CARVALHO, L.; LEAL, C. D.; DIAS, M. F.; MARTINS, K. L. GARCIA, G. B.; MANCUELO, I. D.; HIPÓLITO, T.; MACCONELL, E. F. A.; OKADA, D.; ETCHUBEHERE, C.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Impacto f onocula and operating conditions on the microbial community structure of two anammox reactors. *Environmental Technology*, v. 35, n. 14, p. 1811-1822, 2014.

DING, C.; ENYI, F.; ADRIAN, L. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) with planktonic cells in a redox-stable semicontinuous stirred-tank reactor. *Environmental, Science & Technology*, v. 52, p. 5671-5681, 2018.

DONG, H.; ZHANG, K.; HAN, X.; DU, B.; WEI, Q.; WEI, D. Achievement, performance and characteristics of microbial products in a partial nitrification sequencing batch reactor as a pretreatment for anaerobic ammonium oxidation. *Chemosphere*, v. 183, p. 212-218, 2017.

ENWALL, K.; PHILIPPOT, L.; HALLIN, S. Activity and Composition of the Denitrifying Bacterial Community Respond Differently to Long-Term Fertilization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 12, p. 8335–8343, 2005.

FRANÇA, M. S. Análise estatística multivariada dos dados de Monitoramento de qualidade de água da bacia do alto Iguaçu: uma ferramenta para a gestão de recursos hídricos. Dissertação de mestrado. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Universidade Federal do Paraná, 2009.

FERRIS, M. J.; MUYZER, G.; WARD, D. M. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Applied and environmental microbiology*, v. 62, n. 2, p. 340–6, 1996.

FERNANDES. L. A. Efeito da temperature no processo anammox aplicado ao pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio tratando esgoto doméstico. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2017. 151p.

FERNANDES, L. A.; PEREIRA, A. D.; LEAL, C. D.; DAVENPORT, R.; WERNER, D.; MOTA FILHO, C. R.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Effect of temperature on microbial diversity and nitrogen removal performance of an anammox reactor treating anaerobically pretreated municipal wastewater. *Bioresource Technology*, v. 258, p. 208-219, 2018.

FERNÁNDEZ, I.; DOSTA, J.; FARJADO, C.; CAMPOS, J. L.; CORRAL-MOSQUERA, A.; MÉNDEZ, R. Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the anammox process. *Journal of Environmental Management*, v. 95, p. 5170-5174, 2012.

FOWLER S. J.; PALOMO, A.; DECHESNE, A.; MINES, P. D.; SMETS, B. F. Comammox Nitrospira are abundant ammonia oxidizers in diverse groundwater-fed rapid sand filter communities. *Environmental Microbiology*, n.20, v. 3, p. 1002-1015, 2018.

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; SCHWARTZ, T.; HORN, H.; LACKNER, S. Comparing different reactor configurations for partial nitrification/anammox at low temperatures. *Water Research*, v. 81, p. 92-100, 2015.

GIUSTINIANOVICH, E. A.; CAMPOS, J.; ROECKEL, M. D.; ESTRADA, A. J.; MOSQUERRA-CORRAL, A.; VAL DEL RÍO, Á. Influence of biomass acclimation on the performance of a partial nitrification-anammox reactor treating industrial saline effluents. *Chemosphere*, v. 194, p. 131-138, 2018.

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; RODRIGUEZ-SANCHEZ, A.; RODELAS, B.; ABBAS, B. A.; MARTINEZ-TOLEDO, M. V.; LOOSDRECHT, M. C. M. VAN; OSORIO, F.; GONZALEZ-LOPEZ, J. 454-Pyrosequencing Analysis of Bacterial Communities from Autotrophic Nitrogen Removal Bioreactors Utilizing Universal Primers: Effect of Annealing Temperature. *BioMed Research International*, v. 2015, p. 1-12, 2015.

GRAHAM, D. W.; KNAPP, C. W.; VLECK, E. S. VAN; BLOOR, K.; LANE, T. B.; GRAHAM, C. E. Experimental demonstration of chaotic instability in biological nitrification. *The ISME Journal*, v. 1, n. 5, p. 385-393, 2007.

GRUNDITZ, C. & DALHAMMAR, G. Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of Nitrosomonas and Nitrobacter. *Water Research*, v.35, n. 2, p. 433-440, 2001.

GUEDES, H. A. S.; SILVA, D. D. Da; ELESBON, ABRAHÃO A. A.; RIBEIRO, CELSO B. M.; MATOS, Antonio T. De; SOARES, José H. P. Aplicação da análise estatística multivariada no estudo da qualidade da água do Rio Pomba, MG. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 16, p. 558-563., 2012.

GUO, Y.; ZHAO, Y.; ZHU, T.; LI, J.; FENG, Y.; ZHAO, H.; SITONG, L. A metabolic view of how nitrogen strength favors anammox biomass yield and nitrogen removal capability. *Water Research*, v. 143, p. 387-398, 2018.

GÜVEN, D.; DAPENA, A.; KARTAL, B.; SCHMID, M. C.; MAAS, B.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.; SOZEN, S.; MENDEZ, R.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M.; SCHMIDT, I. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 2, p. 1066-1071, 2005.

HAIR, J. F. Jr.; ANDERSON, R. E.; TATHAN, R. L.; BLACK, W. C. Análise Multivariada de dados. Tradução Adonai Schlup Sant'Anna e Anselmo Chaves Neto. 5. ed. Porto Alegre: Bookman., 2005.

HELLINGA, C.; SCHELLEN, A. A. J. C.; MULDER, J. W.; LOOSDRECHT, M. C. M. V.; HEIJINEN, J. J. The Sharon process an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich wastewater. *Water Science & Technology*, v. 35, p. 135-142, 1998.

HU, H. & HE, J. Comammox - a newly discovered nitrification process in the terrestrial nitrogen cycle. *Journal of Soils and Sediments*, v. 17, p. 2709-2717, 2017.

IACOVIDOU, E.; OHANDJA, D.; VOULVOULIS, N. Food waste co-digestion with sewage sludge - Realising its potential in the UK. *Journal of Environmental Management*, v. 112, p. 267-274, 2012.

JETTEN, M. S. M.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; ROBERTSON, L. A.; DE VRIES, S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, G. Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 71, p. 75-93, 1997.

JIN, R.; YANG, G.; YU, J.; ZHENG, P. The inhibition of the anammox process: a review. *Chemical Engineering Journal*, v. 197, p. 67-79, 2012.

KESSEL, M. A.; SULTIENS, K.; SLEGERS, M.F.; GUERRERO-CRUZ, S.; JETTEN, M. S.; KARTAL, B.; OD DEN CAMP, H. J. Current perspectives on the application of N-damo and anammox in wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 50, p. 222-227, 2018.

KINDAICHI, T.; KAWANO, Y.; ITO, T.; SATOH, H.; OKABE, S. Population dynamics and in situ kinetics of nitrifying bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by real-time quantitative PCR. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 94, n. 6, p. 1111-1121, 2006.

KORNAROS, M.; DOKIANAKIS, S. N.; LYBERATOS, G. Partial nitrification/denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances. *Environmental, Science & Technology*, v. 44, p. 7245-7253, 2010.

LACKNER, S.; GILBERT, E. M.; VLAEMINCK, S. E.; JOSS, A.; HORN, H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full-scale partial nitritation/anammox experiences - An application survey. *Water Research*, v. 55, p. 292-303, 2014.

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

LARA, B. S. Avaliação e comparação de diferentes estratégias para o enriquecimento de bactérias anammox. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009. 108p.

LAURENI M.; WEISSBRODT, D. G.; SZIVÁK, I.; ROBIN, O.; NIELSEN, J. L.; MORGENROTH, E.; JOSS, A. Activity and growth of anammox biomass on aerobically pre-treated municipal wastewater. *Water Research*, v. 80, p. 325-336, 2015.

LAURENI, M.; FALAS, P.; ROBIN, O.; WICK, A.; WEISSBRODT, D. G.; NIELSEN, J. L.; TERNES, T. A.; MORGENROTH, E.; JOSS, A. Mainstream partial nitrification and anammox: long-term process stability and effluent quality at low temperatures. *Water Research*, v. 101, p. 628-639, 2016.

LEAL, C. D. PEREIRA, A. D.; NUNES, F. T.; FERREIRA, L. O.; COELHO, A.C. C.; BICALHO, S. K.; MAC CONELL, E. F. A.; RIBEIRO, T. B.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Anammox for nitrogen removal from anaerobically pre-treated municipal wastewater: Effect of COD/N ratios on process performance and bacterial community structure. *Bioresource Technology*, v. 211, p. 257-266, 2016.

LI, H.; ZHOU, S.; HUANG, G.; XU, B. Partial nitritation of landfill leachate with varying influent composition under intermittent aeration conditions. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 91, p. 285-294, 2013.

LI, Q.; WANG, X.; ZHANG, P.; YU, J.; QIU, C.; ZHENG, J. Influence of temperature on an Anammox sequencing batch reactor (SBR) system under lower nitrogen load. *Bioresource Technology*, v. 269, p. 50-56, 2018.

LIU, T.; CHEN, X.; NI, B.; PENG, Y.; GUO, J. Evaluation of mainstream nitrogen removal by simultaneous partial-nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a granule-based reactor. *Chemical Engineering Journal*, v. 327, p. 973-981, 2017.

LOTTI, T.; VAN DE STAR, W. R. L.; KLEEREBEZEM, R.; LUBELLO, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. *Water Research*, v. 46, p. 2559-2569, 2012.

LOTTI, T.; KLEEREBEZEM, R.; LUBELLO, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research*, v. 60, p. 1-14, 2014a.

LOTTI, T.; KLEEREBEZEM, R.; HU, Z.; KARTAL, B.; JETTEN, M. S. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous partial nitrification and anammox at low temperature with granular sludge. *Water Research*, v. 66, p. 111-121, 2014b.

LOTTI, T. KLEEREBEZEM, R.; ABELLEIRA-PEREIRA, J. M.; ABBAS, B.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Faster through training: The anammox case. *Water Research*, v. 81, p. 261-269, 2015.

LU, M.; YANG, Y.; LUO, Y.; FANG, C.; ZHOU, X.; CHEN, J.; YANG, X.; LI, B. Responses of ecosystem nitrogen cycle to nitrogen addition: a meta-analysis. *New Phytologie*, v. 189, p. 1040-1050, 2011.

MA, B.; BAO, P.; WEI, Y.; ZHU, G.; YUAN, Z.; PENG, Y. Suppressing nitrite-oxidizing bacteria growth to achieve nitrogen removal from domestic wastewater via anammox using intermittent aeration with low dissolved oxygen. *Nature*, 2015.

MA, B.; WANG, S.; CAO, S.; MIAO, Y.; JIA, F.; DU, R.; PENG, Y. Biological nitrogen removal from sewage via anammox: Recent advances. *Bioresource Technology*, v. 200, p. 981-990, 2016.

MA, H.; NIU, Q.; ZHANG, Y.; HE, S.; LI, Y. Substrate inhibition and concentration control in an UASB-Anammox process. *Bioresource Technology*, v. 238, p. 263-272, 2017.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. *Microbiologia de Brock*. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 987 p.

MARTÍNEZ-ESPINOSA, R. M.; COLE, J. A.; RICHARDSON, D. J. WATMOUGH, N. J. Enzymology and ecology of the nitrogen cycle. *Biochemical Society Transactions*, v. 39, p. 176-178, 2011.

MARTINS, T. H.; SOUZA, T. S. O.; VARESCHE, M. B. A. The influence of stirring speed, temperature and initial nitrogen concentration on specific anammox activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 60, 2017.

MEHARIYA, S.; PATEL, A. K.; OBULISAMY, P. K.; PUNNIYAKOTTI, E.; WONG, J. W. C. Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. *Bioresource Technology*, 2018.

MIAO, L.; WANG, S.; CAO, T.; PENG, Y. Optimization of three-stage anammox system removing nitrogen from landfill leachate. *Bioresource Technology*, v. 185, p. 450-455, 2015.

MIAO, Y.; ZHANG, L.; YANG, Y.; PENG, Y.; LI, B.; WANG, S.; ZHANG, Q. Start-up of single-stage partial nitrification-anammox process treating low-strength swage and its restoration from nitrate accumulation. *Bioresource Technology*, v. 218, p. 771-779, 2016.

MIAO, Y.; PENG, Y.; ZHANG, L.; LI, B.; LI, X.; WU, L.; WANG, S. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chemical Engineering Journal*, v. 334, p. 664-672, 2018.

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

FERREIRA, B. O. Avaliação de um sistema de metanização de resíduos alimentares com vistas ao aproveitamento energético do biogás. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2015. 124p.

PRÁ, M. C.; KUNZ, A.; BORTOLI, M.; SCUSSIATO, L. A.; SOARES, H. M.; COLDEBELLA, A.; VANOTTI, M. Kinetic models for nitrogen inhibition in anammox process on deammonification system. In: IV Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management, Rio de Janeiro, Brazil, Maio, 2015.

PEREIRA, A. D.; LEAL, C. D.; DIAS, M. F.; ETCHEBEHERE, C.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Effect of phenol on the nitrogen removal performance and microbial community structure and composition of an anammox reactor. *Bioresource Technology*, v. 166, p. 103-111, 2014.

PEREIRA, A. D.; CABEZAS, A.; ETCHEBEHERE, C.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Microbial communities in anammox reactors: a review. *Environmental Technology Reviews*, v. 6, n. 1, p. 74-93, 2017.

PEREIRA, A. D. Reatores com atividade anammox para pós-tratamento de digestato de resíduo alimentar: Avaliação de diferentes estratégias de aeração e da comunidade microbiana. Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018. 263p.

PEREIRA, A. D.; FERNANDES, L. A.; CASTRO, H. M. C.; LEAL, C. D.; CARVALHO, B. G. P.; DIAS, M. F.; NASCIMENTO, A. M. A.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAÚJO, J. C. Nitrogen removal from food waste digestate using partial nitritation-anammox process: Effects of different aeration strategies on performance and microbial community dynamics. *Journal of Environmental Management*, v. 251, p. 109562, 2019.

PJEVAC, P.; SCHAUBERGER, C.; POGHOSYAN, L.; HERBOLD, C. W.; VAN KESSEL, M. A. H.; DAEBELER, A.; STEINBERGER, M.; JETTEN, M. S. M.; LUCKER, S.; WAGNER, M.; DAIMS, H. AmoA-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 2017.

RICHARDSON D. J. & WATMOUGH, N. J. Inorganic nitrogen metabolism in bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 3, p. 207-219, 1999.

ROSENBERG, E.; DE LONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E. *The Prokaryotes*. 14 ed. Nova Iorque: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013. 1013p.

ROTHAUWE, J. H.; WITZEL, K. P.; LIESACK, W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Applied and environmental microbiology*, v. 63, n. 12, p. 4704–12, 1997.

SEUNTJENS, D.; HAN, M.; KERCKHOF, F. M.; BOON, N.; AL-OMARI, A.; TAKACS, I.; MEERBURG, F.; DE MULDER, C.; WETT, B.; BOTT, C.; MURTHY, S.; ARROYO, J. M. C.; CLIPPELEIR, H.; VLAEMINCK, S. E. Pinpointing wastewater and process parameters controlling the AOB to NOB activity ratio in sewage treatment plants. *Water Research*, v. 131, p. 37-46, 2017.

SEUNTJENS, D.; CARVAJAL-ARROYO, J. M.; RUOPP, M.; BUNSE, P.; DE MULDER, C. P.; LOCHMATTER, S.; AGRAWAL, S.; BOON, N.; LACKNER, S.; VLAEMINCK, S. E.. High-resolution mapping and modeling of anammox recovery from recurrent oxygen exposure. *Water Research*, v. 144, p. 522-531, 2018.

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

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

SOLIMAN, M & ELDYASTI, A. Long-term dynamic and pseudo-state modeling of complete partial nitrification process at high nitrogen loading rates in a sequential batch reactor (SBR). *Bioresource Technology*, v. 233, p. 382-390, 2017.

STEFANAKIS, A.; CHRISTOS, S. A.; TSIHRINTZIS, V. A. Chapter 5 – Treatment Processes in VFCWs. *Vertical Flow Constructed Wetlands*, p. 57-84, 2014.

STEIN, L. Y. & KLOTZ, M. G. The nitrogen cycle. *Current Biology*, v. 26, p. 94-98, 2016.

STROUS, M.; HEIJNEN, J. J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 50, p. 589-596, 1998.

STROUS, M. FUERST, J. A. KRAMER, E. H. M.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; WEBB, R.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*, v. 400, 1999.

TAO, Y.; GAO, D.; YUAN, F.; WU, W.; REN, N. Impact of reactor configuration on anammox process start-up: MBR versus SBR. *Bioresource Technology*, v. 104, p. 73-80, 2012.

TOMAR, S & GUPTA S. K. Symbiosis of denitrification, anammox and anaerobic pathways - An innovative approach for confiscating the major bottlenecks of anammox process. *Chemical Engineering Journal*, v. 313, p. 355-363, 2017.

TOMASZEWSKI, M.; CEMA, G.; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA, A. Influence of temperature and pH on the anammox process: A review and meta-analysis. *Chemosphere*, v. 182, p. 203-214, 2017a.

TOMASZEWSKI, M.; CEMA, G.; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA, A. Significance of pH control in anammox process performance at low temperature. *Chemosphere*, v. 185, p. 439-444, 2017b.

TORRES, A. F. F.; DA ENCARNAÇÃO, S. A.; PASSOS, F.; CHERNICHARO, C. A. L.; MOTA FILHO, C. R.; CUNHA, C. F. Treatment of food waste digestate using microalgae-based systems with low intensity light-emitting diodes. *Water Science & Technology*, v. 98, p. 198-234, 2018.

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

VAN DER STAR, W. R. L.; ABMA, W. R.; BLOMMERS, D.; MULDER, J.; TOKUTOMI, T.; STROUS, M.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. *Water Research*, v. 41, p. 4149-4163, 2017.

VAN KESSEL, M. A. H. J.; STULTIENS, K.; SLEGGERS, M. F. W.; CRUZ, S. G.; JETTEN, M. S. M.; KARTAL, B.; OP DEN CAMP, H. J. M. Current perspectives on the application of N-damo and anammox in wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 50, p. 222-227, 2018.

VIANCELLI, A.; KUNZ, A.; ESTEVES, P. A.; BAUERMANN, F. V.; FURUKAWA, K.; FUJII, T.; ANTÔNIO, R. V.; VANOTTI, M. Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with ANAMMOX activity inoculated with swine sludge. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 54, n. 5, p. 1035-1041, 2011.

VIANCELLI, A.; PRA, M. C.; SCUSSIATO, L. A. CANTÃO, M.; IBELLI, A. M. G.; KUNZ, A. Preservation and reactivation of *Candidatus Jettenia asiatica* and *Anammoxoglobus propionicus* using different preservative agents. *Chemosphere*, v. 186, p. 453-458, 2017.

VON SPERLING, M. Princípios básicos do tratamento de esgotos, 2 ed. Belo Horizonte. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 2014, 211p.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade da água e ao tratamento de esgotos. 4 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 2014, 472p.

WAN, Y.; ZHOU, L.; WANG, S.; LIAO, C.; LI, N.; LIU, W.; WANG, X. Symbiotic growth of *Geobacter sulfurreducens* accelerates anaerobic denitrification. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.

WANG, Z.; PENG, Y.; MIAO, L.; CAO, T.; ZHANG, F.; WANG, S.; HAN, J. Continuous-flow combined process of nitrification and anammox for treatment of landfill leachate. *Bioresource Technology*, v. 214, p. 514-519, 2016.

WANG, H.; KIM, M.; LI, K.; SHAO, Y.; ZHU, J.; NAKHLA, G. Effective partial nitrification of ammonia in a fluidized bed bioreactor. *Environmental Technology*, 2017.

WANG, G.; ZHANG, D.; XU, Y.; HUA, Y.; DAI, X. Comparing two start up strategies and the effect of temperature fluctuations on the performance of mainstream anammox reactors. *Chemosphere*, v.209, p. 632-639, 2018.

WARD, B. B & JENSEN, M. M. The microbial nitrogen cycle. *Frontiers in Microbiology*, v. 5, 2014.

WEN, X.; GONG, B.; ZHOU, J.; HE, Q.; QING, X. Efficient simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) system equipped with a real-time dissolved oxygen (DO) intelligent control system and microbial community shifts of different substrate concentrations. *Water Research*, v. 119, p. 201-211, 2017.

WU, S.; BHATTACHARJEE, A. S.; WEISSBRODT, D. G.; MORGENROTH, E.; GOEL, R. Effect of short term external perturbations on bacterial ecology and activities in a partial nitrification and anammox reactor. *Bioresource Technology*, v. 219, p. 527-535, 2016.

WU, J. Comparison of control strategies for single-stage partial nitrification-anammox granular reactor for mainstream sewage treatment - a model-based evaluation. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017.

- WU, H.; DONG, R.; WU, S. Exploring low-cost practical antifouling strategies in the ammonia stripping process of anaerobic digested slurry. *Chemical Engineering Journal*, v. 344, p. 228-235, 2018.
- WU, N.; ZENG, M.; ZHU, B.; ZHANG, W.; LIU, H.; YANG, L.; WANG, L. Impacts of different morphologies of anammox bacteria on nitrogen removal performance of a hybrid bioreactor: Suspended sludge, biofilm and gel beads. *Chemosphere*, v. 208, p. 460-468, 2018.
- YANG, J.; ZHANG, L.; HIRA, D.; FUKUZAKI, Y.; FURUKAWA, K. High-rate nitrogen removal by the Anammox process at ambient temperature. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 672-676, 2011.
- YANG, J.; TRELA, J.; ZUBROWSKA-SUDOL, M.; PLAZA, E. Intermittent aeration in one-stage partial nitrification/anammox process. *Ecological Engineering*, v. 75, p. 413-420, 2015.
- YE, L.; LI, D.; ZHANG, J.; ZENG, H. Fast start-up of anammox process with mixed active sludge and settling option. *Environmental Technology*, v. 39, p. 3088-3095, 2017.
- YUAN, C.; LU, C.; MA, Y.; WANG, Y.; XIE, Y.; ZHANG, K.; WANG, Y.; LV, L.; FENG, X.; ZHU, T. A novel method to treat old landfill leachate combining multi-stage biological contact oxidation (MBCO) and single-stage autotrophic nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP). *Chemical Engineering Journal*, 2018.
- ZHANG, L.; LEE, Y.; JAHNG, D. Anaerobic co-digestion of food waste and piggy wastewater: Focusing on the role of trace elements. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 5048-5059, 2011.
- ZHANG, C.; XIAO, G.; PENG, L.; SU, H.; TAN, T. The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technology*, v. 129, p. 170-176, 2013.
- ZHANG, L.; NARITA, Y.; GAO, L.; ALI, M.; OSHIKI, M.; OKABE, S. Maximum specific growth rate of anammox bacteria revisited. *Water Research*, v. 116, p. 296-303, 2017a.
- ZHANG, F.; PENG, Y.; MIAO, L.; WANG, Z.; WANG, S.; LI, B. A novel simultaneous partial nitrification Anammox and denitrification (SNAD) with intermittent aeration for cost-effective nitrogen removal from mature landfill leachate. *Chemical Engineering Journal*, v. 313, p. 619-628, 2017b.
- ZHANG, F.; PENG, Y.; WANG, S.; WANG, Z.; JIANG, H. Efficient step-feed partial nitrification, simultaneous Anammox and denitrification (SPNAD) equipped with real-time control parameters treating raw mature landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, v. 364, p. 163-172, 2019.

ZHENG, B.; ZHANG, L.; GUO, J.; ZHANG, S.; YANG, A.; PENG, Y. Suspended sludge and biofilme shaped different anammox communities in two pilot-scale one-stage anammox reactors. *Bioresource Technology*, v. 211, p. 273-279, 2016a.

ZHENG, Z.; LI, J.; MA, J.; DU, J.; BIAN, W.; LI, Y.; ZHANG, Y.; ZHAO, B. Nitrogen removal via simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process under high DO condition. *Biodegradation*, 2016b.

ZHU, G.; WANG, S.; MA, B.; WANG, X.; ZHOU, J.; ZHAO, S.; LIU, R. Anammox granular sludge in low-ammonium sewage treatment: Not bigger size driving better performance. *Water Research*, v. 142, p. 147-158, 2018a.

ZHU, G. WANG, S.; WANG, C.; ZHOU, L.; ZHAO, S.; LI, Y.; LI, F.; JETTEN, M. S. M.; LU, Y.; SCHWARK, L. Resuscitation of anammox bacteria after > 10,000 years of dormancy. *The ISME Journal*, 2018b.

ZOU, Y.; XU, X.; WANG, X.; YANG, F.; ZHANG, S. Achieving efficient nitrogen removal and nutrient recovery from wastewater in a combining simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process with a photobioreactor (PBR) for biomass production and generated dissolved oxygen (DO) recycling. *Bioresource Technology*, v. 268, p. 539-548, 2018.