

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Programa de Pós-Graduação Em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos**

**REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTES**  
**ANAERÓBIOS EM REATORES COM ATIVIDADE ANAMMOX**

**Josiane da Silva Fernandes**

**Belo Horizonte**  
**2019**

Josiane da Silva Fernandes

**REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTES ANAERÓBIOS EM REATORES  
COM ATIVIDADE ANAMMOX**

**Versão final**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Juliana Calábria de Araújo

Coorientadora: Alyne Duarte Pereira

Belo Horizonte

2019

Fernandes, Josiane da Silva.  
F363r Remoção de nitrogênio de efluentes anaeróbios em reatores com  
atividade anammox [recurso eletrônico] / Josiane da Silva Fernandes. – 2019.  
1 recurso online (xi, 121 f. : il., color.) : pdf.

Orientadora: Juliana Calábria de Araújo.  
Coorientadora: Alyne Duarte Pereira.

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

Inclui bibliografia e anexos  
Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses. 3. Reatores -  
Teses. 4. Efluente - Qualidade - Teses. 5. Nitrificação - Teses. I. Araújo, Juliana  
Calábria de. II. Pereira, Alyne Duarte. III. Universidade Federal de Minas Gerais.  
Escola de Engenharia. IV. 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

Telefone: 55 (31) 3409-1882 - [posgradu@desa.ufmg.br](mailto:posgradu@desa.ufmg.br)

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

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Remoção de Nitrogênio de Efluentes Anaeróbios em Reatores com  
Atividade Anammox

**JOSIANE DA SILVA FERNANDES**

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos senhores

Prof.<sup>a</sup> Juliana Calábria de Araújo  
Orientadora

Dra. Alyne Duarte Pereira  
Coorientadora

Prof. Marcos von Sperling  
UFMG

Prof.<sup>a</sup> Silvana de Queiroz Silva  
UFOP

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

  
Prof.<sup>a</sup> Sonaly Cristina Borges de Lima  
Coordenadora

Prof.<sup>a</sup> Sonaly Cristina Borges  
Coordenadora

Versão final aprovada por

Prof.<sup>a</sup> Juliana Calábria de Araújo  
Orientadora

Belo Horizonte, 31 de agosto de 2019.

## AGRADECIMENTOS

Um antigo provérbio chinês diz: “Qual é o som de uma só mão a bater palmas”. Esse trabalho foi desenvolvido com a ajuda de várias mãos e muitas delas eu preciso nomear e agradecer.

Começo agradecendo a minha mãe, Rita Maria, pelo exemplo de professora que foi na vida profissional, que abriu as portas de casa para ensinar nordestinos analfabetos a ler, mostrando desde o início que a educação e o conhecimento transformam vidas. Obrigada por tantos ensinamentos repassados, todo apoio, amor, compreensão e investimentos nessa jornada, toda a minha gratidão e amor. Ao meu pai, Bernardino, por todo amor e orgulho diante dos esforços nos estudos, por todas as mensagens de força e consolo em meios as lágrimas de medo e saudades de casa.

A minha irmã, Josigleia, por me mostrar todos os dias que toda dificuldade pode ser superada. Ao meu irmão, Josigleisom, por todo incentivo e ajuda, e aos dois por entenderem a minha ausência e distância nesses dois anos de mestrado longe de casa e dos nossos pais.

Ao Mounir Kamal, por todo apoio, incentivo, amor e paciência nessa jornada.

Aos meus amigos da faculdade que são sempre presentes na minha vida. Em especial, à Layse, Thaís e Ana Carla, que sempre estão disponíveis nos conselhos e ombro amigo.

Ao meu amigo, Matheus Almeida, por todas as nossas conversas e incentivos nessa jornada.

Ao meu amigo tão querido, Jorginho, que muito contribuiu nessa dissertação, obrigada por toda ajuda despendida na parte de figuras.

À D. Amélia Konagano e família, por serem amigos muito queridos e estarem sempre na torcida positiva.

Aos amigos, Harvey, Vanessa, Adriana e Luiza, por tantas conversas e momentos de descontração. À Jessyca Inglis, que por dois incansáveis anos me incentivou a vir para Belo Horizonte, e aqui chegando, foi uma anfitriã muito especial.

Aos meus primos, Dani, Vanildo, Júlia e João, de Teresina, Piauí, por todo apoio e amor.

À Estela e família, que foram um apoio sem igual durante o meu período em Belo Horizonte.

À Ana Paula, por ter sido a melhor vizinha que eu poderia ter tido em Belo Horizonte.

Às políticas públicas que foram desenvolvidas nos últimos anos e permitiram que eu pudesse ingressar em uma universidade pública. Assim como ao CNPq e a Van Hall Larenstein, pela concessão das bolsas de pesquisas.

A todos os professores e servidores do SMARH/DESA/UFMG, que sempre estiveram disponíveis em colaborar ao longo do nosso trabalho.

A todos os amigos e funcionários do laboratório de tratamento de água e efluentes da UFMG. Em especial, à Cintia, por tanta paciência, ensinamentos e caronas nesse período.

À Cássia, Thaís e Priscila, por ajudarem na coleta de efluente.

Aos alunos da Iniciação Científica, Débora e Francis, que muito contribuíram para a realização desse mestrado.

À Dr<sup>a</sup> Alyne, minha coorientadora, que foi uma “mãe científica” nessa jornada, muito obrigada por todos os *e-mails* e mensagens respondidas, orientações, paciência e rock’n’roll às sete horas da manhã.

Aos amigos da minha turma de Saneamento 2017, em especial, à Mirene, Brenda, Laura e ao Michel. A todos os bolsistas e amigos do quarteirão dez (Q10), em especial, ao Thiago e Andres, que muito me auxiliaram diante das dificuldades encontradas.

A minha orientadora, professora Juliana, pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, assim como por todo conhecimento e ensinamento repassados.

À Karolina Smiech, que muito contribuiu no período de estágio na Holanda, assim como os funcionários do WAC, Wetsus e CEW, em especial, ao Johan, Roll, Haizan e Sade.

À Pilar Castro, uma irmã que o intercâmbio me deu. Obrigada por partilhar comigo diariamente a vida no laboratório e ter sido tão especial nesse tempo.

Aos meus *roommates*, Jana e Daniel, por terem sido tão generosos no nosso tempo de convívio.

À Thamyres e família, pela recepção e amizade no período de intercâmbio. À Lúcia e Fred, pela ajuda no período de intercâmbio e pelo nosso adorável grupinho *souplovers*.

A todos que torceram, incentivaram e emitiram boas energias para superação de mais um desafio, tanto profissional como pessoal.

E por último, mas não menos importante, eu agradeço a Deus que colocou exatamente cada pessoa que eu precisava em cada momento. Que mesmo nos momentos mais incrédulos nunca me abandonou. Por tanto amor e luz.

## RESUMO

Nas últimas décadas com o crescimento populacional, o uso intensivo de fertilizantes na agricultura e o lançamento de efluentes sem tratamento contendo nitrogênio tem provocado severos danos aos corpos hídricos. Nesse sentido, torna-se extremamente importante realizar o tratamento dos efluentes domésticos e industriais principalmente para remoção de nutrientes e de matéria orgânica. O processo de oxidação anaeróbia da amônia (Anammox) é bastante promissor para a remoção de nitrogênio de efluentes e geralmente é associado a outros processos, como a nitrificação parcial (NP). Dessa forma, as melhorias contínuas para a efetiva aplicação do processo em diferentes tipos de efluente ainda se fazem necessárias. Este trabalho avaliou o desempenho de reatores em bateladas sequencias (RBS) com atividade Anammox para: 1) remoção de nitrogênio de efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente, 2) remoção de nitrogênio de digestato de resíduo alimentar. O experimento foi dividido em duas etapas. A Etapa 1, realizada em RBS em escala laboratorial de 2 L (RBS-Lab), consistiu em três fases experimentais: 1) Enriquecimento de bactérias Anammox; 2) Alimentação com efluente doméstico mais nitrito; e 3) Avaliação de duas estratégias de aeração intermitente (0,050 e 0,025 L/min/Lreator) para o desenvolvimento do processo de NP/Anammox para a remoção de N-amoniacal. A Etapa 2 foi realizada em RBS escala-piloto (RBS-Piloto) de 500 L em duas fases: 1) Enriquecimento de bactérias Anammox; e 2) Operação com digestato de resíduo alimentar. Os resultados para o RBS laboratorial na Fase 1 foram de: 41 e 91% de eficiência de remoção mediana de amônia e nitrito, respectivamente. Na Fase 2 as medianas de remoção foram de 56% para amônia e 98% para nitrito. Nas Fases 3 e 4 com as duas estratégias de aeração avaliadas, os valores obtidos foram diferentes do que é pretendido no processo de NP/Anammox, uma vez que a amônia consumida foi oxidada a nitrato, portanto, não alcançando-se o pretendido nessas fases (a remoção de amônia nesta fase foi de 90% com consumo total de nitrito e mediana de produção de nitrato igual a 50 mg/L). Os resultados obtidos para o RBS-piloto foram de mediana de eficiência de remoção de amônia de 31 e 32% de nitrito na Fase 1 (com meio sintético); e na Fase 2, obteve-se 67% de remoção mediana de amônia e 99% de nitrito, evidenciando maior atividade Anammox na Fase 2, e indicando que foi possível cultivar Anammox a partir de efluente real (digestato de resíduo alimentar) suplementado com nitrito. Os resultados de detecção das bactérias do ciclo do nitrogênio mostraram que as bactérias

Anammox, oxidadoras de amônia, oxidadoras de nitrito (*Nitrospira* e *Nitrobacter*) e desnitrificantes estiveram presentes nos reatores (RBS laboratorial e piloto) em todas as fases testadas; e portanto, estavam envolvidas na remoção e conversão das formas nitrogenadas em ambos reatores.

Palavras-Chave: Reator laboratorial, Reator Piloto, micro-aeração, efluente doméstico, digestato de resíduo alimentar, nitrificação parcial.



## ABSTRACT

In the last decades with the population growth, the intensive use of fertilizers in agriculture and the release of effluents without treatment containing nitrogen have caused severe damages to water bodies. So, it becomes extremely important to do the treatment of domestic and industrial effluents, mainly for the removal of nutrients and organic matter. The anaerobic oxidation process of ammonia (Anammox) is very promising for the removal of nitrogen from effluents and is generally associated with other processes, such as partial nitrification (PN). Thus, continuous improvements for the effective application of the process in different types of effluent are still necessary. This study evaluated the performance of sequential batch reactors (SBR) with Anammox activity for: 1) nitrogen removal from anaerobically pretreated domestic effluent, 2) nitrogen removal from food waste digestate. The experiment was a two-step trial. Step 1, performed in SBR on a 2 L laboratory scale (SBR-Lab), and consisted of three experimental phases: 1) Enrichment of Anammox bacteria; 2) Feeding with domestic effluent plus nitrite; and 3) Evaluation of two intermittent aeration strategies (0.050 and 0.025L/min/Lreator) for the development of the PN/Anammox process for the removal of N-ammonia. Step 2 was a 500L pilot-scale SBR (Pilot SBR) two-phase trial: 1) Enrichment of Anammox bacteria; and 2) Operation with food residue digestate. The results for the laboratory SBR in Phase 1 were 41 and 91% efficiency of median removal of ammonia and nitrite, respectively. In Phase 2 the removal medians were 56% for ammonia and 98% for nitrite. In Phases 3 and 4 with the two aeration strategies evaluated, the values obtained were different from what is intended in the PN/Anammox process, since the ammonia consumed was oxidized to nitrate, therefore, the desired in these phases was not achieved (the removal of ammonia in this phase was 90% with total nitrite consumption and median nitrate production equal to 50mg/L). The results obtained in Phase 1 for the pilot SBR were median of ammonia removal efficiency of 31 and 32% of nitrite (with synthetic material); and in Phase 2, 67% of median ammonia removal and 99% of nitrite were obtained, showing greater Anammox activity in Phase 2, and indicating that it was possible to cultivate Anammox from real effluent (digestate of food waste) supplemented with nitrite. The detection results of the nitrogen cycle bacteria showed that the Anammox bacteria, ammonia oxidizers, nitrite oxidizers (*Nitrospira* and *Nitrobacter*) and denitrifiers were present in the reactors (laboratory and pilot SBR) in all tested

phases; and therefore, they were involved in the removal and conversion of nitrogenous forms in both reactors.

Keywords: Laboratory reactor, Pilot Reactor, micro-aeration, domestic effluent, food residue digestate, partial nitrification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Ciclo do Nitrogênio.....	20
Figura 2.2	Demonstração esquemática da reação Anammox pelos <i>planctomycetales</i> . ....	26
Figura 2.3	Micrografia eletrônica (direita) e representação esquemática (esquerda) de uma célula Anammox mostrando o Anammoxossomo.....	28
Figura 2.4	Processos de NP/Anammox em reatores de um e dois estágios. ....	30
Figura 2.5	Distribuição geográfica de reatores Anammox operando em escala real ao redor do mundo.....	40
Figura 4.1	Reatores UASB localizados no CEPTS como pré-tratamento anaeróbio para o RBS laboratorial.....	48
Figura 4.2	Reator em Batelada Sequencial (RBS) Anammox em escala laboratorial. ....	49
Figura 4.3	Fluxograma do processo de tratamento do resíduo alimentar e pós-tratamento do efluente líquido gerado no sistema de tratamento.....	54
Figura 4.5	Reator UASB localizado no Q10 como pré-tratamento anaeróbio para o RBS-piloto.....	55
Figura 4.6	RBS-piloto localizado no Quarteirão 10, com sistema de agitação para mistura completa e sonda de Oxigênio Dissolvido. ....	56
Figura 4.7	Descrição de operação do RBS em escala-piloto com duração de cada período.....	58
Figura 4.8	Fluxograma das análises realizadas para as amostras afluente e efluente nos RBS.....	60
Figura 5.1	Box plot das concentração de Ntotal ( $N-NH_4^+ + N-NO_2^-$ ) afluentes e efluentes no reator durante os ciclos longo e curta fase 1 de operação do RBS laboratorial.....	66
Figura 5.2	Dinâmica dos compostos nitrogenados no RBS laboratorial nas fases 1 e 2 de operação.....	67
Figura 5.3	Eficiência de remoção de amônia e nitrito no RBS laboratorial nas fases 1 e 2 de operação.....	68
Figura 5.4	Coefficiente estequiométrico para o consumo de nitrito por consumo de amônio durante as fases 1 e 2 de operação do RBS laboratorial.....	69
Figura 5.5	Box-plot das concentrações afluente e efluente de DBO na fase 2 de operação do RBS laboratorial. ....	70
Figura 5.6	Box plot das concentrações afluente e efluente de NTK do RBS laboratorial na fase 2. ....	71

Figura 5.7	Box-plot dos valores afluente e efluente de DQO total e DQO solúvel no RBS laboratorial.....	73
Figura 5.8	Relação DQO/N obtida para o efluente doméstico pré tratado anaerobiamente na fase 2 de operação do RBS laboratorial.....	75
Figura 5.9	Gráfico box plot com os valores afluente e efluentes do RBS laboratorial para alcalinidade na fase 2 de operação. ....	76
Figura 5.10	Dinâmica dos compostos nitrogenados nas fases 3 e 4 do RBS laboratorial. ....	77
Figura 5.11	Gráfico box plot de remoção de nitrogênio Ntotal no RBS laboratorial nas fases 3 e 4 com aeração.....	79
Figura 5.12	Coefficientes estequiométricos para a produção de nitrato por consumo de amônio obtidos durante as fases 3 e 4 de operação do RBS laboratorial. ....	80
Figura 5.13	Concentrações afluente e efluentes de DBO do RBS laboratorial nas fases 3 e 4. ....	83
Figura 5.14	Box plot das concentrações afluente e efluente para alcalinidade no RBS laboratorial nas fases 3 e 4. ....	84
Figura 5.15	Box plot das concentrações de DQO total nas fases 3 e 4 do RBS laboratorial. ....	85
Figura 5.16	Detecção dos micro-organismo do ciclo do nitrogênio pela PCR com iniciadores para o DNA r 16S de bactérias Anammox (Pla 46f/ Amx 820r) (A). Para <i>Nitrospira</i> NTSPAF/ NTSPAR – 151 pb (B). Para <i>Nitrobacter</i> Nitro1198/ Nitro 1423-397 pb (C). Para oxidadoras de amônia <i>AmoA1R/ AmoA2R</i> – 491 pb (D). Para desnitrificantes NosZF/NosZ 1622R-500 Pb (E). ....	86
Figura 5.17	Dinâmica dos compostos nitrogenados no RBS-piloto nas duas fases de operação (A) e box plot das Eficiência de remoção de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> e N-NO <sub>2</sub> (B).....	91
Figura 5.18	Eficiência de remoção de amônio e nitrito durante a operação do RBS-piloto.....	92
Figura 5.19	Coefficientes estequiométricos obtidos na fase 1 de operação do RBS-piloto.....	94
Figura 5.20	Concentração NT (NTK+nitrato+nitrato) afluente aplicada e efluente removida na fase 2 de operação do RBS-piloto. ....	95
Figura 5.21	Box plot das concentrações afluente e efluente de NTK para o RBS-piloto na fase 2. ....	95
Figura 5.22	Box plot da DQO total e solúvel afluente e efluente no RBS-piloto na fase 2 de operação. ....	97
Figura 5.23	Relação DQO/N obtida na fase 2 do RBS-piloto.....	98

Figura 5.24	Box plot das concentrações afluentes e efluentes de ST e STV na fase 2 de operação do RBS-piloto. ....	99
Figura 5.25	Box plot das concentrações afluente e efluente de alcalinidade para o RBS-piloto na fase 2 de operação. ....	101
Figura 5.26	Box plot das concentrações afluente e efluente de DBO para o RBS-piloto na fase 2. ....	102
Figura 5.27	Detecção dos micro-organismo do ciclo do nitrogênio pela PCR convencional com iniciadores para o DNAr 16S de bactérias Anammox (Pla 46f/ Amx 820r) (A), para <i>Nitrospira</i> NTSPAF/ NTSPAR – 151 pb (B), para <i>Nitrobacter</i> Nitro 1198/ Nitro 1423 – 397 pb (C). Para Oxidadoras de amônia <i>AmoA1R/ AmoA2R</i> – 491 pb (D). Para as Desnitrificantes <i>NosZF/NosZ</i> 1622R – 500 Pb(E). ....	103

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Formas predominantes do nitrogênio em meio aquático .....	5
Tabela 2.2	Espécies de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia já descritas. ....	29
Tabela 2.3	Revisão de literatura artigos sobre a NP/Anammox com os melhores resultados obtidos em diferentes tipos de efluentes. ....	36
Tabela 4.3	Fases operacionais do RBS laboratorial com suas respectivas durações e tipo de efluente aplicado. ....	50
Tabela 4.5	Composição do meio mineral autotrófico para alimentação na fase um de operação do RBS laboratorial. ....	51
Tabela 4.6	Composição das soluções de Micronutrientes I e II.....	51
Tabela 4.7	Fases operacionais do RBS escala-piloto.....	56
Tabela 4.8	Característica do digestato de resíduo alimentar após a diluição de 4x.....	59
Tabela 4.9	Parâmetros físico-químicos avaliados no afluente e efluente dos RBS-piloto e RBS laboratorial e metodologias de análise aplicadas.	
Tabela 4.10	Iniciadores utilizados nas reações de PCR para detecção de micro-organismos do ciclo do nitrogênio. ....	63
Tabela 4.11	Concentração dos reagentes utilizados nas reações de PCR. ....	63
Tabela 5.1	Resultados da série de sólidos para afluente do RBS (efluente anaeróbio de reator UASB tratando esgoto doméstico) e efluente do RBS na fase 2 de operação .....	72
Tabela 5.2	Resumo dos parâmetros analisados no RBS laboratorial de acordo com a legislação vigente na fase 2-----	73
Tabela 5.3	Resumo dos parâmetros analisados no RBS laboratorial de acordo com a legislação vigente nas fases 3 e 4-----	73
Tabela 5.4	Concentrações medianas de amônia e nitrito afluentes e efluentes no RBS-piloto nas fases de operação.....	74
Tabela 5.5	Resultados medianos da série de sólidos do RBS-piloto fase 2 para afluente com diluição de 4x. ....	994
Tabela 5.6	Resultado das análises de sólidos para a biomassa do RBS-piloto.....	85
Tabela 5.7	Resumo dos parâmetros analisados de acordo com a legislação vigente--	92

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAMMOX – *Anaerobic Ammonium Oxidation*

BOA – Bactérias Oxidantes de Amônia

BON – Bactérias Oxidadoras de Nitrito

CePTS – Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento da UFMG/COPASA

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

N – Nitrogênio

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N – Nitrogênio Amoniaco

NO<sub>2</sub>-N – Nitrito

NO<sub>3</sub>-N – Nitrato

Nitrificação Parcial – NP

NTK – Nitrogênio Total Kjeldahl

OD – Oxigênio Dissolvido

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

Q10 – Quarteirão 10

RBS – Reator em Batelada Sequencial

SSF – Sólidos Suspensos Fixos

SST – Sólidos Suspensos Totais

SSV – Sólidos Suspensos Voláteis

TDH – Tempo de Detenção Hidráulica

TRS – Tempo de Retenção de Sólidos

UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	17
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	20
2.1 Aspectos ambientais do nitrogênio .....	20
2.1.1 Processos biológicos envolvidos no ciclo do nitrogênio .....	22
2.1.1.1 Nitrificação .....	23
2.1.1.2 Desnitrificação .....	23
2.2 Processo Anammox .....	24
2.2.1 Bactérias Anammox .....	26
2.2.2 Processo de Nitrificação Parcial/Anammox .....	29
2.2.3 Fatores intervenientes no processo de Nitrificação/Anammox .....	37
2.2.4 Aplicação Nitrificação Parcial/Anammox .....	39
2.2.5 Inibição do processo de NP/Anammox .....	41
2.3 Processo Anammox como alternativa na remoção de nitrogênio de efluentes de reatores UASB .....	43
3 OBJETIVOS .....	46
3.1 Objetivo geral .....	46
3.2 Objetivos específicos .....	46
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	47
4.1 Etapa 1: processo Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico proveniente de reator UASB .....	47
4.1.1 Descrição do processo de tratamento do efluente doméstico .....	47
4.1.1.1 <u>RBS em escala laboratorial para pós-tratamento do efluente doméstico</u> .....	48
4.1.1.2 <u>Operação do reator durante a Etapa 1 da pesquisa</u> .....	49
4.1.1.3 Fase 1: Enriquecimento e cultivo de bactérias Anammox .....	50
4.1.1.4 Fase 2: Alimentação do reator com efluente doméstico suplementado com nitrito .....	52
4.1.1.5 Fases 3 e 4: Avaliação de estratégias de aeração para desenvolvimento do processo de nitrificação parcial e Anammox no reator .....	52
4.2. Etapa 2: processo Anammox para pós-tratamento de digestato de resíduo alimentar proveniente de reator UASB .....	53
4.1.2 Descrição do processo de tratamento do resíduo alimentar .....	53



4.1.2.1	<u>RBS em escala-piloto para pós-tratamento do digestato de resíduo alimentar</u> .....	55
4.1.2.2	Fase 1: Enriquecimento de bactérias Anammox no RBS-piloto com meio de cultivo mineral e autotrófico.....	56
4.1.2.3	Fase 2: Alimentação do reator com digestato de resíduo alimentar pré-tratado em reator UASB .....	58
4.2	Análises físico-químicas nos RBS.....	59
4.3	Detecção de bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio por PCR.....	61
4.3.1	Extração de DNA para PCR .....	62
4.3.2	Iniciadores e condições utilizadas na PCR .....	62
4.4	Análises estatísticas .....	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
5.1	Etapa 1: avaliação do processo Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico proveniente de reator UASB .....	65
5.1.1	Monitoramento do RBS durante a Fase 1 (Enriquecimento e cultivo de bactérias Anammox com meio de cultivo) e Fase 2 (alimentação com efluente doméstico anaeróbioe suplementação com nitrito).....	65
5.1.2	Avaliação de estratégias de aeração para o desenvolvimento do processo de nitrificação parcial e Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico (Fases 3 e 4).....	76
5.1.3	Detecção dos Microrganismos do ciclo do Nitrogênio.....	85
5.1.4	Atendimento a legislação brasileira dos parâmetros analisados.....	87
5.2	ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO ANAMMOX PARA PÓS-TRATAMENTO DE DIGESTATO DE RESÍDUO ALIMENTAR PROVENIENTE DE REATOR UASB (RBS-piloto) .....	89
5.2.1	Detecção de bactérias do Ciclo do Nitrogênio por PCR.....	103
5.2.4	Atendimento a legislação brasileira dos parâmetros analisados.....	105
6	CONCLUSÕES .....	106
7	RECOMENDAÇÕES.....	109
	REFERÊNCIAS .....	110
	APÊNDICE .....	123

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a contaminação dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos por nitrogênio atingiu proporções alarmantes (RIBEIRO *et al.*, 2016). O excesso de aplicações de fertilizantes nitrogenados na agricultura, a utilização de tanques sépticos (que não realizam uma remoção eficiente de contaminantes) e o lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados ou tratados apenas para a remoção de carbono (contendo ainda nitrogênio amoniacal) e os resíduos do processamento de alimentos (ERGAS; REUSS, 2001) têm fornecido para o lençol freático e para as águas superficiais altas cargas de nitrogênio.

Observa-se que esse aumento de nitrogênio leva a severas consequências para os usos benéficos desses recursos hídricos, incluindo alterações no abastecimento de água potável e o crescimento excessivo de algas por eutrofização artificial (NOVOTNY, 2003), comprometendo assim a qualidade da água e do meio ambiente como um todo.

O nitrogênio é um dos contaminantes mais importantes presentes em efluentes domésticos, sendo que os compostos de nitrogênio são nutrientes para processos biológicos. São tidos como macronutrientes, pois, depois do carbono, o nitrogênio é o elemento exigido em maior quantidade pelas células vivas. Ele ocorre numa multiplicidade de formas e estados de oxidação (HULTH *et al.*, 2005).

Grande parte do nitrogênio chega aos diferentes corpos d'água na forma de amônia, nitrito e nitrato, criando problemas de toxicidade à flora e fauna aquática, diminuição da concentração de oxigênio dissolvido (OD) e eutrofização. Outros problemas também afetam a saúde humana, como a meta-hemoglobinemia, também conhecida como síndrome do bebê azul, que ocorre em crianças quando expostas à águas contaminadas em excessiva concentração de nitrato, quando esse se reduz a nitrito (HE *et al.*, 2009).

A remoção de nitrogênio das águas residuárias convencionalmente é feita pelos processos de nitrificação seguido de desnitrificação. No Brasil, os efluentes domésticos ainda que tratados contêm nitrogênio (na forma de N-amoniacal), pois a maioria das ETE só removem matéria orgânica e sólidos, diferentemente das ETES localizadas na Europa, que removem nitrogênio e

fósforo. A nitrificação é um processo biológico no qual ocorre a conversão de amônia em nitrito e posteriormente em nitrato (RAHMAN *et al.*, 2011), exigindo o suprimento suficiente de oxigênio dissolvido para manter as condições adequadas ao desenvolvimento de bactérias nitrificantes (ZENATTI *et al.*, 2009).

É necessária a aeração nessa etapa, uma vez que as bactérias nitrificantes são estritamente aeróbias, portanto, há gasto de energia (nos processos aerados). A etapa da desnitrificação consiste na redução biológica dos nitritos e geralmente dos nitratos a nitrogênio molecular em ambiente anóxico, em que estes funcionam como aceptores de elétrons, também utilizando uma fonte orgânica de carbono (NETO, 2011).

O processo Anammox (do inglês *anaerobic ammonium oxidation*), descoberto na década de 1990, é um processo biológico capaz de converter o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) usando o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) como aceptor de elétrons. Este se destaca por ser econômico e ambientalmente vantajoso em relação aos processos convencionais, como nitrificação e desnitrificação (ABMA *et al.*, 2007). Tal processo tem atraído muita atenção (JETTEN *et al.*, 1998) por sua baixa demanda de oxigênio, já que é um processo anaeróbio. Além disso, não requer adição de fontes externas de carbono (VAN DONGEN *et al.*, 2001), já que as bactérias Anammox são autotróficas (não utilizando carbono orgânico)

O processo Anammox é capaz de alcançar elevada eficiência de remoção de nitrogênio com baixa produção de lodo (DU *et al.*, 2017). A Nitrificação Parcial/Anammox (NP/A) é um atalho autotrófico no processo de remoção de nitrogênio, na qual as bactérias com atividade Anammox normalmente são utilizadas juntamente com a nitrificação parcial, dessa maneira a conversão da amônia a nitrogênio gasoso se dá por via completamente autotrófica. Na NP, a amônia é parcialmente convertida a nitrito, por bactérias aeróbias oxidadoras de amônia, na presença de baixas concentrações de oxigênio. Subsequentemente, bactérias Anammox convertem a amônia remanescente, juntamente com o nitrito produzido, em nitrogênio gasoso e um pouco de nitrato (VLAEMINCK *et al.*, 2012).

Muitos avanços foram feitos quanto à aplicação do processo de NP/Anammox e desde o final de 2014 já são mais de 100 instalações em escala plena em operação no mundo. Com mais de

50% de todas as instalações de NP/A em reatores de batelada sequencial e 88% de todos os reatores sendo operados em sistemas de estágio único e 75% utilizados em estações de tratamento municipais. (MULDER *et al.*, 1995; 2008; STROUS *et al.*, 1999a; LACKNER *et al.*, 2014;).

O grupo de pesquisa vem desenvolvendo trabalhos na temática de tratamento de efluentes por meio do processo Anammox, desde de 2006 com o enriquecimento e cultivo de bactérias do processo Anammox em diversos tipos de lodo, em 2011, começaram os estudos sobre outros fatores no desenvolvimento do processo, como a adição de fenol, a relação DQO/N e a variação de temperatura. Em 2014, começaram os estudos utilizando efluente proveniente de digestato de resíduos alimentares, para esse mesmo efluente também foram testados os processos conjugados de NP/A com diferentes taxas de ar. Então, observa-se que ainda era necessário estudar a aplicação do NP/A para o pós tratamento de efluentes doméstico aplicando vazões de ar sugeridas em trabalhos anteriores.

Apesar dos avanços nos estudos acerca do processo Anammox e do sucesso de sua aplicação em diversos países, pesquisas em que esse processo foi utilizado para pós-tratamento de efluentes domésticos anaeróbios e de digestato de resíduos alimentares ainda são escassas na literatura e necessitam de maiores investigações, a fim de avaliar a aplicabilidade do processo de nitrificação parcial e Anammox para o pós-tratamento desses efluentes.

O presente trabalho se justifica pela necessidade de ampliar os estudos a respeito desse processo conjugado de nitrificação parcial/Anammox com a utilização de sistema de aeração para a remoção de nitrogênio amoniacal de águas residuárias domésticas como esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente porque a maioria dos trabalhos na literatura sobre NP/A utilizaram efluente sintético e não real, como é a proposta do presente estudo. Assim estudar a viabilidade da instalação de reatores em escala-piloto tratando efluente de digestato de resíduo alimentar.

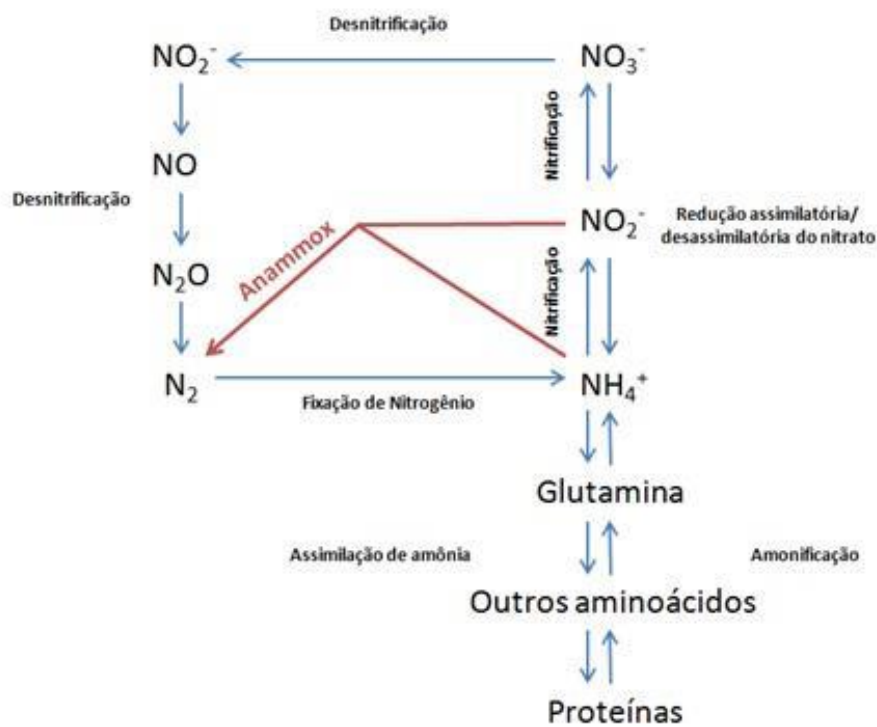
Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação dos processos de nitrificação parcial e Anammox como pós-tratamento de efluentes anaeróbios para a remoção de compostos nitrogenados.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aspectos ambientais do nitrogênio

O ciclo global do nitrogênio, o mais complexo dos ciclos minerais, tem sido estudado com grande interesse porque o nitrogênio é o mineral nutriente mais utilizado por micro-organismos e plantas. O nitrogênio é o quarto elemento mais comum encontrado nas células, as transformações no ciclo do nitrogênio podem ser realizadas por micro-organismos sendo elas: fixação do nitrogênio, amonificação, redução assimilatória, dessimilação do nitrato, nitrificação, desnitrificação e Anammox (Figura 2.1).

Figura 2.1. Ciclo do nitrogênio



Fonte: Pereira (2013).

Nas últimas quatro décadas, os processos antropogênicos alteraram substancialmente o ciclo global do nitrogênio aumentando a disponibilidade e mobilidade de compostos nitrogenados no ambiente, incluindo os sistemas de água (KUMAR; LIN, 2010). O nitrogênio está presente em águas residuárias sob quatro formas, as quais são o nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico,

nitrito e nitrato (HULTH et al., 2005). Em águas residuárias domésticas, o nitrogênio está presente principalmente como nitrogênio amoniacal (em torno de 60%) e nitrogênio orgânico (em torno de 40%). Nitrito e nitrato ocorrem em pequenas quantidades, que representam menos de 1% do nitrogênio total, uma vez que o esgoto doméstico não apresenta quantidade de oxigênio dissolvido suficiente que possibilite a ação das bactérias nitrificantes

O nitrogênio presente em águas residuárias domésticas provém da atividade humana. O material fecal contribui com nitrogênio orgânico através das proteínas. Estas por sua vez, sofrem a ação decompositora bacteriana com conseqüente liberação de nitrogênio amoniacal. No ciclo do nitrogênio na biosfera, este nutriente se alterna entre várias formas e estados de oxidação, como resultado de diversos processos bioquímicos. No meio aquático o nitrogênio pode ser encontrado nas formas apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Formas predominantes do nitrogênio em meio aquático.

Forma	Fórmula	Estado de Oxidação
Nitrogênio molecular	N <sub>2</sub>	0
Nitrogênio orgânico	Variável	Variável
Amônia livre	NH <sub>3</sub>	-3
Íon amônio	NH <sub>4</sub>	-3
Íon nitrito	NO <sub>2</sub>	+3
Íon nitrato	NO <sub>3</sub>	+5

Fonte: von Sperlling (2005).

As espécies de nitrogênio podem ser agrupadas em nitrogênio total (NT) e Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) (von SPERLLING, 2005), os quais são formados pelas seguintes substâncias conforme as Equações 2.1 e 2.2:

$$NTK = \text{amônia} + \text{N- orgânico (forma predominante nos esgotos domésticos)} \quad (2.1)$$

$$NT = NTK + NO_2 + NO_3 \quad (\text{nitrogênio total}) \quad (2.2)$$

O lançamento e a acumulação de compostos nitrogenados (em forma de amônia, nitritos e nitratos) em águas superficiais e subterrâneas podem apresentar efeitos deletérios para a vida

aquática e constituem perigos potenciais à saúde humana. A presença desses compostos nos corpos d'água pode comprometer sua utilização. Além de causarem a depleção de oxigênio dissolvido devido às reações de oxidação junto com o fósforo, os compostos nitrogenados contribuem para a eutrofização dos corpos receptores, cujos efeitos podem incluir: problemas de odor, turbidez e baixo nível de oxigênio dissolvido, afetam a respiração de peixes, bênton e plâncton.

Além dos problemas mencionados anteriormente, os compostos nitrogenados também ocasionam problemas estéticos e recreacionais nos corpos hídricos; condições anaeróbias no fundo do corpo d'água; condições anaeróbias no corpo d'água como um todo; eventuais mortandades de peixes; maior dificuldade e elevação nos custos de tratamento da água; problemas com o abastecimento de água industrial, toxicidade das algas e cianobactérias; modificação na qualidade e quantidade de peixes de valor comercial; redução na navegação e desaparecimento gradual do lago como um todo (von SPERLLING, 2007).

O excesso de nitrato em águas representa um potencial risco para a saúde, pois  $\text{NO}_3^-$  pode ser reduzido a  $\text{NO}_2^-$ , o qual se combina com a hemoglobina do sangue, o que causa metahemoglobinemia (síndrome do bebê azul) em recém-nascidos e mesmo em adultos com particular deficiência enzimática a meta-hemoglobina é forma de hemoglobina em que o ferro ferroso ( $\text{Fe}_2^+$ ) é oxidado a ferro férrico ( $\text{Fe}_3^+$ ). O ferro ferroso é o que fixa o oxigênio. Essa oxidação torna a hemoglobina incapaz de fixar o oxigênio e, conseqüentemente, de transportá-lo e disponibilizá-lo a nível celular. A quantidade de nitrito deve também ser controlada devido à possível formação de nitrosaminas carcinogênicas, pela sua reação com aminas secundárias presentes no estômago de mamíferos (ALMASRI, 2007; MARCHESINI *et al.*, 2012; ZOPPAS, 2012).

### **2.1.1 Processos biológicos envolvidos no ciclo do nitrogênio**

O ciclo do nitrogênio é formado por um conjunto de reações de oxido-redução mediadas por micro-organismos distintos. Neste trabalho será dado destaque às rotas de maior importância para o tratamento de efluentes, a saber: nitrificação, desnitrificação e Anammox.

A forma mais convencional de eliminação do nitrogênio de efluentes ocorre em duas etapas distintas. Na primeira, realizada em condições de aerobiose (oxigênio como acceptor de elétrons), a amônia passa a nitrato, designando-se esta etapa de nitrificação. A segunda etapa, designada por desnitrificação, é realizada na ausência de oxigênio, ou na presença de baixas concentrações de oxigênio dissolvido, tendo-se o nitrato como substância que aceita elétrons, oriundos de um material orgânico (estas condições são designadas como anóxicas). Na desnitrificação, o nitrato é reduzido a N<sub>2</sub> gasoso, tendo as substâncias gasosas óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) como possíveis intermediários, igualmente lançados na atmosfera, porém em quantidades normalmente muito baixas (SCHIMDELL *et al.*, 2007).

As etapas de nitrificação e desnitrificação estão melhores descritas abaixo:

#### 2.1.1.1 Nitrificação

A nitrificação é a oxidação biológica da amônia, tendo como produto final o nitrato. A reação requer mediação de bactérias específicas e se realiza em dois passos sequenciais. No primeiro passo a amônia é oxidada para nitrito (nitritação) através da ação bioquímica das bactérias como as do gênero *Nitrossomonas*. No seguinte passo, a oxidação de nitrito para nitrato (nitratção) é mediada por bactérias como as do gênero *Nitrobacter*. Ambos os gêneros *Nitrossomonas* e *Nitrobacter* somente desenvolvem atividade bioquímica na presença de oxigênio dissolvido (OD), isto é, são aeróbios obrigatórios. Ambos os passos podem ser escritos nas equações 2.3, 2.4 e 2.5.



#### 2.1.1.2 Desnitrificação

A desnitrificação consiste na redução do nitrato a compostos de nitrogênio gasoso. Por se tratar de um processo redutivo, também é considerada uma forma de respiração, onde os microorganismos em condições limitadas de oxigênio ou mesmo anóxicas, utilizam compostos



nitrogenados inorgânicos como aceptores finais de elétrons. Na desnitrificação completa, o nitrato é reduzido a nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso e, por fim, a nitrogênio gasoso (BOTHE *et al.*, 2007; MADIGAN *et al.*, 2010). É uma das principais fontes de emissões de NO (óxido nítrico) e N<sub>2</sub>O na atmosfera (JETTEN, 2004).

Por se tratar de tema de maior relevância neste trabalho, o processo Anammox será descrito mais detalhadamente no tópico subsequente.

## **2.2 Processo Anammox**

Em 1995, na Holanda, Mulder e colaboradores observaram pela primeira vez a oxidação de amônia sob condições anaeróbias e denominaram este processo Anammox. O processo Anammox é quimiolitotrófico, ocorre em condições anóxicas, temperatura entre 20°C e 43°C e sofre inibição reversível na presença de oxigênio (STROUS *et al.*, 1999a). Sob altas concentrações de OD, as BON podem competir com as BOA pelo oxigênio, além da possibilidade de competição entre as BON e bactérias Anammox pelo N-NO<sup>-2</sup> disponível (WEN *et al.*, 2017). De acordo com os autores, é importante que haja controle do forçamento de OD para favorecer as BOA e evitar o crescimento da comunidade de BON.

A taxa de crescimento das bactérias é lenta. Jetten *et al.* (2001) estimaram o tempo de duplicação em média de 11 dias. Devido a este baixo crescimento, a partida de reatores pode ser extremamente demorada, Jetten *et al.* (1998) afirmam que é necessário de três a quatro meses para se obter uma cultura enriquecida e estável. Bettazzi *et al.* (2010) obtiveram atividade Anammox após cinco meses de operação de um reator em escala-piloto (RBS 40 L) tratamento efluente doméstico proveniente de uma estação de tratamento na Itália, a remoção de nitrogênio foi de 0,10 kg/N m<sup>3</sup>.d<sup>-1</sup>.

A grande vantagem desse processo reside na utilização do carbono inorgânico como fonte de carbono para o crescimento celular, o que torna o processo completamente autotrófico. Ainda, devido à lenta velocidade de crescimento das bactérias em estudo, o processo produz pouco volume de lodo, além de exigir menor gasto energético com aeração durante a nitrificação

parcial, reduzindo os custos com tratamento quando comparado ao processo convencional de nitrificação/desnitrificação (FERNANDÉZ *et al.*, 2012).

Assim as vantagens descritas do processo Anammox quando comparadas aos sistemas de tratamentos convencionais (nitrificação e desnitrificação), como as wetlands construídas que são de baixo custo, de fácil operação e manutenção, e têm um grande potencial para aplicação em países em desenvolvimento, e também tratam efluente doméstico com remoção de nitrogênio e sem consumo de energia (KIVAISI, 2000). Dentre as wetlands construídas destacam-se as wetlands horizontais de fluxo subsuperficial que são unidades largamente aplicadas na Europa e EUA e que potencialmente promovem tratamento satisfatório.

Apesar de serem bactérias autotróficas, que utilizam o CO<sub>2</sub> como fonte de carbono, alguns estudos demonstram que as Anammox podem oxidar compostos orgânicos como propionato completo a acetato, mas sem utilizar este carbono para crescimento. Kartal (2007) verificou que *Anammoxoglobus propionicus* que é um gênero das bactérias Anammox é capaz de fazer isso não incorporaram os ácidos graxos voláteis na biomassa, mas oxidam completamente em CO<sub>2</sub>, desta forma mantendo uma baixa produção de biomassa (KARTAL *et al.*, 2007). Este potencial organotrófico das bactérias Anammox apresenta vantagens no tratamento de efluentes. A conversão de ácidos graxos por bactérias Anammox impede uma alta produção de lodo e permite a remoção de nitrogênio total e da produção de nitrato em menor concentração do efluente (WINKLER *et al.*, 2012).

Diante dessas vantagens apresentadas, a Universidade Federal de Minas Gerais, por meio do laboratório de Análises Microbiológicas de Água e Efluentes, iniciou suas pesquisas no processo Anammox, com enriquecimento e desenvolvimento de biomassa, estudando e otimizando as condições operacionais ideais para melhor tempo de partida e para obtenção de melhor eficiência de remoção dos compostos nitrogenados em reatores Anammox (LARA, 2009; CAMPOS, 2011; PEREIRA, 2013; LEAL, 2015). A aplicação do processo em escala-piloto também está sendo desenvolvida por Pereira (2018), assim como foram realizados estudos sobre o efeito da temperatura no processo Anammox (FERNANDES, 2017) e, mais

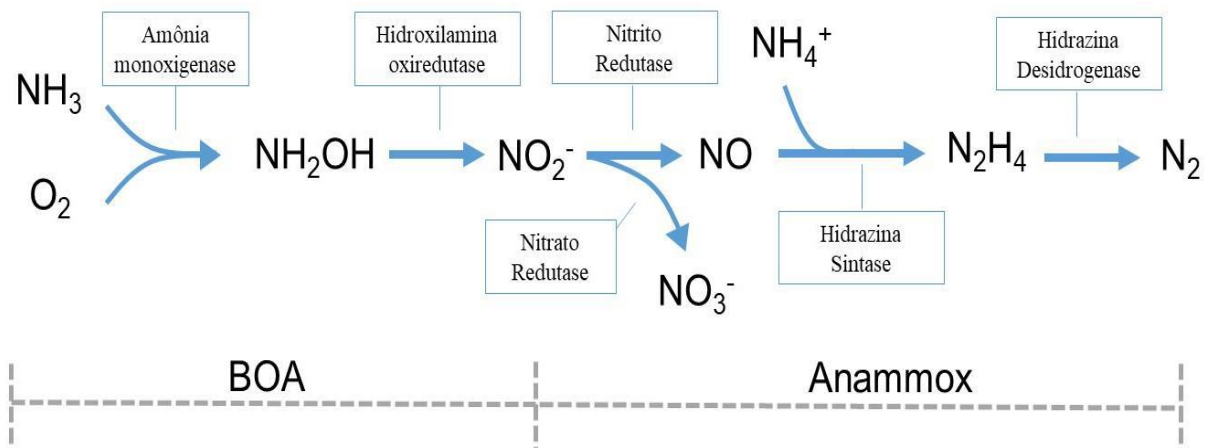
recentemente, pesquisas com diferentes taxas e condições de aeração a fim de promover o processo de NP/Anammox (CARVALHO, 2019).

### 2.2.1 Bactérias Anammox

De acordo com Jetten *et al.* (1998), na oxidação anaeróbia da amônia, a bactéria responsável pelo processo Anammox reduz nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) a hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ). Posteriormente, a hidroxilamina e o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) são condensados à hidrazina ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ) e  $\text{H}_2\text{O}$ . A hidrazina é então oxidada a nitrogênio gasoso ( $\text{N}_2$ ) e os elétrons são utilizados para reduzir a próxima molécula de nitrito (MADIGAN *et al.*, 2015).

A reação anammox utiliza  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_2^-$  para formar  $\text{N-N}_2$  através dos intermediários  $\text{N-NO}$  e hidrazina ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ) (STEIN & KLOTZ, 2016). Na reação anammox, primeiro o  $\text{N-NO}_2^-$  é reduzido a  $\text{N-NO}$  através da ação da nitrito redutase e depois o  $\text{N-NO}$  interage com o  $\text{N-NH}_4^+$ , produzindo  $\text{N-N}_2\text{H}_4$  por meio da enzima hidrazina hidroxilase. A  $\text{N-N}_2\text{H}_4$  é então oxidada a  $\text{N-N}_2$  através da enzima hidrazina desidrogenase (MADIGAN *et al.*, 2016). Uma demonstração esquemática das vias metabólicas do processo anammox, com os compostos nitrogenados envolvidos na reação, enzimas e atividade microbiana pode ser observada na Figura 2.2:

Figura 2.2.1- Demonstração esquemática da reação Anammox pelos *planctomycetales*.

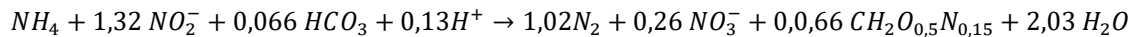


Fonte: adaptada de Wu *et al.* 2016 apud Carvalho (2019).

As bactérias anaeróbicas oxidadoras de amônia (Anammox) são quimiolitotroficas com Anammoxosomo, uma organela única na qual a energia é gerada pela oxidação da amônia em

gás nitrogênio com utilização do nitrito como acceptor de elétrons (JETTEN *et al.*, 2005). No processo Anammox, amônia e nitrito são simultaneamente transformados em gás nitrogênio, com a produção de uma pequena quantidade de nitrato (RAUDKIVI *et al.*, 2017). Na equação 2.7 é apresentada a estequiometria do processo Anammox (JETTEN *et al.*, 1998).

Equação (2.7)

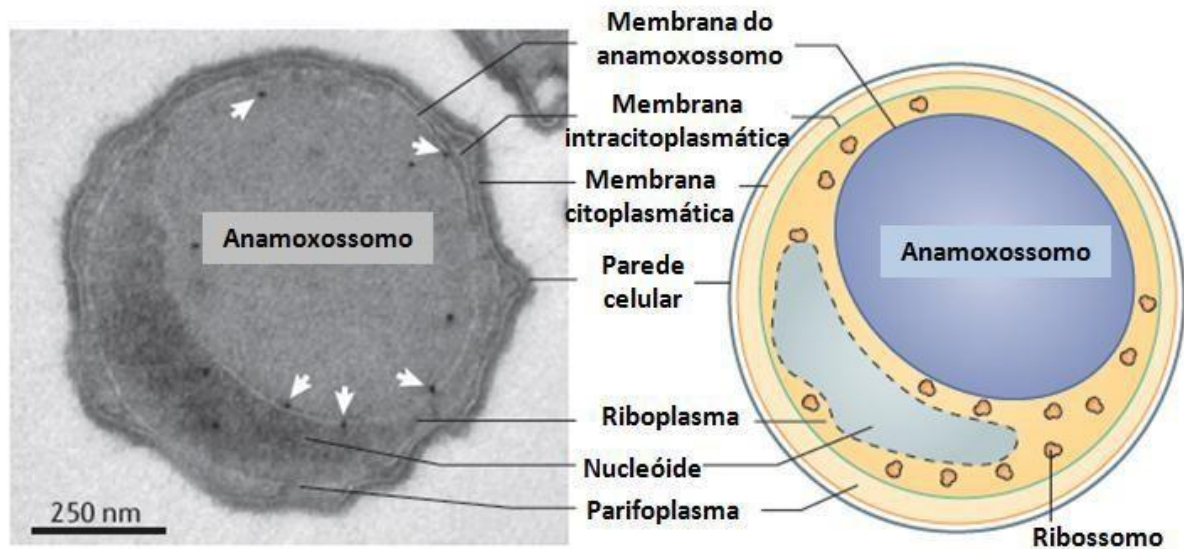


As bactérias que realizam o processo Anammox são pertencentes ao filo bacteriano Planctomycetes e ordem Brocadiales (STROUS *et al.*, 1999b), possuem forma de cocos, têm aproximadamente um micrômetro de diâmetro e possuem coloração alaranjada devido à elevada concentração de citocromos no interior de suas células (JETTEN *et al.*, 1998). Os Planctomycetes formam um grupo distinto dentro do domínio bacteria, o qual possui características bastantes específicas, entre elas a presença de compartimentalização intracelular.

Neste compartimento, denominado anamoxossomo, estão localizadas enzimas que possibilitam a oxidação anaeróbia da amônia, como a hidrazina hidrolase e a hidrazina oxidoreductase (VAN NIFTRIK *et al.*, 2004; KARTAL *et al.*, 2012; FUERST; SAGULENKO, 2011). Como pode ser observado na Figura 2.3, esta estrutura ocupa grande parte do volume da célula (LINDSAY *et al.*, 2001).

A membrana do Anammoxossomo é a estrutura que realiza a separação entre esta organela e o riboplasma circundante, o que é importante para que seja gerada força próton motiva (FPM) através da membrana do Anammoxossomo pela ATP sintase, para geração de energia na célula. Além disso, esta estrutura membranosa possui densidade elevada, fator importante para impedir a saída de compostos intermediários tóxicos do metabolismo Anammox, como por exemplo, a hidrazina (FUERST; SAGULENKO, 2011).

Figura 2.2.1 Micrografia eletrônica (direita) e representação esquemática (esquerda) de uma célula Anammox mostrando o Anamoxossomo.



Fonte: adaptada de Fuerst e Sagulenko (2011).

As bactérias Anammox possuem sequências do gene 16S rRNA as quais têm sido detectadas frequentemente em ambientes anóxicos, incluindo marinhos, água doce e ecossistemas terrestres, onde o processo Anammox significativamente (até quase 100%) contribuiu para a remoção de nitrogênio (BRANDES *et al.*, 2007; HU *et al.*, 2013; LONG *et al.*, 2013). Até a presente data, cerca de dezenove espécies e, em geral, seis gêneros foram identificados no grupo taxonômico de bactérias Anammox (Tabela 2.2).

Ainda não há cultura pura de qualquer espécie Anammox, no entanto, várias culturas bacterianas Anammox foram enriquecidas como monospécies em laboratório utilizando-se diferentes técnicas de cultura (as bactérias Anammox não são cultivadas a partir de técnicas convencionais de cultivo (em placas) mas é necessário ter reatores contínuos para o cultivo e isolamento das mesmas), reatores de contato biológico rotativo (EGLI *et al.*, 2001), reator sequencial em batelada (RBS) (STROUS *et al.*, 1998), reator de coluna de fluxo ascendente (KINDAICHI *et al.*, 2007; TSUSHIMA *et al.*, 2007; OSHIKI *et al.*, 2013;) e biorreator de membrana (MBR) (VAN DER STAR *et al.*, 2008; AWATA *et al.*, 2013; ALI *et al.*, 2015). As espécies bacterianas Anammox *Candidatus Jettenia caeni* (ALI *et al.*, 2015), *Ca. Brocadia sinica* (OSHIKI *et al.*, 2011, 2013; TSUSHIMA *et al.*, 2007), *Ca. Scalindua japônica* (AWATA

*et al.*, 2013) e *Ca. Kuenenia stuttgartiensis* (VAN DER STAR *et al.*, 2008) foram relatados como sendo enriquecidos com 90% de pureza.

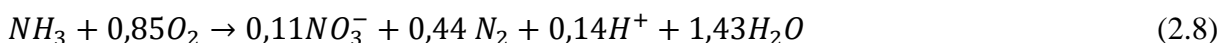
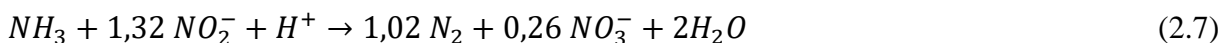
Tabela 2.22- Espécies de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia já descritas.

Gênero	Espécie	Referência
<i>Brocadia</i>	<i>Candidatus Brocadia Anammoxidans</i>	Strous <i>et al.</i> (1999a); Kartal <i>et al.</i> (2007); Hu <i>et al.</i> (2013); Vanotti <i>et al.</i> (2005); Araújo <i>et al.</i> (2011).
	<i>Candidatus Brocadia fulgida</i>	
	<i>Candidatus Brocadia sinica</i>	
	<i>Candidatus Brocadia caroliniensis</i>	
	<i>Candidatus Brocadia brasiliensis</i>	
<i>Scalindua</i>	<i>Candidatus Scalindua brodae</i>	Schmidt <i>et al.</i> (2002); Kuypers <i>et al.</i> (2003); Woebken <i>et al.</i> (2008); Li <i>et al.</i> (2010); Brandsma <i>et al.</i> (2011); Hong <i>et al.</i> (2011); Fuchsman <i>et al.</i> (2012); van de Vossenberg <i>et al.</i> (2013).
	<i>Candidatus Scalindua wagneri</i>	
	<i>Candidatus Scalindua orokinii</i>	
	<i>Candidatus Scalindua arabica</i>	
	<i>Candidatus Scalindua sinooifield</i>	
	<i>Candidatus Scalindua zhenghei</i>	
	<i>Candidatus Scalindua marina</i>	
	<i>Candidatus Scalindua richardsii</i>	
<i>Candidatus Scalindua rofunda</i>		
<i>Anammoxoglobus</i>	<i>Candidatus Anammoxoglobus propionicus</i>	Kartal <i>et al.</i> (2007); Liu <i>et al.</i> (2008).
	<i>Candidatus Anammoxoglobus sulfate</i>	
<i>Jettenia</i>	<i>Candidatus Jettenia asiatica</i>	Tsushima <i>et al.</i> (2007); Nikolaev <i>et al.</i> (2015).
	<i>Candidatus Jettenia caeni</i>	
	<i>Candidatus Jetteniamoscoviensis</i>	
<i>Kuenenia</i>	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	Schmid <i>et al.</i> (2000).
<i>Anammoximicrobium</i>	<i>Candidatus Anammoximicrobium moscowii</i>	Khramenkova <i>et al.</i> (2013).

Fonte: Leal (2016).

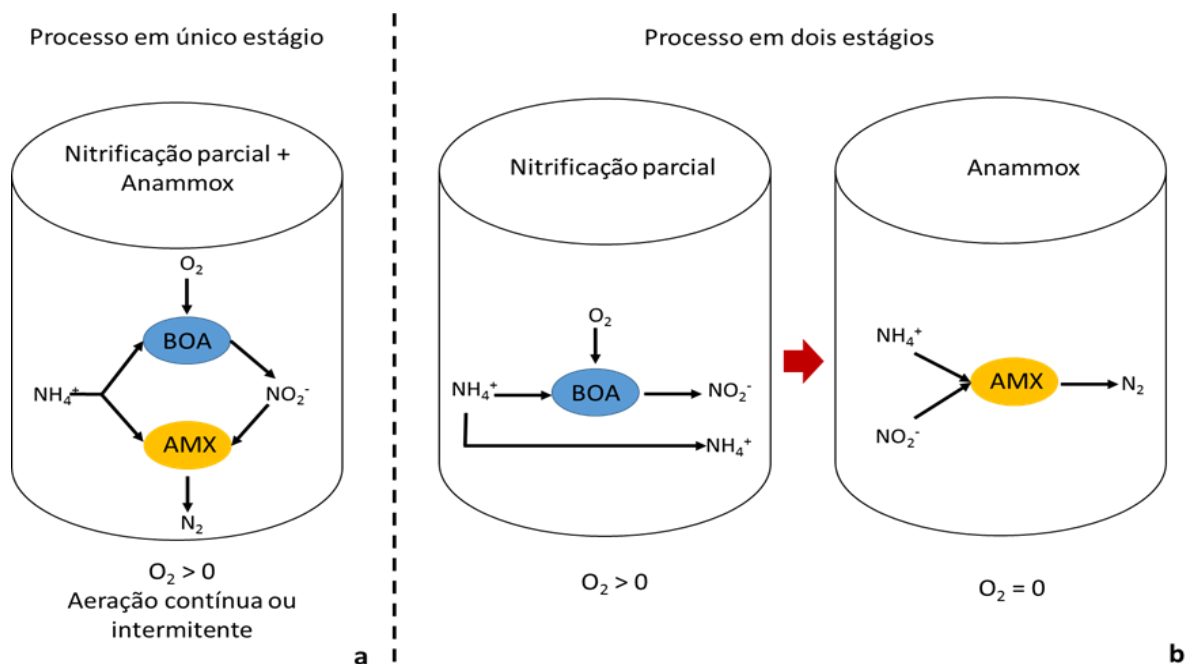
## 2.2.2 Processo de Nitrificação Parcial/Anammox

No processo de NP/Anammox é necessário que a estequiometria seja obedecida, na qual amônia mais nitrito estejam disponíveis em proporção de 1:1,32, não ocorrendo essa estequiometria é necessário que se adicione nitrito ao efluente para que efetivamente o processo ocorra. A reação geral do processo de NP/A para remoção autotrófica de nitrogênio está resumida nas equações. (2.6, 2.7 e 2.8) (SLIEKERS *et al.*, 2002).



A remoção de amônia das águas residuárias pelo processo de nitrificação parcial e Anammox envolve duas etapas. Na primeira, baixas concentrações de oxigênio são fornecidas ao reator para promover a oxidação parcial de amônia ( $\text{NH}_4^+$ ) para nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) por bactérias aeróbias oxidadoras de amônia (AOB), etapa denominada “nitrificação parcial”. Na segunda, bactérias Anammox usam nitrito para oxidar a amônia ( $\text{NH}_4^+$ ) para gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ). Tanto a nitrificação parcial, quanto a etapa com bactérias Anammox podem ser realizadas em um reator único (*single stage*) ou em um sistema de reator de dois estágios (Figura 2.4).

Figura 2.2.2 - Processos de NP/Anammox em reatores de um e dois estágios.



Legenda: BOA = Bactérias Oxidadoras de Amônia; e AMX - Bactérias Anammox.

(a) único estágio; e (b) dois estágios.

Fonte: Pereira et al. (2018).

Os principais desafios para a implementação da NP/Anammox no tratamento de esgoto convencional estão associados ao desenvolvimento de métodos robustos para suprimir as bactérias oxidadoras de nitrito (BON) e promover o crescimento e a atividade das AnAOB, sob influência relativamente baixa de concentrações de nitrogênio (40-80 mg  $\text{NH}_4^+\text{N/L}$ ) e não negligenciáveis quantidades de carbono orgânico biodegradável (que permitem o desenvolvimento de organismos heterotróficos, que competem por nitrito com bactérias Anammox através da desnitrificação) (DE COCKER *et al.*, 2018)

Alguns estudos utilizando o processo de NP/Anammox para o tratamento de diferentes tipos de efluentes são descritos na literatura. Giustinianovich *et al.* (2018) utilizou um RBS com NP/Anammox para o pós-tratamento de efluente de indústria de conserva de peixe. Hendricks *et al.* (2014) utilizou o processo Anammox para tratamento de efluente proveniente de lodo de digestão anaeróbica de estação de tratamento de esgoto doméstico.

Daverey (2015), estudou os processos simultâneos de nitrificação parcial, Anammox e desnitrificação (SNAD) em um reator em batelada sequencial com biofilme de 2,5 L (SBBR) utilizando novos materiais como suporte para biomassa, como tecido não poroso (CHEN *et al.*, 2009), zeólito (FERNANDEZ *et al.*, 2008), material de resina acrílica (QIAO *et al.*, 2009), tiras de esponja de polietileno (ZHANG *et al.*, 2010), plástico esférico (CHEN *et al.*, 2012), carvão de bambu (CHEN *et al.*, 2012) e esferas de poliuretano (DAVEREY *et al.*, 2013)

A operação do sistema foi estável em longo prazo. Observou-se carga de nitrogênio removida e carga orgânica removida de 360 e 180 g/m<sup>3</sup>/d, respectivamente, com médias de eficiência de remoção de nitrogênio total e DQO maiores que 88% e 90%, respectivamente. Resultados da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), PCR qualitativa (qPCR), e microscopia eletrônica de varredura das amostras de lodo confirmaram a coexistência e seleção de AOB, bactérias Anammox e bactérias desnitrificantes no reator e formação de biofilme suporte.

Considerando que bactérias Anammox são reversivelmente inibidas por baixas concentrações de oxigênio, para que esse processo possa ocorrer em um único reator, a oxidação aeróbia da amônia deve remover praticamente todo o oxigênio do líquido. Para tanto, o fluxo de entrada de amônia no reator deve ser mantido acima do fluxo de entrada de oxigênio (SEYFRIED *et al.*, 2001; GONZALEZ MARTINEZ *et al.*, 2016).

De acordo com Jaroszynski e Oleszkiewicz (2011) um sistema composto por dois reatores é de maior complexidade em termos de operação e configuração, uma vez que é necessário a construção e manutenção de duas unidades reacionais em série, enquanto que em apenas um reator de único estágio o processo pode ocorrer simultaneamente.



Inicialmente, visando melhor controle operacional, os primeiros sistemas implementados utilizaram o processo de NP/Anammox em duas etapas e em dois reatores, fazendo uso de sistemas já consolidados de nitrificação parcial (por exemplo, reatores tipo SHARON) (HELLINGA *et al.*, 1998; VOLCKE *et al.*, 2006; SRI SHALINI; JOSEPH, 2013). Posteriormente, observou-se uma tendência para utilização dos processos de nitrificação parcial e Anammox em uma etapa única e, sendo que a utilização dos processos em um único estágio vem aumentando nos últimos anos.

Para se obter um bom desempenho na remoção de nitrogênio por meio da nitrificação parcial/Anammox (NP/A) em um único estágio, é fundamental que a nitrificação seja encerrada em sua primeira etapa (até a formação do  $\text{NO}_2^-$ ). Para isso, o modo de operação do sistema deve favorecer as bactérias aeróbias oxidadoras de amônia (BOA) e inibir os micro-organismos responsáveis pela oxidação do nitrito até nitrato (bactérias oxidadoras de nitrito – BON).

Para isso, fatores importantes a serem considerados são o modo de aeração e a concentração de oxigênio dissolvido fornecida ao sistema, que podem ser determinantes para a atividade de micro-organismos do ciclo do nitrogênio. As BOA possuem maior afinidade pelo oxigênio em relação às BON (WANTAWIN *et al.*, 2008). Blackburne *et al.* (2008) encontraram constantes de meia saturação ( $K_o$ ) para o oxigênio para BOA e BON iguais a, respectivamente,  $0,033 \pm 0,003$  mg/Le  $0,43 \pm 0,08$  mg/L. Dessa forma, as BOA são capazes de crescer em condições onde as concentrações de oxigênio dissolvido são mais baixas, condição que limita, ao mesmo tempo, o crescimento de BON e faz com que o nitrito se faça disponível para bactérias Anammox no reator.

O processo de obtenção de nitrito é realizado através da nitritação (ou nitrificação parcial), em que a subsequente oxidação do nitrito para nitrato não seja concluída. De acordo Wiesmann *et al.* (2007) a reação de oxidação da amônia é de 3,0 a 3,8 vezes mais energética ( $240$  a  $350 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ) que a oxidação do nitrito ( $65$  a  $90 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ). Assumindo que o crescimento celular das bactérias envolvidas nesse processo é proporcional à energia liberada na reação das mesmas, pode-se afirmar que o crescimento das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) é mais

favorecido do que o das bactérias oxidadoras de nitrito (BON), o que acaba sendo vantajoso quando o objetivo é acumular nitrito no reator.

Recentemente, a integração de nitrificação parcial, Anammox e reações de desnitrificação em um único reator para tratamento de efluentes com baixo teor de carbono em relação ao nitrogênio (C/N) têm sido relatadas e o processo denominado como nitrificação parcial, Anammox e desnitrificação simultâneas (SNAD). (DAVEREY *et al.*, 2015).

O processo NP/A de estágio único tem sido estudado principalmente no tratamento de efluentes ricos em amônia. Recentemente, a viabilidade NP/A de estágio único para esgoto com baixo teor de amônia (CLIPPELEIR *et al.*, 2011; HU *et al.*, 2013). No entanto, existem ainda muitos problemas para sua aplicação no tratamento de esgoto. A grande formação de nitrato é a questão crítica, que leva a uma alta concentração de nitrogênio em efluentes e deteriora o desempenho de remoção de nitrogênio. A acumulação de nitratos é causada pelo enriquecimento de NOB. Como o nitrito pode ser rapidamente consumido pela NOB, a atividade Anammox foi limitada devido a uma oferta inadequada de nitrito e a eficiência de remoção de nitrogênio caiu nos processos PN/A. (MIAO *et al.*, 2016).

Lotti *et al.* (2015) também utilizaram efluente doméstico proveniente da estação de tratamento de Rotterdam para o processo de NP/Anammox, utilizando temperatura de 19 graus, em um reator em escala-piloto. As taxas médias de conversão de remoção de N e amônia eram superiores aos dos sistemas convencionais de remoção de N e amônia respectivamente, com 182 e 315 mg-N/L/d. A DBO também foi oxidada no sistema, com uma eficiência média de remoção de 90%. A biomassa heterotrófica cresceu preferencialmente em flocos e foi lavada para fora do sistema. Ao longo do experimento, o principal gargalo foi o processo de nitrificação que resultou em condições limitantes de nitrito para a conversão do processo Anammox. As bactérias Anammox foram capazes de crescer em condições e os novos grânulos foram eficientemente formados no sistema.

Barros *et al.* (2018) investigou a possibilidade de integrar a remoção de metano em reatores Anammox com lodo granular com nitrificação parcial, por meio de modelagem e simulação. Os resultados da simulação demonstraram que a remoção combinada de nitrogênio e metano

foram viáveis em condições com baixo oxigênio dissolvido. Dessa forma, a integração de remoção de metano em reator com NP/Anammox parece ser uma boa opção para reduzir a emissão de carbono no tratamento de efluentes.

Vários fatores podem interferir no processo de NP/Anammox e estão relacionados ao controle operacional dos RBS, dentre eles: O efeito do tempo de aeração, concentração de oxigênio dissolvido e temperatura são os mais importantes.

Xu *et al* (2017) alcançaram altas eficiências de remoção de amônia através da combinação dos processos SHARON e Anammox em reatores híbridos de biofilme (HBR) e em reatores anaeróbios com chicanas (em inglês, *anaerobic baffled reactor*, ABR) no tratamento de chorume. As chicanas do ABR têm como objetivo aumentar o tempo de contato entre o efluente e a biomassa. A concentração de OD no HBR variaram de 0,5 a 3,5 mg/L. Os resultados mostraram que a concentração inicial de 336-685 mg/L de amônia no afluente foi reduzida para 25 mg/L no efluente final, com uma eficiência total de remoção de nitrogênio que atingiu o máximo de 75% e taxa de carga de remoção de nitrogênio acima de 0,4 kg/(d.m<sup>3</sup>). O Oxigênio Dissolvido foi o parâmetro de controle mais eficiente no HBR, e valores abaixo de 1,5 mg/L foram observados na zona acima da reação para a NP, enquanto valores abaixo de 0,8 mg/L foram observados na zona inferior da reação Anammox.

Miao *et al.* (2016) também utilizaram efluente doméstico para a realização de NP/Anammox com reator em estágio único. O reator foi operado por 288 dias para investigar a recuperação de nitrogênio da acumulação de nitrato. A abundância das bactérias oxidantes de nitrito aumentou gradualmente até o dia 25 de operação, ocasionando alta concentração de nitrato no efluente. Duas estratégias foram usadas para diminuir essa alta concentração. As características do efluente utilizado foram: concentração de amônia na faixa de 51,2 a 67,5 mg.N/L, nitrito de 0–5,2 mg-N/L, nitrato 0–0,4 mg-N/L, DQO solúvel 41,4-70.2 mg/L, DBO<sub>5</sub> 3.5-10.8 mg/L, SS 35-54 mg/L e pH 7,56-7,71.

Na primeira estratégia foi utilizada uma concentração de oxigênio dissolvido abaixo de 0,17 mg/L com aeração constante, mas a produção de nitrato aumentou de 4,71 para 38,18 mg-N/L. Na estratégia dois, foi utilizado aeração intermitente (aeróbio 7 min/anóxico 21 minutos) que

reduziu significativamente a concentração de nitrato para 1,3 mg-N/L, indicando que a BOM foram inibidas. A alta taxa de remoção de nitrogênio foi alcançada (73 mg-N/L). A evolução da abundância e atividade bacteriana resultou em mudanças no desempenho de remoção de nitrogênio e comprovou que a estratégia de aeração intermitente poderia resolver com sucesso o problema de acúmulo de nitrato no processo NP/A.

Existem poucos estudos na literatura que utilizaram o processo de nitrificação parcial/Anammox (NP/A) para o tratamento de digestato de resíduo alimentar, mas Carvalho (2019) e Pereira (2018) realizaram trabalhos com esse tipo de efluentes. Entretanto, outros trabalhos com outros tipos de efluentes, incluindo outros tipos de efluentes pré-tratados anaerobiamente já foram relatadas em reatores de único estágio para NP/A. Na Tabela 2.3, algumas destas experiências são listadas para comparação com os resultados obtidos no presente trabalho.

Tabela 2.23 - Revisão de literatura artigos sobre a NP/Anammox com os melhores resultados obtidos em diferentes tipos de efluentes.

Referência	Efluente/Reator	Concentração de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	Concentração de OD (mg/L)	Estratégia de aeração	Eficiência de remoção
Carvalho (2019) Brasil	Digestato de Resíduo Alimentar RBS 10L	147-562	0,050 L/min/Lreator (Taxa de ar aplicada)	7 min aeróbio 14 min anóxico	81% p/ Nitrogênio total e 63% de cargas de amônia e N total foram removidas de 76 e 67 g/m <sup>3</sup> .dia
Giustinianovich <i>et al.</i> (2018) Espanha	Indústria pesqueira (salino) RBS 25 L	100 a 500	0,5	60 min anóxico/280min aerado	61,6% de eficiência de remoção da [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] em até 6,6 g NaCl <sup>-1</sup>
Pereira (2018) Brasil	Digestato de Resíduo Alimentar RBS 10L	250	0,050 L/min/Lreator (Taxa de ar aplicada)	Aeração intermitente e contínua em diferentes tempos	Cargas de nitrogênio removidas com medianas iguais a 18,4 e 24,3 g N.m-3.d-1
Zhang <i>et al.</i> (2017) China	Sintético RBS 13 L	150	0,5	60 min aerado/30 min anóxico	Até 90% de remoção de N
Miao <i>et al.</i> (2016) China	Doméstico RBS 10 L	100	0,25	7min aerado/21min anóxico	61–83% de remoção de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> por NP/Anammox
Yang <i>et al.</i> (2015) Suécia	Efluente de lodo digerido MMBR 200 L	100	1,5	15 min aerado/45 min anóxico	75% de remoção NtporNP/Anammox
Wantawin <i>et al.</i> (2008) Tailândia	Sintético RBS 3 L	67,5	1,5	180 min aerado/180min anóxico	80 % de remoção NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> aeração intermitente
Wen (2016) China	Sintético SBBR 12 L	50 a 200	1,2 a 1,6	180 anóxico/20 aerado	74% de remoção de nitrogênio total
Winkler <i>et al.</i> (2012) Holanda	Sintético 200L	190	1,5	15 min anóxica/45 min aerado	Redução em 40-68% na produção de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>

Legenda:TDH = Tempo de Detenção Hidráulica; OD = Oxigênio Dissolvido; RBS = Reator em Batelada Sequencial; Anóx = Anóxico; e MBBR = *Moving Bed Biofilm Reactor*.

Fonte: dados da pesquisa.

### 2.2.3 Fatores intervenientes no processo de Nitrificação/Anammox

#### O efeito do tempo de aeração no processo de NP/Anammox

Outra alternativa que vem sendo proposta para o controle da nitrificação parcial, além da concentração de OD, é o tempo de aeração (YUAN; GAO, 2010; GUADIE *et al.*, 2014; MA *et al.*, 2015). Isso porque a manutenção de concentrações de oxigênios estáveis em um sistema em escala real pode ser uma tarefa difícil de alcançar, além do que, dependendo do fluxo e tempo de aeração, a nitrificação parcial pode ser convertida a uma completa nitrificação.

Neste contexto, a estratégia de intercalar períodos de aeração com períodos sem aeração, desde que bem planejados, pode resultar no acúmulo de nitrito sem a ocorrência da produção de quantidades significativas de nitrato. Inclusive, do ponto de vista prático, esta estratégia é mais simples do que imaginar o controle da concentração de OD em valores extremamente baixos, tendo em vista as dimensões dos sistemas para esta finalidade (YANG; YANG, 2011).

Peng *et al.* (2004) usou um reator do tipo *Sequence Hybrid Biological Reactor* (SHBR) de 12L com efluente sintético, com nitrificação e desnitrificação simultânea (SND) sob nitrito. Nos experimentos foi observada a alta eficiência do SND via nitrito quando operado sob concentração limitada de OD. Durante o período operacional, o SHBR demonstrou alta eficiência de remoção de carbono e nitrogênio (92% DQO e 85% de nitrogênio). A taxa de ar ideal para remoção de amônia foi de 21 L/H com 0,50 mg/L de OD. Apesar de que a máxima de remoção de nitrogênio (95,5%) foi alcançada quando a taxa de ar foi de 15L/H com 0,30 mg/L de OD).

Pollice *et al.* (2002) realizou testes com diferentes tempos de retenção de sólidos (TRS) sob condições de aeração contínua e intermitente em um RBS de 12 L, e relataram que a nitrificação parcial foi atingida com êxito usando a estratégia de aeração intermitente, sendo 10 minutos aerados e 20 minutos sem aeração, utilizando 2 mg/L O<sub>2</sub>. Os resultados mostraram que a nitrificação parcial do nitrito era constantemente obtida sob limitação de oxigênio, independente da idade do lodo, mesmo quando a temperatura diminuiu de 32 para 21 °C.

Pereira (2018) utilizou efluente de digestato de resíduo alimentar para aplicação em RBS laboratorial de 10 L, com nitrificação parcial/Anammox com microaeração. Resultando

em diferentes estratégias de aeração intermitentes e contínua foram comparadas, observou-se que não houve diferença significativa entre as cargas de nitrogênio removidas e nem entre o coeficiente obtido para o nitrato produzido/amônio consumido, durante as estratégias intermitente: 15 min anóxico/30 min aerado, intermitente: 15 min anóxico/45 min aerado e contínua, operadas sob mesmas condições de taxa de aeração ( $0,125 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Lreator}^{-1}$ ).

Carvalho (2019) testou diferentes estratégias de aeração em RBS com NP/Anammox para tratamento de digestato de resíduo alimentar pós tratado por reator UASB em escala laboratorial, em um RBS de 10 L. Obtendo a melhor estratégia com tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min, porém com taxa de oxigênio aplicada de  $0,050 \text{ L}/\text{min}\cdot\text{L}$ . No entanto, sob taxa de oxigênio aplicada de  $0,050 \text{ L}/\text{min}\cdot\text{L}$ , 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 processo de nitrificação parcial e Anammox (NP/A), diferentes estratégias de aeração vêm sendo utilizadas (FIGUEROA *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2012; MIAO *et al.*, 2016). No entanto, não há um consenso na literatura acerca de qual o melhor modo de aeração para estabelecer o processo de NP/A, se contínuo ou intermitente; e, quando intermitente, qual seria a duração dos períodos aerados e anóxicos.

Tampouco há consenso sobre qual a taxa de aeração a ser aplicada, nem com relação à concentração de oxigênio dissolvido que deve ser mantida no interior do reator. Sabe-se que bactérias oxidadoras de nitrito possuem fase lag da curva de crescimento mais longa do que bactérias oxidadoras de amônia (WANG *et al.* 2017). Isso faz com que, após serem submetidos a períodos anóxicos, durante estratégias de aeração intermitentes, ocorra o retardamento do crescimento de bactérias oxidadoras de nitrito e conseqüentemente da produção de nitrato (GILBERT *et al.*, 2014). Como resultado, tem-se o favorecimento da remoção de nitrogênio (PEREIRA, 2018).

#### Efeito da temperatura no processo de NP/Anammox

Outro parâmetro capaz de interferir nos processos de NP/Anammox é a temperatura. Esta, afeta diretamente a abundância, o crescimento e o metabolismo dos micro-organismos que realizam

esses processos (ALI; OKABE, 2015). Em climas moderados, a aplicação do processo Anammox no sistema de tratamento de efluentes enfrenta vários desafios, que são principalmente relacionados à baixa temperatura dos efluentes de 5 a 20 °C. Reatores Anammox em escala real operam em temperaturas mesofílicas e a temperatura ótima para o crescimento de bactérias Anammox nestes reatores está entre 30 e 37 °C (STROUS *et al.*, 1999b; DOSTA *et al.*, 2008).

Alguns estudos analisaram reatores Anammox operando sob condições de temperaturas elevadas (35 a 40 °C) e foram geralmente associadas com a máxima atividade de biomassa de Anammox e tempo de duplicação celular. No entanto, condições extremas (acima de 45 °C) podem inibir irreversivelmente a atividade por causa da lise celular (DOSTA *et al.*, 2008). Strouset *al.* (1998) e Gao e Tao (2011) relataram que o processo Anammox pode ocorrer em faixa de temperatura de 20 a 43 °C, com a atividade ótima em  $40 \pm 3$  °C. Além disso, Ali e Okabe (2015) relataram que 37 °C é a temperatura ideal para o processo Anammox.

No entanto, nos últimos anos, novas configurações têm sido propostas para realizar a remoção de nitrogênio sob temperaturas menores de operação, a exemplo Zhu *et al.* (2008) relataram temperaturas entre 26 e 28°C como faixa ótima de temperatura para o metabolismo Anammox. Foi observado que o metabolismo das bactérias diminuiu consideravelmente quando o reator foi submetido a temperaturas abaixo de 15°C e acima de 40 °C. Dosta *et al.* (2008) também notaram uma diminuição no metabolismo quando a temperatura foi reduzida de 20 para 15°C.

Outros estudos, Veys *et al.* (2010) (15°C), ZHANG *et al.* (2012) (23 °C), Chang *et al.* (2013) (15 °C), Hendricks *et al.* (2014) (10°C), Gonzalez-Martinez *et al.* (2016) (15 °C) e De Cocker *et al.* (2018) (12,5°C), também utilizaram baixas temperaturas todas objetivando a redução dos custos produtivos e simplicidade de operação para o aumento de escala do processo.

#### **2.2.4 Aplicação Nitrificação Parcial/Anammox**

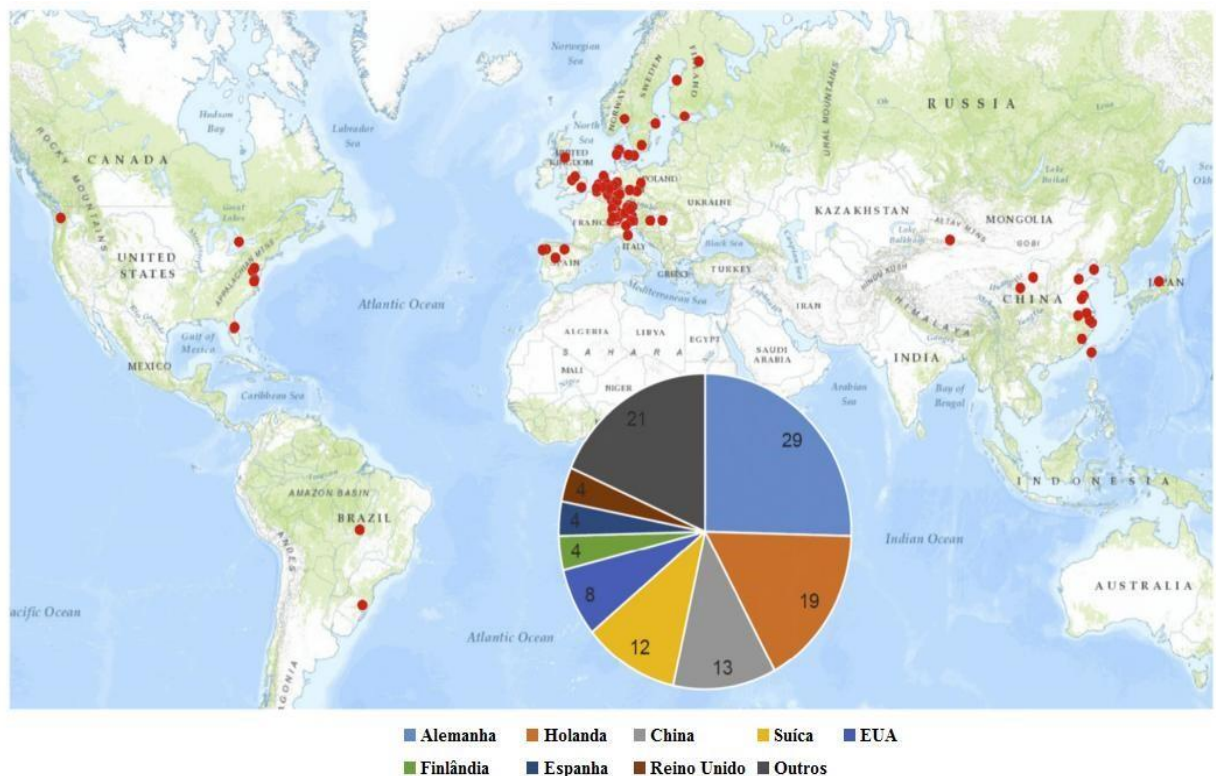
O processo Anammox pode ser utilizado em estações de tratamento de águas residuárias domésticas (efluentes de digestores de lodo), no tratamento de efluentes provenientes da digestão de resíduos sólidos orgânicos (aterros sanitários, compostagem e digestão), no tratamento de efluentes industriais, tais como indústrias de alimentos, de fermentações



(destilação), vinícolas, de fertilizantes, curtumes, química, farmacêutica e petroquímica (TANG *et al.*, 2011; VLAEMINCK *et al.*, 2012).

Desse modo, o processo vem sendo desenvolvido para sua aplicação em escala real. Desde que o primeiro reator Anammox em escala real foi estabelecido em 2002 (para tratamento de efluentes em Dokhaven, Rotterdam, Holanda), existem até o presente momento 114 (incluindo dez em construção e oito na fase de projeto) reatores Anammox operando em escala plena em todo o mundo (LACKNER *et al.*, 2014), e o número está aumentando rapidamente. A maioria dos reatores Anammox (88 de 114) foram construídos na Europa, seguido pela China e América do Norte, como mostrado na Figura 2.5. Embora o primeiro reator Anammox tenha sido de apenas 70 m<sup>3</sup>, a capacidade volumétrica de reatores Anammox está se tornando maior, e o número está aumentando rapidamente (ABMA *et al.*, 2007; VAN DER STAR *et al.*, 2007).

Figura 2.2.4 - Distribuição geográfica de reatores Anammox operando em escala real ao redor do mundo.



Fonte: Okabe (2015).

Na Holanda, onde o processo Anammox foi descoberto, são vários reatores Anammox em escala plena em operação. Em 2013 eram cerca de 19 reatores. Em seguida, a China possui 13

plantas industriais com reatores Anammox, e em 2009 foi construída a maior usina do mundo para o tratamento de águas residuárias com base no processo Anammox, com a capacidade de tratamento de 11 toneladas de nitrogênio por dia (NI; ZHANG, 2013). No Brasil, existem apenas dois pontos com aplicação de reatores Anammox em escala plena, um desses lugares fica localizado na cidade de Ribeirão Preto, onde a empresa Paques BV, que é a detentora da patente do processo Anammox, possui instalações (PAQUES, 2019). O estudo e a aplicação real do processo Anammox é recente e considerado como desafio para o tratamento de efluentes (águas residuárias, agropecuárias e agroindustriais), devido à dificuldade de se obter biomassa Anammox em volumes maiores e estável por longo período.

A NP/Anammox apresenta inúmeras vantagens quando comparadas ao processo convencional de nitrificação e desnitrificação (ZHANG, 2019), dentre elas:

- Redução com o custo da energia de aeração (economiza cerca de 60%).
- Redução das fontes adicionais de carbono (economiza até 100% de carbono orgânico).
- Redução na produção de gases relacionados ao efeito estufa, como o  $N_2O$ , produzido no processo de nitrificação-desnitrificação.
- Baixa produção de lodo (economiza cerca de 90% no manuseio e transporte do lodo).

### **2.2.5 Inibição do processo de NP/Anammox**

As concentrações de carbono inorgânico e compostos sulfurados a partir das quais pode haver melhoria ou inibição do processo Anammox variam muito na literatura. Alguns autores testaram diferentes concentrações desses compostos.

Jin *et al.* (2013) verificaram que sob concentrações de sulfeto de 32 mg/L, a atividade Anammox de um reator contínuo foi reduzida à metade após 13 dias de adição do inibidor. Ao final dos experimentos, os autores também reportaram que o uso do sulfeto diminuiu o tamanho do grânulo e danificou as células da biomassa utilizada no inóculo. Anteriormente, Dapena Mora *et al.* (2007) observaram que as concentrações de sulfeto entre 1 e 2 mM causaram decréscimo de 60% da atividade Anammox e que acima de 5 mM a atividade Anammox se tornou ausente em reatores em bateladas.

Espoto (2018) tentou enriquecer biomassa Anammox em um reator contínuo de leito de fixo utilizando lodo de uma lagoa aerada proveniente de ETE de produção de ração animal para posteriores testes em reator de batelada sequencial com bicarbonato e sulfeto. O autor concluiu que a concentração variando de 0-32 mg/L de sulfeto no meio prejudica o processo Anammox e quanto mais próximo da razão teórica estiver a concentração de bicarbonato, melhor é a atividade microbiana. Obtendo a relação ideal entre nitrogênio, bicarbonato e sulfeto de 1:0,7:0

Menegon *et al.* (2017) utilizaram três reatores (A, B e C) para desenvolver o processo Anammox, os reatores foram alimentados com lixiviado maduro de aterro sanitário, caracterizado pela baixa relação DBO/DQO. O processo Anammox foi alcançado com o uso de lixiviado de aterro sanitário como fonte de nitrogênio amoniacal, alcalinidade e micronutrientes. No entanto, verificou-se atividade somente no reator A, alimentado com 10% de lixiviado (aproximadamente 200 mg/L N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Nos reatores B e C, alimentados com menores diluições (25 e 50%, respectivamente), a biomassa Anammox sofreu forte inibição por N-NO<sub>2</sub> (500 e 1.000 mg/L, reator B e C respectivamente) e não se desenvolveu mesmo após mais de 500 dias de operação.

Os efeitos dos ácidos graxos voláteis (AGVs) na remoção de nitrogênio e na estrutura da comunidade microbiana de dois reatores para NP/Anammox (reator de lodo granular e reator de leito móvel com biofilme) foram comparados em estudo desenvolvido por Winkler *et al.* 2012. As produções de nitrato em ambos os sistemas foram menores em 40-68% em comparação com a produção de nitrato esperado, baseado na estequiometria Anammox (STROUS *et al.*, 1999). A produção esperada de lodo nos AGVs foi estimada em 67 - 77% maior se as bactérias heterotróficas fossem as principais degradadores de acetato. Isso sugere que as bactérias Anammox usaram sua capacidade organotrófica e competiram com sucesso com as bactérias heterotróficas pelo carbono orgânico, o que levou a uma produção reduzida de lodo.

De Prá (2017) criou um protótipo de reator para tratamento de efluentes concentrados com baixa relação C/N, como os digestatos da suinocultura, por meio do processo de NP/Anammox. o protótipo alcançou eficiência média de remoção de amônia de 95,5% e remoção de nitrogênio total de 84%. Quando implementada a recirculação do efluente final, e utilização do mesmo para diluição do digestato, a eficiência foi mantida atingindo 90% de remoção de amônia e 84% de

nitrogênio total, demonstrando a permanência e estabilidade do processo de desamonificação no reator DESAMMOX de aproximadamente 88%.

Leal *et al.* (2016) e Fernandes *et al.* (2018) utilizaram efluente anaeróbio de reator UASB tratando esgoto doméstico que apresenta relação DQO/N de aproximadamente 5 (DQO de 200 mg/L e concentração de N amoniacal de 45-50 mg/L), verificando assim a possibilidade de tratar este efluente (quando adicionado nitrito). Assim como o efluente utilizado neste trabalho, que também apresentava uma relação DQO/N para o RBS laboratorial.

Desta forma, este trabalho vem reforçar os demais estudos já realizados anteriormente, ademais, insere uma nova etapa de microaeração para esse processo com o efluente anaeróbio, a fim de obter a formação de nitrito, desta forma, aplicar o processo em efluente com elevada relação de DQO/N (no caso 5, no caso do efluente anaeróbio doméstico). No próximo item esse fator será melhor descrito.

### **2.3 Processo Anammox como alternativa na remoção de nitrogênio de efluentes de reatores UASB**

Um fator importante na remoção biológica de nitrogênio é a relação carbono/nitrogênio, também conhecida por DQO:N (demanda química de oxigênio:nitrogênio). A relação DQO:N tem influência sobre a população de microrganismos, uma vez que um aumento nesse parâmetro resulta em diminuição na eficiência da nitrificação e melhoria da eficiência da desnitrificação (ZIELINSKA *et al.*, 2012).

Não há consenso na literatura sobre qual concentração de matéria orgânica (expressa em DQO) e relação DQO/N capazes de inibir ou afetar o processo Anammox. Os valores encontrados são bastante variáveis (192 a 800 mg/L), assim como as relações DQO/N capazes de inibir o processo (1,4 a 6), dependendo do tipo de efluente tratado (ZIELINSKA *et al.*, 2012).

Vários estudos foram feitos sobre a comunidade microbiana e dinâmica populacional sobre os organismos funcionais no sistema NP/A. AOB, bactérias Anammox e bactérias desnitrificantes foram encontradas nos reatores (DAVEREY *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016). Liang *et al.* (2014) descobriram que a presença de DQO poderia resultar em aumento da biodiversidade de

AOBe decréscimo de bactérias Anammox e as espécies dominantes ainda foram *Nitrosomonas* e *Candidatus Brocadia* após adição de DQO.

De acordo com Chancoi *et al.* (2008) concentrações de DQO acima de 300 mg/L (razão DQO/N de 2) podem inibir totalmente a reação Anammox e concomitantemente favorecem a atividade de bactérias desnitrificantes. Ni *et al.* (2012) verificaram que nas razões de DQO/N acima de 4 o processo Anammox foi prejudicado. Sánchez-Guillén *et al.* (2014) investigaram os efeitos a curto prazo da adição de carbono orgânico (acetato e amido) e verificaram que as razões DQO/N (2 e 6) aplicadas não tiveram influência no processo Anammox.

A utilização do processo de NP/Anammox para o tratamento de esgotos domésticos é um desafio devido à elevada relação C/N neste tipo de efluente, como mencionado anteriormente. Dessa forma, alguns estudos como o de Leal (2016), que testou diferentes relações DQO/N: 0,7, 1,4, 2,8, 3,5 e 5,0 indicaram que o processo Anammox pode ser usado no pós-tratamento de efluentes anaeróbios (com relação DQO/N de 4,0 a 5,0) e concentração de DQO inferior a 300 mg/L.

A utilização de reatores UASB (reator UASB (do inglês *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) para remoção da DQO (Demanda Química de Oxigênio) de efluente doméstico e efluente anaeróbio da digestão de resíduos alimentares é muito importante, pois a DQO pode inibir o processo Anammox. Dessa forma, um fator importante para a utilização do processo de NP/Anammox é a relação entre a quantidade de carbono e nitrogênio (ou relação DQO/N) do efluente a ser tratado. A relação DQO/N tem influência sobre a população de micro-organismos, uma vez que um aumento nesse parâmetro resulta numa diminuição na eficiência da nitrificação e melhoria da eficiência da desnitrificação (ZIELINSKA *et al.*, 2012).

Molinuevo *et al.* (2009) aplicaram o processo Anammox em escala laboratorial para o pós-tratamento de efluente de suinocultura. O efluente passava primeiramente por dois tipos de reatores distintos: o primeiro era um reator UASB (Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo), no qual o efluente de suinocultura era primeiramente digerido gerando efluentes com valores de DQO iguais a 4,7 g/L e de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> iguais a 3,78 g/L. O segundo promovia a oxidação parcial, tanto de matéria orgânica, quanto de nitrogênio amoniacal, gerando efluentes com valores de DQO iguais a 2,42 g/L e de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 0,67 g/L. Os resultados obtidos

demonstraram elevados percentuais de remoção de amônia, a saber: 92% para o efluente tratado no reator digerido primeiramente no reator UASB e 98% para o efluente tratado no reator após a etapa da oxidação parcial. Entretanto, o aumento nas cargas de DQO aplicadas em ambos os sistemas, afetou negativamente a remoção de amônia e inibiu totalmente o processo Anammox.

Zhang *et al.* (2019) utilizaram dois reatores UASB, paralelamente, para investigar o efeito da alimentação de carbono orgânico no desempenho a longo prazo do processo Anammox. Inoculando biomassa granular Anammox nestes reatores e testando diferentes relações de DQO/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, por meio da adição de acetato. Os resultados obtidos demonstraram alta eficiência de remoção de Nitrogênio Total de 96,2% e baixa concentração de Nitrogênio Total efluente, igual a 9,3 mg/L sob alta taxa de aplicação de nitrogênio total (9 kgN/m<sup>3</sup>.d). Entretanto, a alimentação simultânea de acetato (60 mg/COD L) com uma razão de C/N (nitrito) de 0,6 reduziu significativamente a capacidade de remoção de nitrogênio do reator Anammox, reduzindo a abundância e interferindo no metabolismo das bactérias Anammox.

A caracterização do RBS nesses termos é importante, pois, o objetivo central de um sistema de aeração para a NP/Anammox é o fornecimento de oxigênio para a manutenção da atividade respiratória das bactérias oxidadoras de amônia, ou seja, a concentração mínima e certa necessária para as AOB, sem que esta concentração seja inibitória para as Anammox. Assim, o que se visa é transferir o oxigênio da fase gasosa para o líquido e fazer com que esse oxigênio chegue às células suspensas, penetre e finalmente seja consumido na reação.

Pode-se analisar diante dos estudos citados que a aplicação do processo Anammox para a remoção de nitrogênio amoniacal proveniente de pós tratamentos, com altas e baixas concentrações de nitrogênio amoniacal requer uma maior investigação, afim de otimizar seus parâmetros e obter a melhor estratégia para uma eficiente remoção. A maioria das pesquisas desenvolvidas sobre esse tema utilizou efluentes sintéticos ou efluentes industriais. Diante do crescimento dos estudos sobre essa tecnologia para tratamento de águas residuárias são necessários estudos que corroborem a eficiência do processo Anammox em conjunto com a nitrificação parcial em efluentes domésticos.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 *Objetivo geral***

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver o processo de nitrificação parcial e Anammox em reatores com atividade Anammox para verificar a aplicabilidade do processo de NP/Anammox na remoção de nitrogênio de efluentes anaeróbios: efluente doméstico e digestato de resíduo alimentar pré-tratados em reatores UASB.

### **3.2 *Objetivos específicos***

- Avaliar a remoção de nitrogênio de efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente em RBS em escala laboratorial por meio do processo Anammox sob condições anaeróbias e suplementação com nitrito.
- Avaliar duas estratégias de aeração para o desenvolvimento concomitante dos processos de nitrificação parcial e Anammox para remoção de nitrogênio de efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente em RBS em escala laboratorial.
- Avaliar a remoção de nitrogênio de digestato de resíduo alimentar em RBS em escala-piloto por meio do processo Anammox sob condições anaeróbias e suplementação com nitrito.
- Detectar os micro-organismos do ciclo do nitrogênio presentes nos reatores (laboratorial e piloto) com atividade Anammox.
- Aumentar a concentração dos mico-organismos presente nos reatores.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### ***4.1 Etapa 1: processo Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico proveniente de reator UASB***

#### **4.1.1 Descrição do processo de tratamento do efluente doméstico**

O Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da UFMG/COPASA está situado na Estação de Tratamento de Esgoto do Arrudas, em Belo Horizonte, MG. A ETE Arrudas trata os esgotos sanitários do município de Belo Horizonte, MG e de parte do município de Contagem, MG, atendendo a uma população equivalente a um milhão de habitantes (FEAM, 2018). Após passar pela unidade de tratamento preliminar (composta por grade grossa manual, grade fina mecanizada e desarenador) da ETE Arrudas, uma alíquota do esgoto sanitário é direcionada às instalações situadas no CePTS.

No CePTS está instalado o reator UASB que foi responsável pela etapa de pré-tratamento do esgoto sanitário antes deste efluente ser destinado ao RBS Anammox em escala laboratorial utilizado neste experimento. O reator UASB foi alimentado com esgoto bruto (após tratamento preliminar), recebendo diariamente esgoto doméstico. O efluente do reator UASB foi coletado semanalmente por meio de bombona de 10 L para ser aplicado ao RBS em escala laboratorial durante o experimento durante as Fases 2, 3 e 4 (efluente real mais adição de nitrito, aeração de 0,050 L/min/Lreator e aeração de 0,025 L/min/Lreator, respectivamente), que serão melhores descritas nos próximos itens.

O efluente do reator UASB apresentou pH próximo à neutralidade (média de 6,98) e temperatura média de 22 °C. O reator UASB (escala-piloto) apresenta as seguintes características: foi construído em polietileno no corpo do reator e fibra de vidro no separador trifásico com volume total de 340 L, diâmetro de 30 cm, altura igual a 400 cm e tempo de detenção hidráulica igual a 5 horas. O reator UASB pode ser observado na Figura 4.1.



Figura 4.1.1 Reatores UASB localizados no CEPTS como pré-tratamento anaeróbio para o RBS laboratorial



Legenda: A = reator UASB utilizado como pré-tratamento de efluente doméstico.  
Fonte: dados da pesquisa.

#### 4.1.1.1 RBS em escala laboratorial para pós-tratamento do efluente doméstico

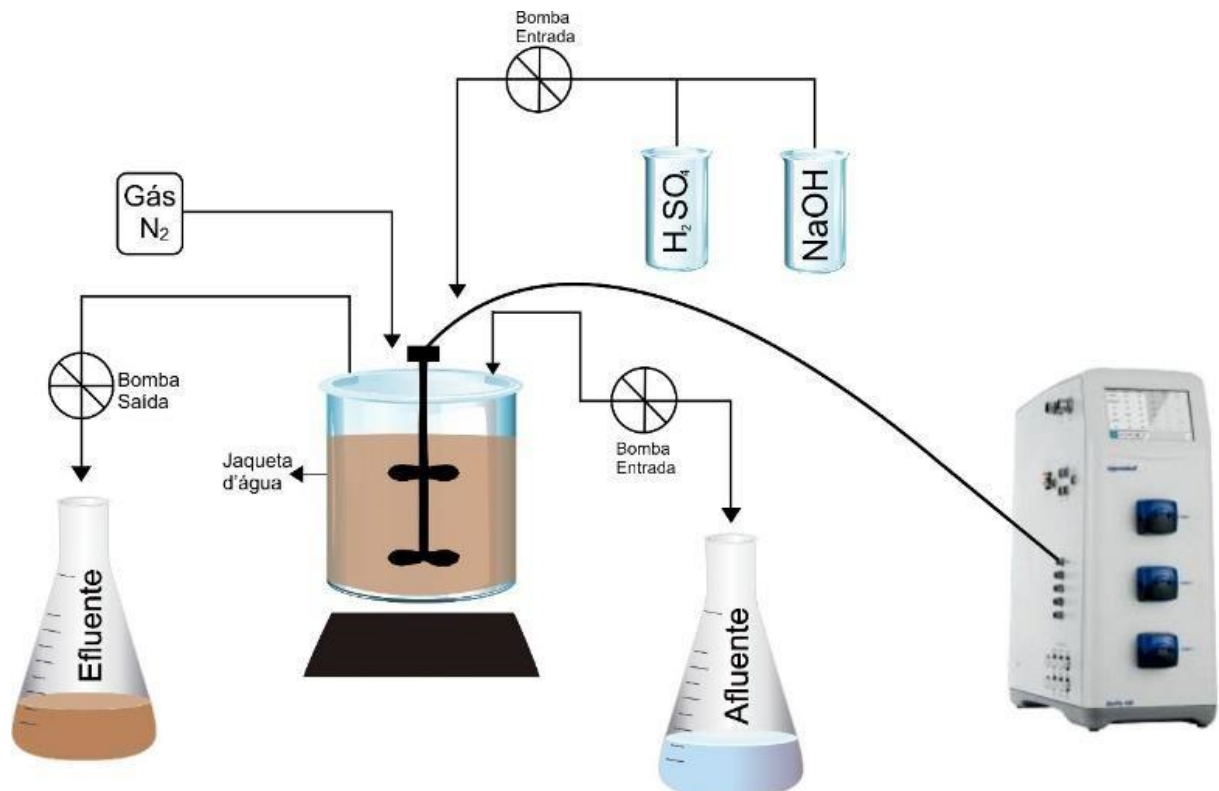
O RBS utilizado neste trabalho é constituído de vidro, tem volume de trabalho igual a 2 L e é equipado com sensores de nível que permitem controlar o volume de entrada e saída do meio de afluente/efluente, e sondas que permitem medir os seguintes parâmetros: pH, saturação de oxigênio dissolvido e temperatura. O reator é de mistura completa e a agitação também é controlada no equipamento. O reator recebeu proteção contra a radiação luminosa para evitar o crescimento de algas. O RBS possui uma jaqueta d'água para controle de temperatura no interior do reator.

O lodo utilizado como inóculo para o enriquecimento de bactérias Anammox foi obtido de um sistema de tratamento por lodos ativados convencional da Estação de Tratamento de Esgotos, realizado em trabalhos anteriores (LEAL, 2016; FERNANDES, 2017). Dessa forma o RBS laboratorial já apresentava biomassa com atividade Anammox.

#### 4.1.1.2 Operação do reator durante a Etapa 1 da pesquisa

O RBS em escala laboratorial (Figura 4.2) foi operado com tempos de detenção hidráulica (TDH) variando de 24 a 48 horas. Quando o reator foi operado com TDH de 24 horas, dois ciclos de operação eram realizados no RBS, um ciclo longo de 18 horas e um ciclo curto de 6 horas. Quando o reator foi operado com TDH de 48 horas, apenas um ciclo de operação com duração de 24 horas era realizado. Cada ciclo de operação consistia de um período de alimentação (1 hora), seguido por um período de reação (vinte e duas horas), sedimentação (meia hora) e retirada de efluente (meia hora).

Figura 4.1.1.2 – Reator em Batelada Sequencial (RBS) Anammox em escala laboratorial.



Legenda: RBS composto por bomba de entrada (afluente); bomba de saída (efluente); controle de pH; jaqueta de água para controle de temperatura; sondas de oxigênio dissolvido; e pH.

Fonte: dados a pesquisa.

Quatro fases operacionais foram definidas para o RBS em escala laboratorial (Tabela 4.3). Durante a Fase 1, o RBS foi alimentado com meio de cultivo mineral e autotrófico (com concentração de amônia e de nitrito em torno de 50 e 70 mg/L) em condições anaeróbias, com o objetivo de enriquecer bactérias Anammox no reator. Na Fase 2, o RBS foi alimentado com esgoto doméstico pré-tratado em reator UASB e suplementação com solução contendo nitrito

(concentração final no reator de 50 mg/L), em condições anaeróbias. Durante as Fases 3 e 4 (aeração de 0,050 L/min/Lreator e aeração de 0,025 L/min/Lreator, respectivamente) o reator foi alimentado com esgoto doméstico pré-tratado em reator UASB (efluente do UASB contendo em média 55 mg/L de DQO e 40 mg/L de N-amoniaco), porém, sem adição de nitrito. Durante estas duas últimas fases foram avaliadas duas estratégias de aeração para o desenvolvimento do processo de nitrificação parcial juntamente com o processo Anammox. As fases operacionais serão descritas em detalhes nos itens deste tópico. Na Tabela 4.3 pode ser observada as fases operacionais aplicada ao RBS laboratorial.

Tabela 4.13 - Fases operacionais do RBS laboratorial com suas respectivas durações e tipo de efluente aplicado.

Fase	Período	TDH (Horas)	Duração (dias)	Descrição da Fase	Efluente
1	Agosto a novembro	24	105	Enriquecimento Anammox	Meio de cultura amônia+nitrito
2	Novembro a março	48	131	Aclimação com efluente real	Efluente de UASB + nitrito
3	Março a abril	48	21	Aeração intermitente com 0,050 L/min/Lreator (7 min aerado/ 7min anóxico)	Efluente de UASB
4	Abril a maio	48	21	Aeração intermitente com 0,025 L/min/Lreator (7 min aerado/ 7min anóxico)	Efluente de UASB

#### 4.1.1.3 Fase 1: Enriquecimento e cultivo de bactérias Anammox

A partir do *start up* do reator para o desenvolvimento desta pesquisa, uma vez que ele já tinha sido utilizado em trabalhos prévios, no dia 1º de agosto até o dia 29 de setembro de 2018, foi realizado apenas um ciclo de operação (TDH igual a 48 horas) no RBS a fim de evitar a excessiva perda de sólidos do mesmo e aumentar a atividade Anammox. A partir do dia 30 de setembro, o RBS foi operado diariamente em dois ciclos (TDH igual a 24 horas): um curto, com duração de 6 horas, e um longo, com duração de 18 horas. Em cada ciclo, as seguintes etapas foram realizadas: a) fase de alimentação, na qual o afluente foi introduzido no reator sem agitação; b) fase de reação com agitação contínua; c) fase de decantação, na qual a agitação do sistema era desligada, permitindo assim a sedimentação da biomassa; e d) fase de retirada do meio líquido, onde 1 litro do efluente era retirado e as respectivas amostras coletadas para análise.

O pH, temperatura, agitação e o oxigênio dissolvido foram monitorados e, quando necessário, também foram ajustados a cada ciclo, por meio de sondas, sensores do próprio reator e por meio da adição de soluções de ácido e base dos frascos acoplados ao RBS. Na Fase 1 (fase de cultivo), realizada no período de agosto a novembro de 2019, o RBS foi operado com meio de cultivo mineral e autotrófico, enriquecido com micros e macronutrientes (van de GRAAF *et al.*, 1996; DAPENA-MORA *et al.*, 2004). A composição deste meio de cultura é apresentada nas Tabelas 4.5 e 4.6 é apresentada a composição das soluções de micronutrientes.

Tabela 4.15 - Composição do meio mineral autotrófico para alimentação na fase um de operação do RBS laboratorial.

Componentes	Concentração (mg/L)
NH <sub>4</sub> CL	Variável
NaNO <sub>2</sub>	Variável
KHCO <sub>3</sub>	500
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	180
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	300
Solução de micronutrientes I	1,0 ml
Solução de Micronutrientes II	1,25 ml

Fonte: van de Graaf *et al.* (1996); Dapena-Mora *et al.* (2004).

Tabela 4.1 – Composição das soluções de micronutrientes I e II

Componentes	Micronutrientes I Concentração (mg/L)	Micronutrientes II Concentração (mg/L)
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	6.250	15.000
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	6.250	-
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	-	430
CoCL <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	240
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	-	990
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-	250
NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	-	220
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	190
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	-	80
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	-	14

Fonte: Dapena-Mora *et al.* (2004).

Ao meio de cultura era adicionado gás nitrogênio a fim de expulsar o oxigênio dissolvido e propiciar condições anaeróbias no interior do frasco. O nitrogênio era adicionado durante 15

minutos no interior do meio e 5 minutos no *headspace* do frasco. O pH do meio de cultura era sempre ajustado, com soluções de NaOH (0,5M) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1M), para que ficasse entre 7,2 e 7,8.

#### 4.1.1.4 Fase 2: Alimentação do reator com efluente doméstico suplementado com nitrito

Após o período de enriquecimento e cultivo das bactérias Anammox, foi iniciada a Fase 2 deste experimento, correspondente ao período de novembro 2018 a março de 2019 no RBS. Nesta fase o RBS foi alimentado com esgoto doméstico pré-tratado em reator UASB mais solução de nitrito na concentração de 70 mg/L e foi operado com dois diferentes TDH, primeiro com 24 horas e posteriormente com 48 horas. Esta fase tinha por objetivo aclimatar a biomassa com atividade Anammox ao efluente aneróbio real, para posterior continuidade das fases com microaeração, além de continuar o cultivo e enriquecimento proporcionado na primeira fase.

#### 4.1.1.5 Fases 3 e 4: Avaliação de estratégias de aeração para desenvolvimento do processo de nitrificação parcial e Anammox no reator

Dessa forma, as fases três e quatro foram iniciadas com duas diferentes estratégias de aeração. A fase três testou a taxa de ar aplicada de 0,050 L/min/Lreator. Enquanto a fase quatro testou a redução da primeira taxa de ar pela metade, sendo a taxa de ar aplicada na quarta fase igual 0,025 L/min/Lreator. O RBS continuou com as mesmas condições operacionais utilizadas nas fases anteriores (temperatura igual a 35 °C, agitação igual a 50 rpm, TDH de 48 horas).

Essas taxas de ar aplicadas foram determinadas de acordo com o estudo realizado por CARVALHO, 2019, a qual testou seis diferentes taxas de ar aplicadas sempre com a fase aeróbia com 7 minutos e variando a fase anóxica em 7/14/21 minutos, nesse estudo foi analisado a variação da temperatura de 35° e a temperatura ambiente em um RBS de volume útil de 10 L com micro-aeração, as estratégias adotadas nesse estudo que obtiveram melhores resultados foram utilizadas no estudo desenvolvido aqui, mesmo que não tratasse efluentes proveniente de digestato de resíduo alimentar para aplicação de NP/anammox.

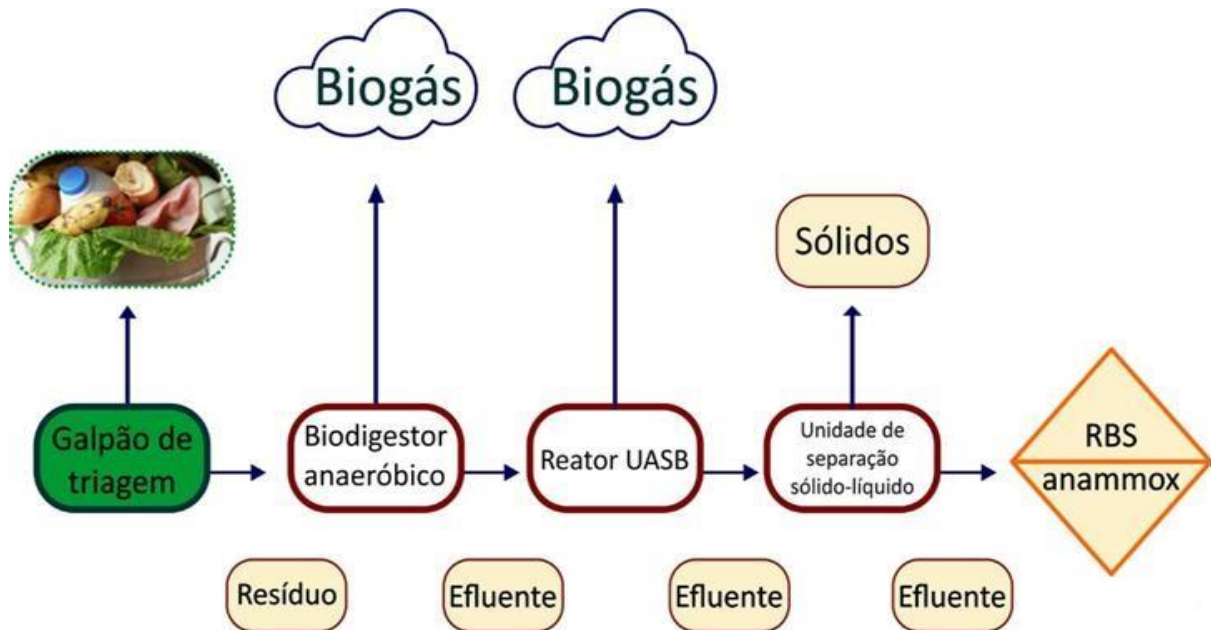
## **4.2. Etapa 2: processo Anammox para pós-tratamento de digestato de resíduo alimentar proveniente de reator UASB**

### **4.1.2 Descrição do processo de tratamento do resíduo alimentar**

No Quarteirão 10 do Campus Pampulha da UFMG, está inserido o sistema integrado para tratamento de resíduos alimentares. O sistema é composto por uma plataforma de metanização de resíduos alimentares, uma plataforma de aproveitamento energético de biogás, e de unidades de tratamento e aproveitamento dos subprodutos (sólidos e líquidos) gerados no processo. Neste trabalho, é descrita a rota para o tratamento da fase líquida gerada pelo processo de metanização do resíduo alimentar (oriundos do restaurante setorial II do Campus Pampulha da UFMG), uma vez que este estudo objetiva o pós-tratamento desta fase, para remoção de nitrogênio amoniacal.

O fluxograma do tratamento do resíduo alimentar e do tratamento do efluente gerado na plataforma de metanização dos resíduos é apresentado na Figura 4.3. Os resíduos são triados, separando ossos e outros materiais não aplicáveis ao processo, seguindo para o biodigestor, que possui 18 m<sup>3</sup> de volume, e com produção de biogás, com adição de 5% de água. A etapa seguinte é composta por reator UASB, a fim de promover a remoção de matéria orgânica, o efluente gerado segue para um sistema de leitos de secagem, onde as fases sólidas e líquidas são separadas, e subsequentemente esse efluente é usado para alimentar o reator Anammox piloto para pós-tratamento e remoção de nitrogênio.

Figura 4.1.2 - Fluxograma do processo de tratamento do resíduo alimentar e pós-tratamento do efluente líquido gerado no sistema de tratamento.



Legenda: Os resíduos são triados no galpão do Q10 para posterior alimentação do sistema, começando pelo biogestor anaeróbico, passando depois para o reator UASB, depois para o leito de secagem e por último para o reator Anammox.

Fonte: dados da pesquisa.

O reator UASB utilizado para pré-tratamento do digestato do resíduo alimentar possui 1,87 m<sup>3</sup> de volume e recebia um volume mediano de substrato igual a 323 L. O reator UASB foi operado com temperaturas variando entre 18,9 e 30,5 °C, pH entre 7,3 e 7,8 e TDH entre 7,5 a 31 dias.

O efluente do reator UASB apresentou alcalinidade alta (média de 900 mg/L), alta concentração de amônia (média de 1000 mg/L) e nitrogênio total (média de 600 mg/L), assim como sólidos totais. Na Figura 4.5 pode ser observado esquema do reator UASB utilizado como pré-tratamento desse sistema.

Figura 4.1.2 - Reator UASB localizado no Q10 como pré-tratamento anaeróbio para o RBS-piloto.

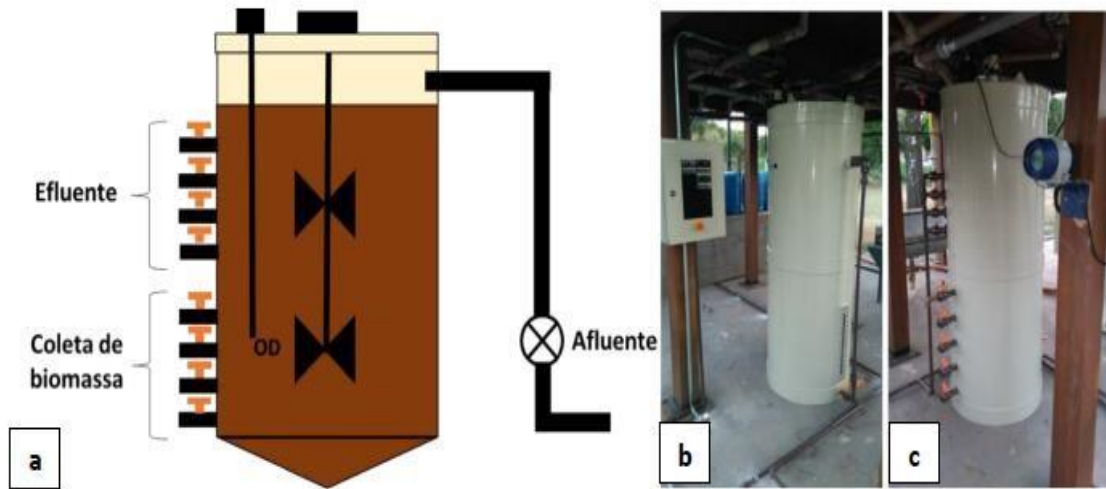


#### 4.1.2.1 RBS em escala-piloto para pós-tratamento do digestato de resíduo alimentar

O RBS em escala-piloto utilizado neste estudo possui 500 L de volume útil, é de mistura completa, e foi equipado com sonda de OD. O reator encontra-se instalado na plataforma de metanização de resíduos alimentares, localizadas no Quarteirão 10 do campus Pampulha da UFMG (Figura 4.6).



Figura 4.1.2.1 - RBS-piloto localizado no Quarteirão 10, com sistema de agitação para mistura completa e sonda de Oxigênio Dissolvido.



Legenda:

a) Desenho esquemático do RBS-piloto, contendo os registros para saída do efluente e coleta da biomassa, sonda de OD e misturador; b) Vista lateral do RBS-piloto com sistema de alimentação de efluente; e c) Vista lateral do RBS-piloto com os registros de nível de biomassa e medidor de OD.  
Fonte: Pereira (2018).

A fim de desenvolver o processo Anammox no RBS-piloto, o experimento foi dividido em duas fases de operação, apresentadas na Tabela 4.7. As fases de operação serão detalhadas nos itens 4.1.2.2 e 4.1.2.3.

Tabela 0- Fases operacionais do RBS escala-piloto.

Fase	Período	Duração	TDH	Descrição da Fase	Afluente
1	Agosto a novembro	4 Meses	10 dias	Enriquecimento Anammox	Meio de cultura amônia+nitrato
2	Novembro a abril	5 meses	10 dias	Aclimação com efluente real	Digestato de resíduo alimentar+ nitrato

Fonte: dados da pesquisa.

#### 4.1.2.2 Fase 1: Enriquecimento de bactérias Anammox no RBS-piloto com meio de cultivo mineral e autotrófico

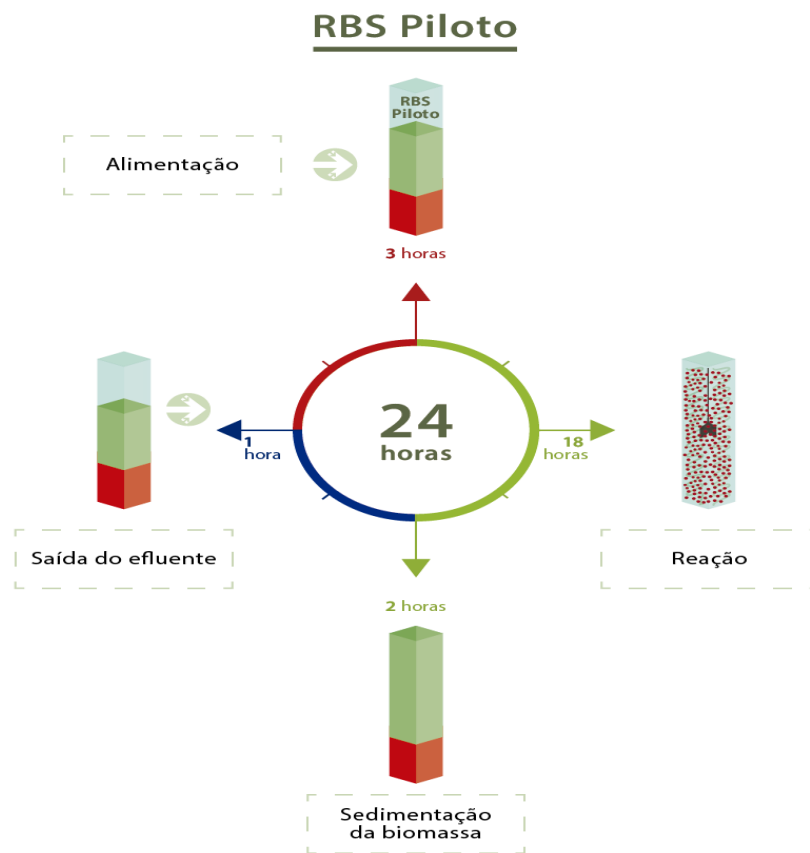
Esta fase foi programada a fim de estabilizar o processo Anammox e aumentar em quantidade as bactérias Anammox no RBS. Foi observado em trabalho prévio (PEREIRA, 2018), em que

este reator foi inoculado com lodos ativados e operado por 285 dias no qual houve um aumento da população de bactérias Anammox no reator (para 6% de bactérias Anammox em relação ao total da comunidade microbiana presente). Neste trabalho foram obtidas eficiências de remoção de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_2^-$  iguais a 30 e 34% respectivamente.

- A presente pesquisa visou dar continuidade ao trabalho realizado por Pereira (2018) mantendo e aumentando a a biomassa com atividade Anammox no RBS-piloto. Para tanto, durante a primeira fase o reator foi alimentado com meio de cultura sintético, mineral e autotrófico, com concentrações de amônia e nitrito igual 100 mg/L, cuja composição é apresentada nas Tabelas 4.5 e 4.6 do item 4.1.2.2 (van de GRAAF *et al.*, 1996; DAPENAMORA *et al.*, 2004).

O RBS em escala-piloto foi operado em ciclos com duração de 24 horas, com quatro períodos distintos sendo eles: alimentação, reação, sedimentação da biomassa e saída do efluente assim como o RBS-Lab. A duração de cada período dentro do ciclo de reação do RBS-piloto é apresentada na Figura 4.7.

Figura 4.1.2.1 - Descrição de operação do RBS em escala-piloto com duração de cada período



Legenda: ciclo de operação do RBS-piloto em 24 horas.

#### 4.1.2.3 Fase 2: Alimentação do reator com digestato de resíduo alimentar pré-tratado em reator UASB

Durante a Fase 2 o reator foi alimentado com efluente proveniente do reator UASB (diluído 4 vezes) com concentração média de amônia de 410 mg/L e concentração média de nitrito 134 mg/L, a fim de continuar o enriquecimento da biomassa com atividade Anammox, que passava também por um leito de secagem de lodo a fim de reduzir os sólidos neste efluente. Antes de ser aplicado ao RBS Anammox, o efluente era diluído quatro vezes em água. Nesta fase o RBS foi operado três vezes por semana, com TDH = 14 dias, com temperatura ambiente, do período de agosto a novembro a temperatura média era de 22 °C , mas depois houve um ligeiro aumento para 25,4 °C. A composição do digestato de resíduo alimentar após a diluição de 4x pode ser observado na Tabela 4.8.

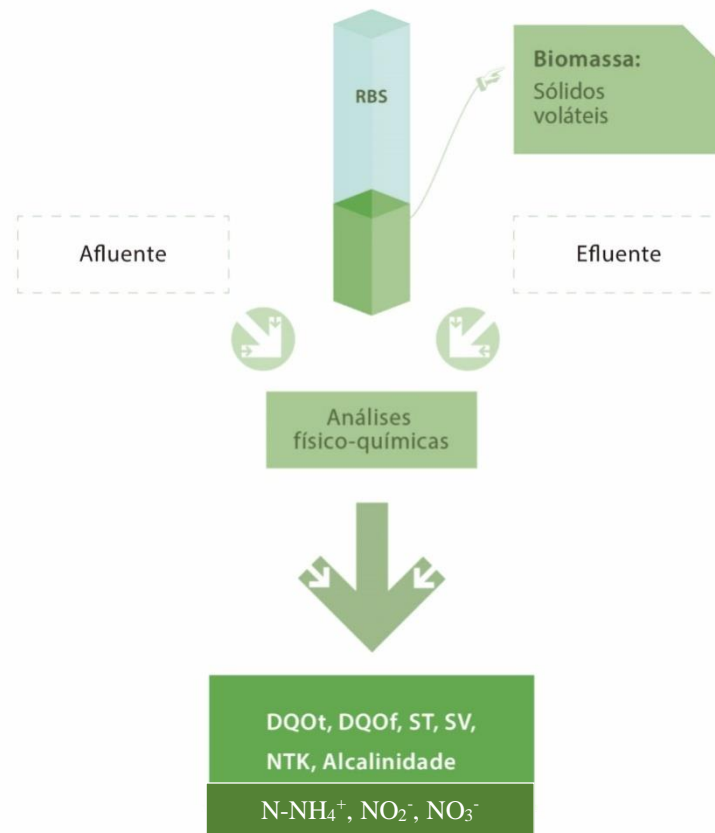
Tabela 0- – Característica do digestato de resíduo alimentar após a diluição de 4x.

Parâmetro	Valor Médio	Unidade
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	410	mg/L
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	135	mg/L
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,61	mg/L
DBO	35,5	mg/L
DQO	384	mg/L
NTK	450	mg/L
ST	98,44	g/L
STV	1,05	g/L
SST	54,23	g/L
SSV	23,17	g/L

#### 4.2 Análises físico-químicas nos RBS

Para ambos RBS foram coletadas amostras do afluente e efluente para análises de compostos nitrogenados (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NTK), DQO, DBO e das séries de sólidos (ST e SV). Com frequência de duas vezes semanais para o RBS laboratorial e três vezes para o RBS-piloto. O monitoramento do pH e temperatura também ocorreu em cada operação. As amostras para análises foram coletadas para afluente e efluente. A coleta da biomassa para as análises de microbiologia foi realizada para cada fase de operação dos RBS. O fluxograma de análises e coletas desenvolvidas nas fases a partir da utilização de efluente anaeróbio real nos RBS é apresentado na Figura 4.8:

Figura 4.1.2.1 – Fluxograma das análises realizadas para as amostras afluente e efluente nos RBS.



Legenda: Descrição metodológica das análises realizadas nos RBS.

A fim de avaliar a influência de condições operacionais na estabilidade e desempenho do reator, foram realizadas as análises de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) do afluente e efluente dos reatores, segundo a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), assim como as demais análises realizadas nesse estudo. Para as análises de DQO foi utilizado o método de oxidação da matéria orgânica por uma mistura em ebulição de dicromato de potássio e ácido sulfúrico, a 150 °C por duas horas. As análises de DBO foram realizadas durante 5 dias a 20°C. As análises de Nitrogênio Total Kjhedjal foram efetuadas por meio de digestão e titulação das amostras. As análises de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  foram realizadas por meio de análise colorimétrica (com utilização de fenol, hipoclorito e nutripussiato) e a análise de  $\text{NO}_3$  foi realizada por meio de Kit NitraVer®5

da marca Hach. Os parâmetros físico-químicos avaliados em ambos os reatores, bem como as metodologias utilizadas são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.29 Parâmetros físico-químicos avaliados no afluente e efluente dos RBS-piloto e RBS laboratorial e metodologias de análise aplicadas.

Parâmetro	RBS Lab Frequência Semanal	RBS Piloto Frequência Semanal	Método	Referência
ST e SV	2x	3x	Gravimétrico (2540)	APHA (2012)
DQO Total	2x	3x	Colorimétrico, refluxo fechado (5220 D)	APHA (2012)
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	4x	3x	Colorimétrico (4500 NH <sub>3</sub> F)	APHA (2012)
N-NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	4x	3x	Colorimétrico (4500 NO <sub>2</sub> . B)	APHA (2012)
N-NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	4x	3x	Kit NitraVer® 5 Nitrate Reagent, Hach	De acordo com instruções do fabricante ou
Alcalinidade	2x	3x	Potenciométrico (2320)	APHA (2012)
DBO	2x	3x	Oximétrico	APHA (2012)
NTK	2x	3x	Titulométrico	APHA (2012)

Fonte: dados da pesquisa.

### 4.3 Detecção de bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio por PCR

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para detecção de bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio nos RBS em escala laboratorial e piloto.

Para o RBS laboratorial foram coletadas amostras para as análises de PCR nos seguintes dias de operação: Para avaliação da comunidade microbiana ao dia 63 (final da fase de operação com efluente sintético) e início da fase com efluente real no dia 94 de operação, final da Fase 3 e início da Fase 4 de aeração no dia 199 e final do experimento no dia 268.

Para o RBS-piloto, foram coletadas amostras para as análises de PCR nos seguintes dias de operação: Avaliação da comunidade microbiana no RBS com o *start up* para a pesquisa no dia 01, para continuar a avaliação da comunidade com efluente sintético no dia 30, ao final da Fase

1 (com efluente sintético) e início da Fase 2 (efluente do digestato de resíduo alimentar mais adição de nitrito) no dia 96, avaliação da comunidade com efluente anaeróbico real no dia 163 e ao final do experimento ao dia 245.

#### **4.3.1 Extração de DNA para PCR**

As amostras de biomassa das diferentes fases operacionais dos reatores foram coletadas e centrifugadas a 4.000 rpm durante 20 minutos para as análises microbiológicas por meio de técnicas de biologia molecular. As coletas das amostras de biomassa do RBS laboratorial foram realizadas por meio de um coletor localizado na parte superior do reator, a coleta foi realizada durante o período de reação, quando a biomassa e o meio líquido encontravam-se sob agitação contínua.

As coletas das amostras de biomassa do RBS-piloto foram realizadas por meio de registro de saída, localizadas na parte intermediária do RBS e também foram coletadas na fase de reação. Após centrifugação as amostras foram lavadas três vezes em tampão fosfato-salino (PBS 1X, NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH = 7,2-7,4), sendo centrifugadas novamente após cada lavagem. Alíquotas contendo 0,5 grama da amostra de biomassa foram então submetidas à extração do DNA genômico por meio do o *kit* comercial Fast DNA spin kit for soil (MP Biomedicals), seguindo as instruções do fabricante. Para a verificação do resultado da extração, alíquotas de 3,0 µl do DNA extraído das amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,2% (80 volts, 40 minutos). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro *Nanodrop 1000* (*ThermoScientific*).

#### **4.3.2 Iniciadores e condições utilizadas na PCR**

Os DNAs das amostras em estudo foram amplificados por PCR utilizando os iniciadores específicos para micro-organismos do ciclo do nitrogênio apresentados na Tabela 4.10. Nesta Tabela também são apresentadas as temperaturas de anelamento para cada par de iniciador utilizado. As concentrações dos reagentes utilizados na reação de PCR são descritas na Tabela 4.11.

Tabela 4.3 Iniciadores utilizados nas reações de PCR para detecção de micro-organismos do ciclo do nitrogênio.

Par de iniciadores	Especificidade (Tamanho do inserto)	Sequência 5'→3'	Temperatura de anelamento (°C)	Referência
Pla 46F Amx 820R	RNAr 16S de Ca. Brocadia e Ca. Kuenenia (774 pb)	GGATTAGGCATGCAAGTC AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC	56	Schimid <i>et al.</i> (2000)
<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)	ACCCCTAGCAAATCTCAAAAAA CCG CTTCACCCCAGTCGCTGACC	58	Graham <i>et al.</i> (2007)
NTSPAF NTSPAR	RNAr 16S de <i>Nitrospira</i> (151 pb)	CGCAACCCCTGCTTTTCAGT 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)

Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 4.3 – Concentração dos reagentes utilizados nas reações de PCR.

Reagente	Concentração da Solução estoque	Concentração final na reação	Volume para reação de 25 µL
H <sub>2</sub> O ultrapura	-	-	7,5
Pré-Mix	2x	1x	12,5
Iniciador 1	30 pmol.µL <sup>-1</sup>	300 nM	0,25
Iniciador 2	30 pmol.µL <sup>-1</sup>	300 nM	0,25
Albumina de soro bovina (BSA)	5 ng.µL <sup>-1</sup>	0,3 ng.µL <sup>-1</sup>	1,5
DNA	Variável	Variável	3

\*O Pré-Mix (*Phoneutria*) possui todos os reagentes básicos para a reação da PCR, ou seja, tampão de uso padrão, nucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) e a enzima *Taq DNA Polimerase*.

Fonte: dados da pesquisa.

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%. Após a eletroforese o gel foi observado em transiluminador de LED *Nippon Geneticse* as imagens obtidas por meio

Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG



de uma câmera. Foi utilizado o marcador de peso molecular da Invitrogen 100 pb DNA Ladder (*Thermo Fisher Scientific*) para comparação com os produtos de PCR obtidos.

#### **4.4 Análises estatísticas**

Os dados de todas as fases foram armazenados e analisados por meio de estatística descritiva no programa Excel 2016. O mesmo programa foi utilizado para a confecção dos gráficos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 *Etapa 1: avaliação do processo Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico proveniente de reator UASB*

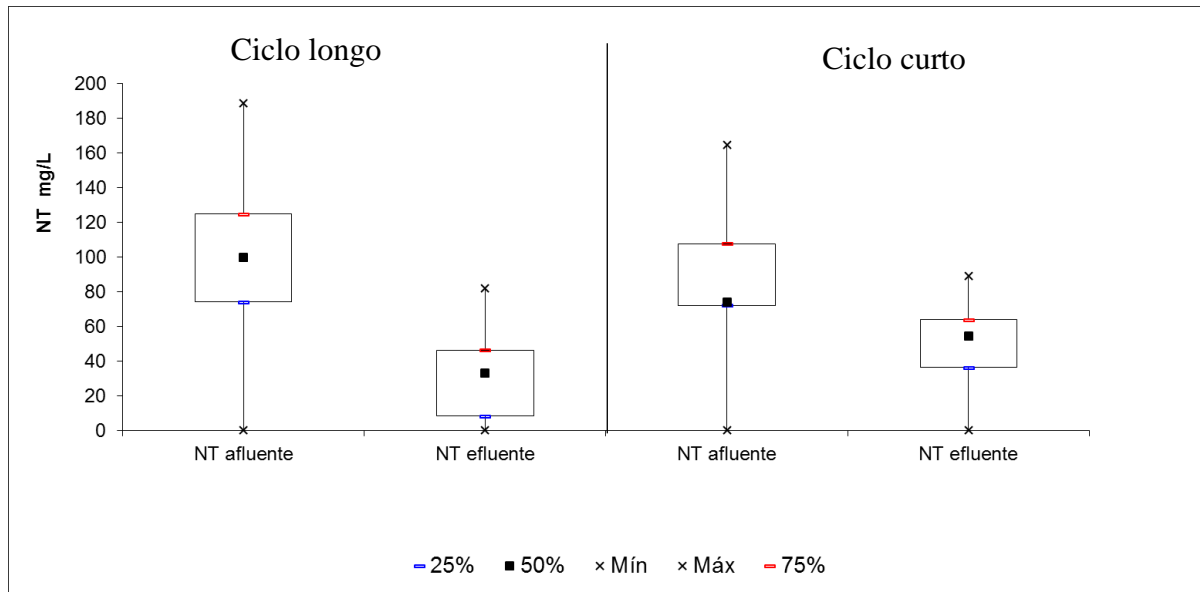
#### 5.1.1 **Monitoramento do RBS durante a Fase 1 (Enriquecimento e cultivo de bactérias Anammox com meio de cultivo) e Fase 2 (alimentação com efluente doméstico anaeróbioe suplementação com nitrito)**

O RBS foi monitorado por período de 300 dias, compreendendo quatro fases de operação. A Fase 1 correspondeu ao período de cultivo de biomassa com atividade Anammox, e esta fase foi desenvolvida por 105 dias desde o início de operação do RBS. O objetivo desta fase foi selecionar e aumentar a população de bactérias com atividade Anammox no RBS laboratorial, com efluente sintético suplementado com solução de nitrito.

Ao longo do período de monitoramento da Fase 1 (enriquecimento e cultivo das bactérias Anammox com meio de cultura), durante o ciclo longo (17 horas), o reator apresentou valor médio de pH igual a 6,93, a temperatura foi controlada em 35 °C e a concentração de oxigênio dissolvido esteve sempre próximo a zero. Já no ciclo curto (7 horas), o valor médio do pH foi igual a 7,34 e a temperatura foi mantida em 35 °C. Segundo Strous *et al.* (1999b), essas condições são ideais para as bactérias Anammox, cujo o pH ótimo está entre 6,7 e 8,3 e a temperatura de crescimento entre 20 e 43 °C.

Na Figura 5.1 são apresentados os dados referentes às concentrações afluentes e efluentes de nitrogênio total (nitrogênio nitroso mais nitrogênio amoniacal) nos dois ciclos de operação (ciclo longo de 17 horas e ciclo curto de 7 horas), ao longo de todo o período de monitoramento da Fase 1. Observa-se que as medianas de Ntotal para o afluente e efluente foram de 100 e 32,83 mg/L, respectivamente (para o ciclo longo) e para o ciclo curto, foram iguais a 86,48 mg/L e 48,19, respectivamente (Figura 5.1). Esses resultados mostram que houve maior remoção de Ntotal no ciclo longo.

Figura 5.1.1 Box plot das concentração de Ntotal ( $N-NH_4^+ + N-NO_2^-$ ) afluentes e efluentes no reator durante os ciclos longo e curta Fase 1 de operação do RBS laboratorial.



Fonte: dados da pesquisa.

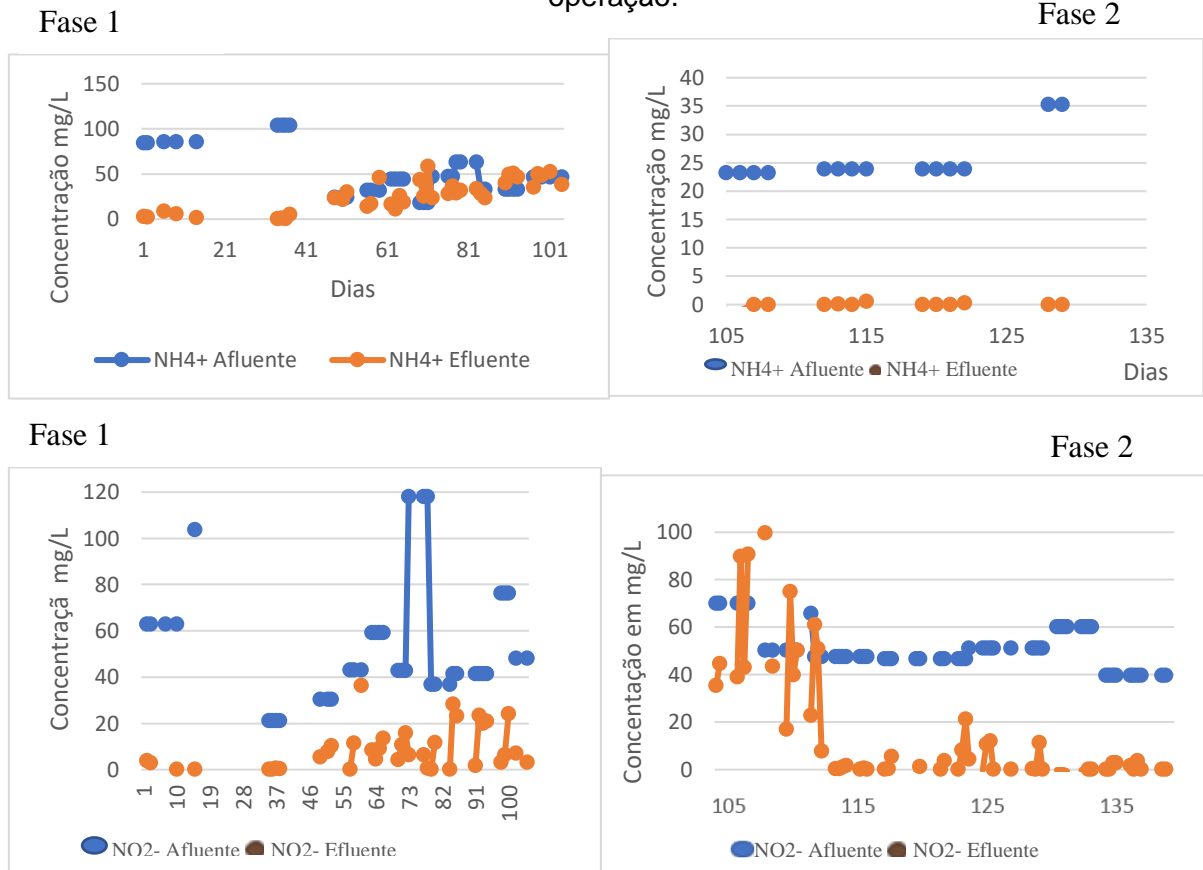
Na Fase 1 de operação deste RBS laboratorial foi aplicada uma carga média volumétrica de  $N_t$  ( $NH_4^+$  e  $NO_2^-$ ) igual a 280 mgN/L. Em termos de carga volumétrica ( $N_t$ ) foi igual a 140 mg N/L .d<sup>-1</sup>. Esta carga foi removida pelo RBS com média de 58,53% de eficiência.

A dinâmica dos compostos nitrogenados neste RBS para as Fases 1 e 2 de operação pode ser observada na Figura 5.2. Por este gráfico, pode-se verificar que nos primeiros 40 dias de operação do reator (Fase 1) houve intenso consumo de amônia e de nitrito, uma vez que as concentrações efluentes destes compostos foram sempre muito menores em relação as concentrações afluentes. Após esse período, houve uma fase de instabilidade em que houve menor consumo de amônia e de nitrito.

Pode-se observar que no período compreendido entre o dia 100 até o dia 140 (Fase 2) as concentrações de amônia e nitrito afluente e efluente ficaram muito próximas, indicando que não houve remoção destes compostos. Não obstante, a partir do dia 140, o nitrito foi quase que totalmente consumido; e a amônia nesse período (Fase 2 a partir de 140 até o dia 235 dias) foi parcialmente consumida com mediana de 63% de eficiência de remoção, mostrando que havia atividade Anammox no reator e, portanto, parte do consumo de nitrito deve ter ocorrido

pelas bactérias Anammox e a outra parte provavelmente foi devido à atividade de bactérias desnitrificantes presentes no reator.

Figura 5.1.1 Dinâmica dos compostos nitrogenados no RBS laboratorial nas Fases 1 e 2 de operação.



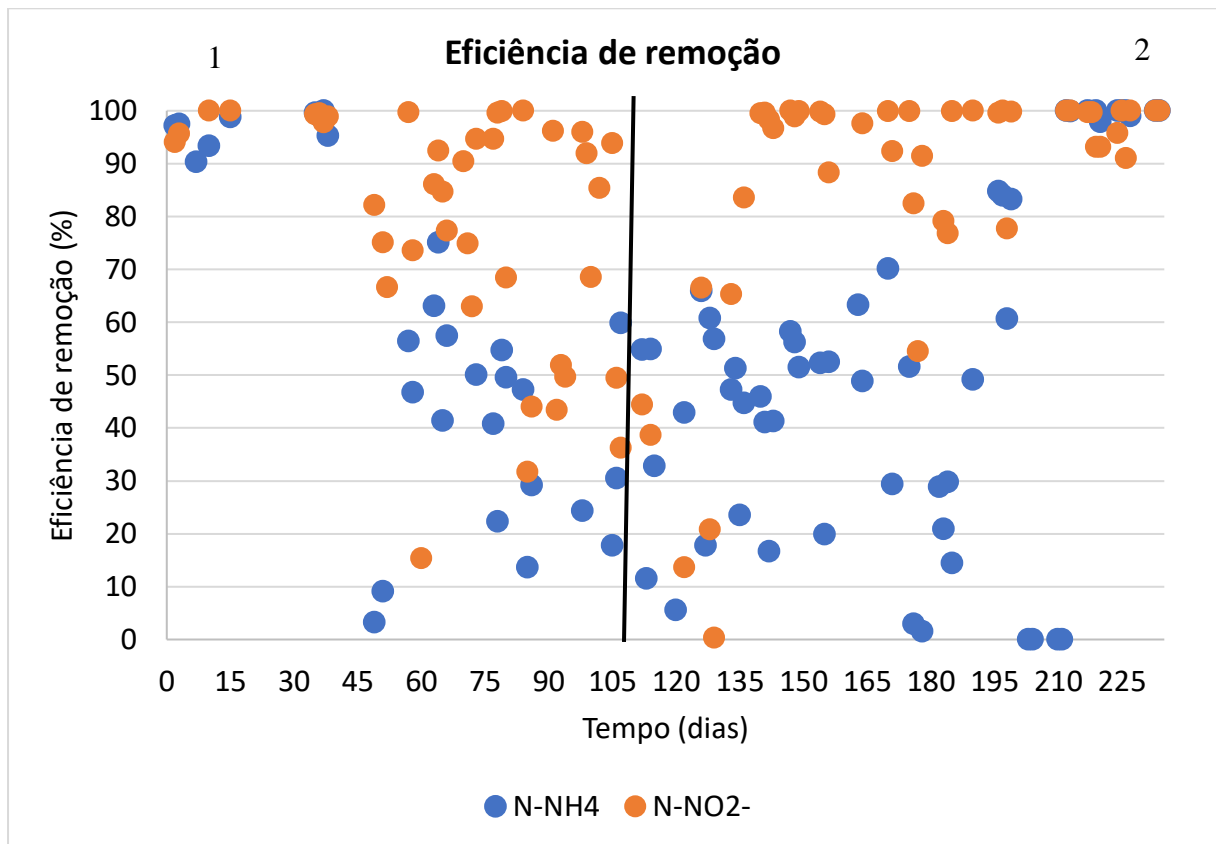
Legenda: 1 = Fase de enriquecimento; e 2 = Fase com efluente real suplementado com nitrito.  
Fonte: dados da pesquisa.

As eficiências de remoção de amônio e nitrito no RBS são apresentadas na Figura 5.3. Pode-se observar que durante a Fase 1, dos dias 0 a 45 de operação, essa eficiência estava acima de 90%. O consumo de nitrito, na Fase 1, foi elevado com eficiências medianas iguais a 91,87%, diferente da amônia que até o final da respectiva fase apresentou diminuição na eficiência de remoção de 97,46% para 15,91%.

A redução na eficiência de remoção da amônia a partir do dia 60 de operação (na Fase 1), provavelmente está relacionada ao fato de ter havido uma redução no TDH do reator de 48 para 24 horas (e consequente aumento de carga nitrogenada aplicada). Isso demonstrou que a

biomassa Anammox não se adaptou à mudança no TDH do reator. Não obstante, as eficiências de remoção melhoraram durante a fase subsequente (Fase 2), quando novamente o TDH foi aumentado para 48 horas, no dia 198 de operação. Na Fase 2, observou-se elevada eficiência de remoção de nitrito, com mediana igual a 98% e menor eficiência de remoção de amônia, com mediana igual a 55,96%. A partir do dia 200 até o dia 250 de operação as eficiências de remoção de amônia e nitrito foram, de maneira geral, superiores a 90%.

Figura 5.1.1 Eficiência de remoção de amônia e nitrito no RBS laboratorial nas Fases 1 e 2 de operação.



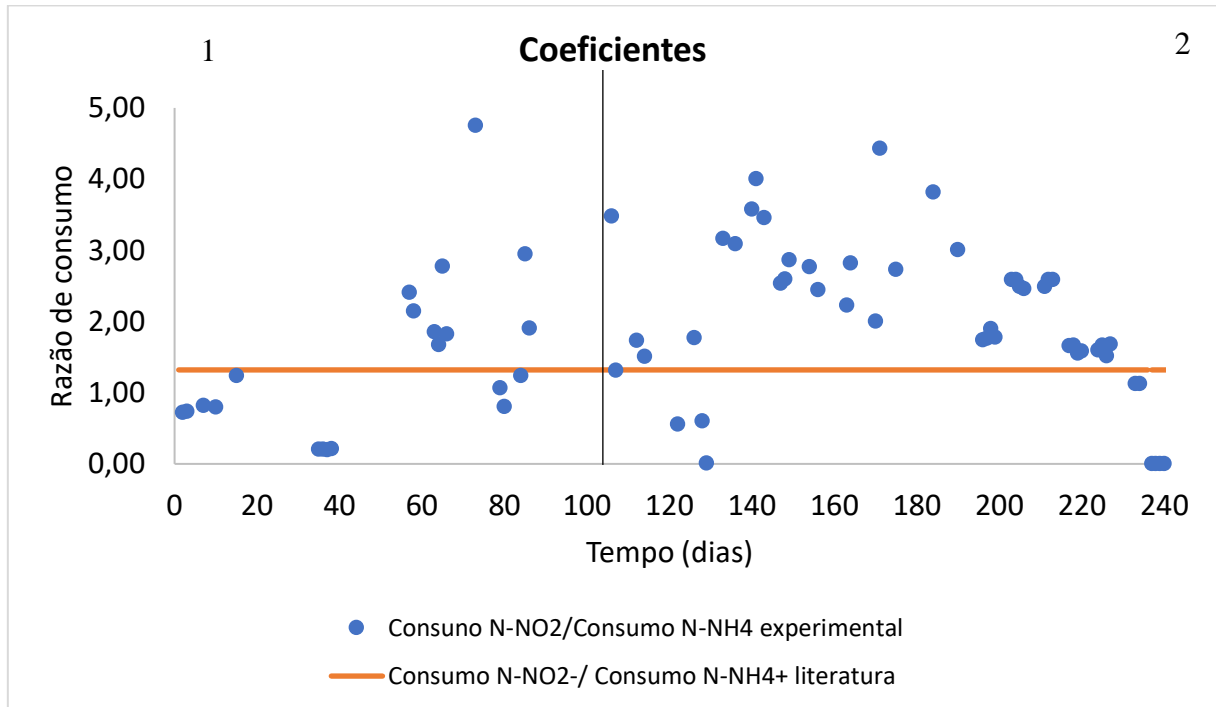
Legenda: 1 = Fase de enriquecimento com meio de cultivo; e 2 = Fase com efluente doméstico anaeróbio e suplementação com nitrito.

Fonte: dados da pesquisa.

Na Fase 1, houve mais consumo de nitrito em relação a amônia, com valor médio de consumo de 18,44%. Para a Fase 2 o coeficiente mediano para o consumo de nitrito em relação ao consumo de amônio obtido foi de 2,25, demonstrando assim que houve também atividade desnitrificante no reator. Esses resultados foram confirmados pelas análises de DBO (Figura

5.4) que evidenciaram que houve consumo de matéria orgânica no reator na Fase 2 (cerca de 45% de eficiência de remoção).

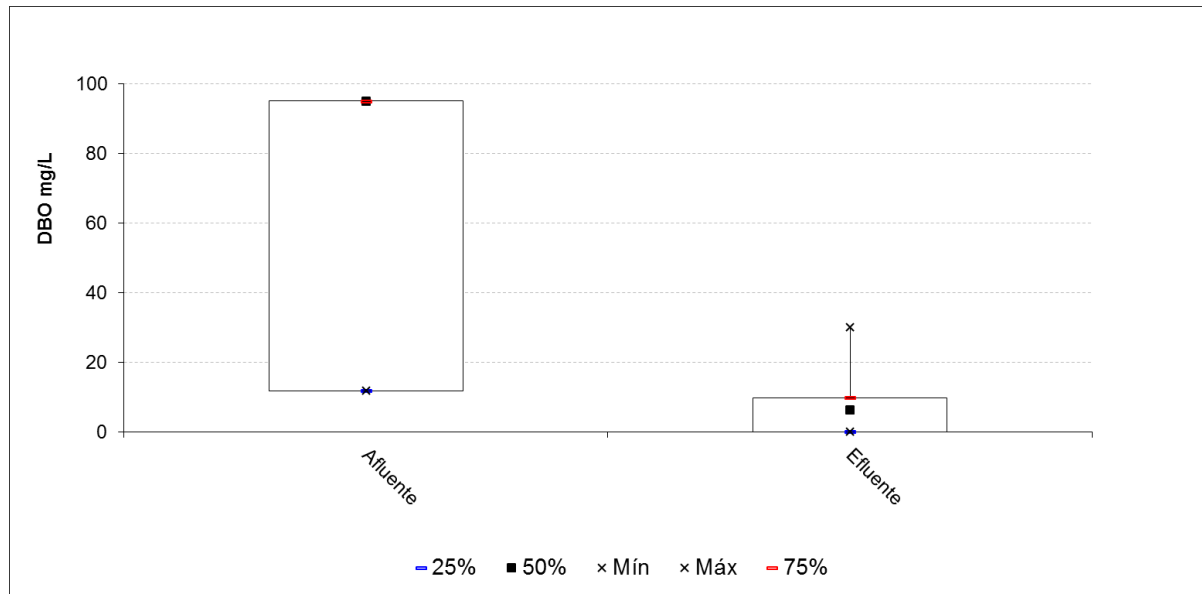
Figura 5.1.1 Coeficiente estequiométrico para o consumo de nitrito por consumo de amônio durante as Fases 1 e 2 de operação do RBS laboratorial.



Legenda: 1 = Fase de enriquecimento; e 2 = Fase com efluente real suplementado com nitrito.  
Fonte: dados da pesquisa.

Durante a Fase 2 as medianas obtidas para a DBO afluente e efluente foram iguais a 32,10 mg/L e 6,75 mg/L, respectivamente. Os resultados observados demonstraram que 45% da DBO foi removida no RBS laboratorial (Figura 5.5).

Figura 5.1.1 Box-plot das concentrações afluyente e efluente de DBO na Fase 2 de operação do RBS laboratorial.



Fonte: dados da pesquisa.

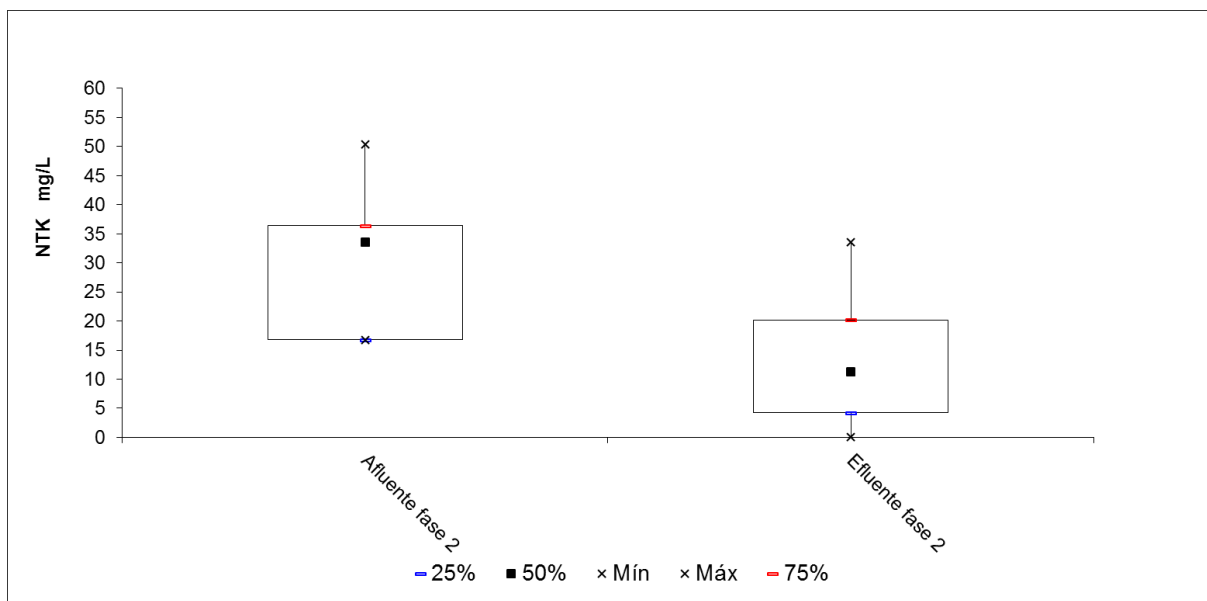
O inóculo que foi utilizado no presente estudo já apresentava atividade Anammox e a produção de nitrato foi monitorada ao longo da Fase 2. Os valores para nitrato ficaram acima do valor esperado para o processo Anammox, sendo a mediana obtida na Fase 2 para nitrato igual a 50,04 mg/L. Uma vez que o reator era operado em condições anóxicas durante a Fase 2 e foi observado consumo de matéria orgânica (Figura 5.5), esperava-se que houvesse também consumo de nitrato por meio do processo de desnitrificação

Leal (2016) obteve mediana igual a 0,30 para o coeficiente de produção de nitrato/ amônia consumida ( $N\text{-NO}_3^-$  produzido/ $N\text{-NH}_4^+$  consumida), demonstrando assim que é possível obter valores próximos ao da literatura (quando se faz cultivo e enriquecimento de Anammox em RBS a partir de lodos ativados como inoculo). Quan *et al.* (2008) obtiveram coeficiente igual a 1,46, em um reator anaeróbico de fluxo ascendente operado sob condições Anammox, valor também elevado para o processo. Date *et al.* (2009) conseguiram coeficiente de produção de  $N\text{-NO}_3^-$ /consumo de  $N\text{-NH}_4^+$  igual a 0,33, em reator de fluxo ascendente com biomassa proveniente de um tanque de tratamento de águas residuárias de suinocultura. Resultados

semelhantes também foram apresentados no estudo de Pereira *et al.* (2014), que obtiveram o valor médio para esse coeficiente de 0,36.

Os parâmetros NTK, DBO, DQO e a série de sólidos foram também monitorados durante a Fase 2 de operação do RBS laboratorial. Para o parâmetro NTK houve remoção média igual a 66% na Fase 2. Sendo a mediana afluyente de 33,60 mg/Le a mediana efluente de 11,20 mg/L (Figura 5.6).

Figura 5.1.1 Box plot das concentrações afluyente e efluente de NTK do RBS laboratorial na Fase 2.



Fonte: dados da pesquisa.

Na Tabela 5.1 podem ser encontrados os valores para série de sólidos analisados para as amostras afluyente e efluente do RBS laboratorial da Fase 2. Os resultados demonstraram que não houve perda significativa de biomassa no RBS.

As concentrações de sólidos nos efluentes domésticos com valores médios conhecidos variam de cerca de 0,2 a 0,3 g-SST/L (LOTTI, 2014). Altas cargas de SST podem causar graves problemas operacionais em reatores Anammox (LACKNER *et al.*, 2014). Mas este não foi o caso do presente trabalho.



No presente trabalho, não foram verificados problemas de perda de sólidos pelo sistema ou desenvolvimento de protozários no interior do reator.

Tabela 5.1. Resultados da série de sólidos para afluente do RBS (efluente anaeróbio de reator UASB tratando esgoto doméstico) e efluente do RBS na Fase 2 de operação

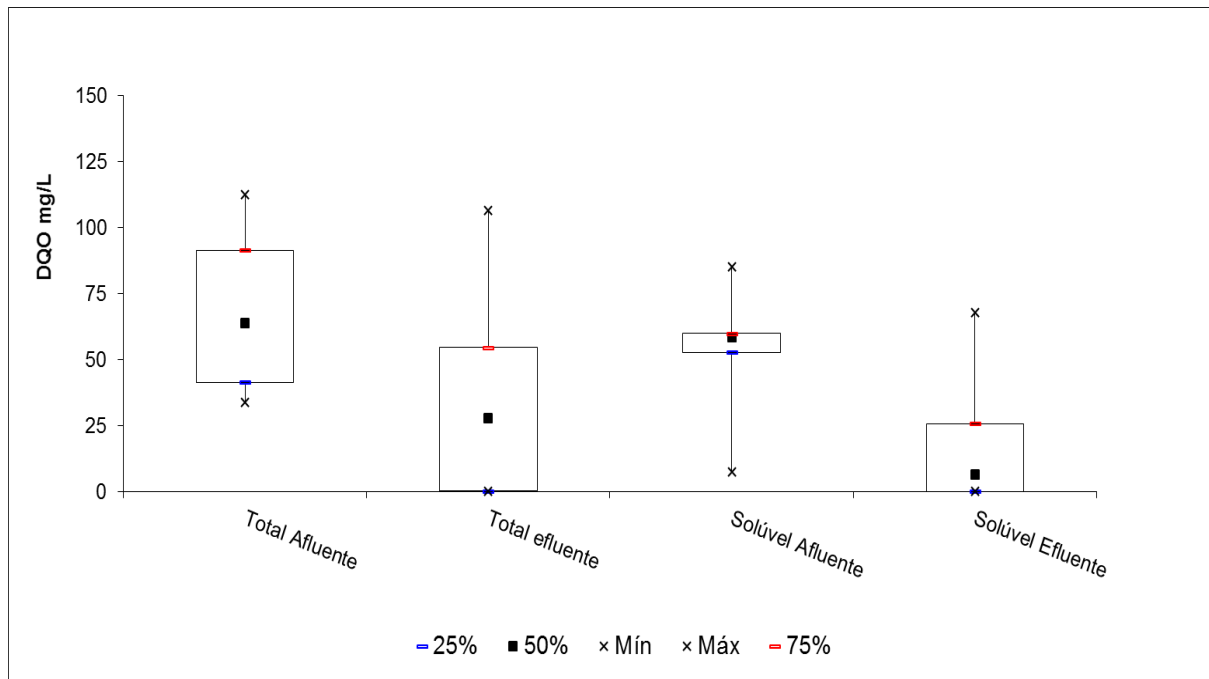
Parâmetro/Unidade	Média Afluente g/L	Média Efluente g/L
ST	0,49	0,46
STV	0,44	0,69
SST	0,40	0,09
SSV	0,33	0,17

Fonte: dados da pesquisa.

Com relação ao parâmetro DQO (Figura 5.7), verificou-se na Fase 2 remoção de DQO de cerca de 49,83%. Esse valor foi próximo ao obtido para a eficiência de remoção de DQO, com mediana de 45% (Figura 5.7). Isso indica que as bactérias desnitrificantes na Fase 2 estavam removendo matéria orgânica (proveniente do efluente anaeróbio doméstico usado) e consumindo parte do nitrito adicionado e por isso o coeficiente estequiométrico de nitrito consumido/amônia consumida foi alto, com mediana igual a 2,4 (maior do que o valor de 1,32, esperado para a reação Anammox).

As medianas obtidas nesta fase para DQO total afluente e efluente foram de 64,0 e 27,75 mg/L respectivamente e para a DQO solúvel iguais a 53,3 e 17,3 mg/L. Na Figura 5.7 pode ser observado o gráfico box plot para DQO total e solúvel.

Figura 5.1.1 - Box-plot dos valores afluente e efluente de DQO total e DQO solúvel no RBS laboratorial.



Fonte: dados da pesquisa.

Leal *et al.* (2016) utilizou o mesmo RBS e o mesmo efluente doméstico anaeróbio utilizado no presente trabalho. Observou-se, entretanto, no trabalho de Leal *et al.* (2016) que maiores eficiências de remoção dos compostos nitrogenados amônio e nitrito foram alcançadas, iguais a 98 e 88%, respectivamente, se comparado com as eficiências de remoção obtidas no presente trabalho, com medianas iguais a 54,91% para amônio e 98,23% para nitrito. Com relação à produção de nitrato, Leal *et al.* (2016) obtiveram concentrações iguais a 32,6 mg/L, valor menor do que o obtido neste trabalho, igual a 50 mg/L. Para a DQO, foram encontradas eficiências de remoção menores no presente trabalho, com mediana igual a 49,8%, em relação ao trabalho supracitado, que obteve 74% de eficiência de remoção de DQO.

No estudo de Fernandes *et al.* (2018), com utilização do mesmo efluente anaeróbio suplementado com nitrito, os resultados obtidos foram de 93,8% de eficiência de remoção de Ntotal na forma de  $N-NH_4^+$  e  $N-NO_2^-$ , maior portanto do que o obtido neste trabalho, que foi igual a 66,7%. A eficiência de remoção média de DQO foi igual a 75,7%.

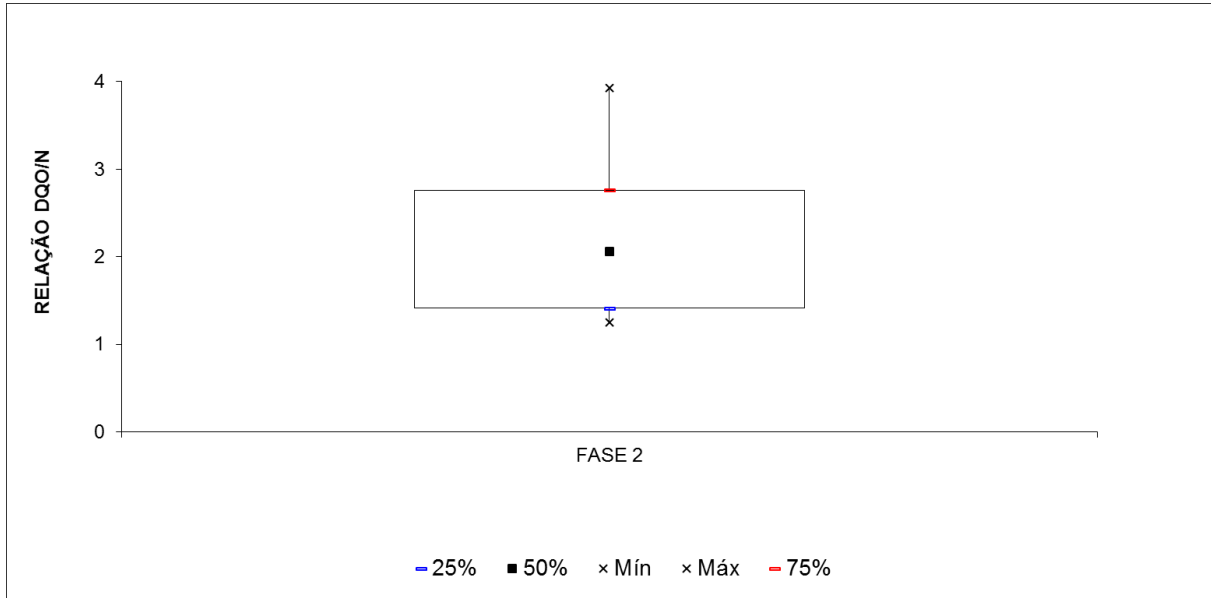
Em comparação com os experimentos realizados anteriormente no mesmo reator, tratando o mesmo tipo de efluente doméstico anaeróbio (LEAL *et al.*, 2016; FERNANDES *et al.*, 2018), Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG

é possível dizer que no presente trabalho a remoção, tanto de nitrogênio quanto de matéria orgânica foi mais baixa e instável. É importante ressaltar que entre os experimentos realizados por Fernandes *et al.* (2018) e o presente experimento, a biomassa do RBS laboratorial foi cultivada com baixa carga de nitrogênio, sendo alimentada apenas uma a duas vezes por semana com meio de cultivo mineral e autotrófico, o que pode ter contribuído para o declínio da atividade Anammox desta biomassa.

O processo Anammox tem sido aplicado com sucesso no tratamento de efluentes com alta concentração de amônio e baixa relação DQO/N, o que contrapõe as características de efluentes domésticos tratados pela via anaeróbia, que apresentam baixa concentração de nitrogênio e possuem DQO remanescente. A relação DQO/N mediana obtida para o afluente na Fase 2 foi igual a 2,32, com valor máximo de 3,93 e valor mínimo de 1,25. Fernandes *et al.* (2018) obteve valor próximo ao encontrado nessa fase, com média de 2,5. Ni *et al.* (2012) reportaram um limite de DQO/N igual 3,1 para a inibição do processo Anammox, definido quando a remoção de amônio caiu para 80% em seu experimento, em que utilizou reator UASB em escala laboratorial tratando efluente de sintético. A relação entre a concentração de DQO e a concentração de nitrogênio na forma de amônio aplicada ao RBS laboratorial na Fase 2 foi calculada e é apresentada na Figura 5.8.

O valor mediano para DQO/N encontrado para o efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente (2,32) encontra-se dentro da faixa esperada para este tipo de efluente, de acordo com Ali e Okabe (2015). Ademais, este valor não é considerado inibitório para as bactérias Anammox, segundo Zielinska *et al.* (2012). Dessa forma, estes resultados sugerem que é possível aplicar o processo Anammox como pós-tratamento de efluentes anaeróbios que ainda contenham matéria orgânica na forma de DQO para a remoção de nitrogênio amoniacal; o que também foi comprovado no trabalho de Fernandes *et al.* (2018).

Figura 5.1.1 Relação DQO/N obtida para o efluente doméstico pré tratado anaerobiamente na Fase 2 de operação do RBS laboratorial.

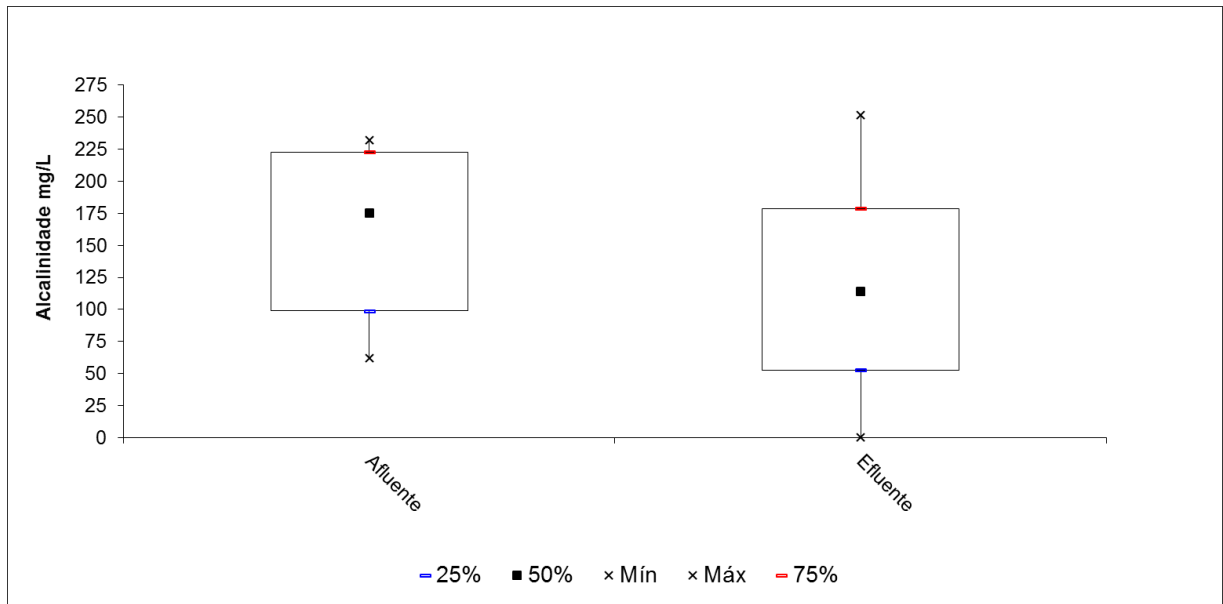


Fonte: dados da pesquisa.

Outro parâmetro monitorado no afluente e efluente ao RBS foi a alcalinidade que exerce função de tampão no meio, minimizando mudanças de pH durante a reação, evitando que os intermediários tóxicos ao processo se formem, os quais inibem parcial ou totalmente os microrganismos com atividade Anammox (SCHEEREN *et al.*, 2011). Ela é fornecida por meio do íon bicarbonato, assim como a fonte de carbono para o processo Anammox, de acordo com a estequiometria da reação proposta por Strous *et al.* (1998). O íon hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) e um pouco do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) produzidos durante a desnitrificação são desenvolvidos no sistema como alcalinidade (KUMAR; LIN, 2010).

Nesta fase, a alcalinidade mediana obtida para o afluente foi de 157,37 mg/L, com valor máximo de 231,94 mg/L e valor mínimo de 61,88. Para o efluente o valor mediano obtido foi de 113,85, com valor máximo de 251,74 e valor mínimo de 0 (Figura 5.9). Os resultados mostram que houve consumo de 36,46% da alcalinidade afluente. O processo Anammox consome pouca alcalinidade, de acordo com a estequiometria proposta por Strous *et al.* (1999b).

Figura 5.1.1 - Gráfico box plot com os valores afluente e efluentes do RBS laboratorial para alcalinidade na Fase 2 de operação.

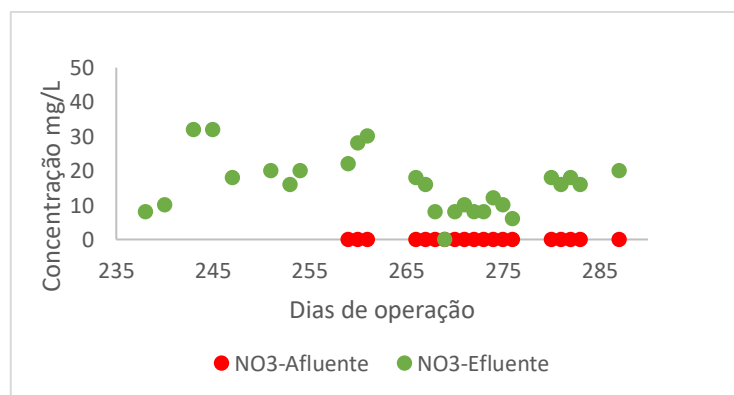
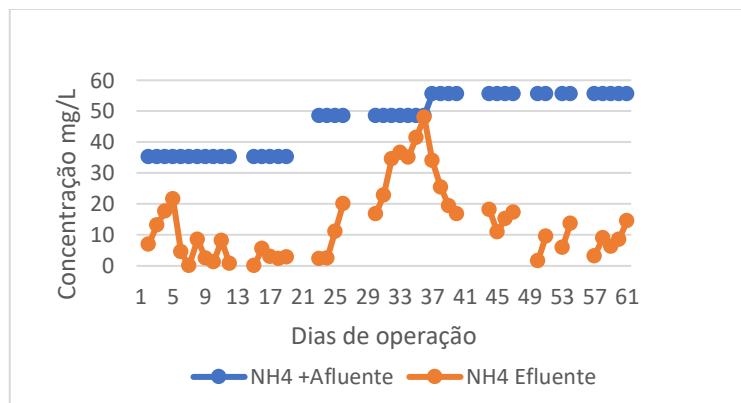
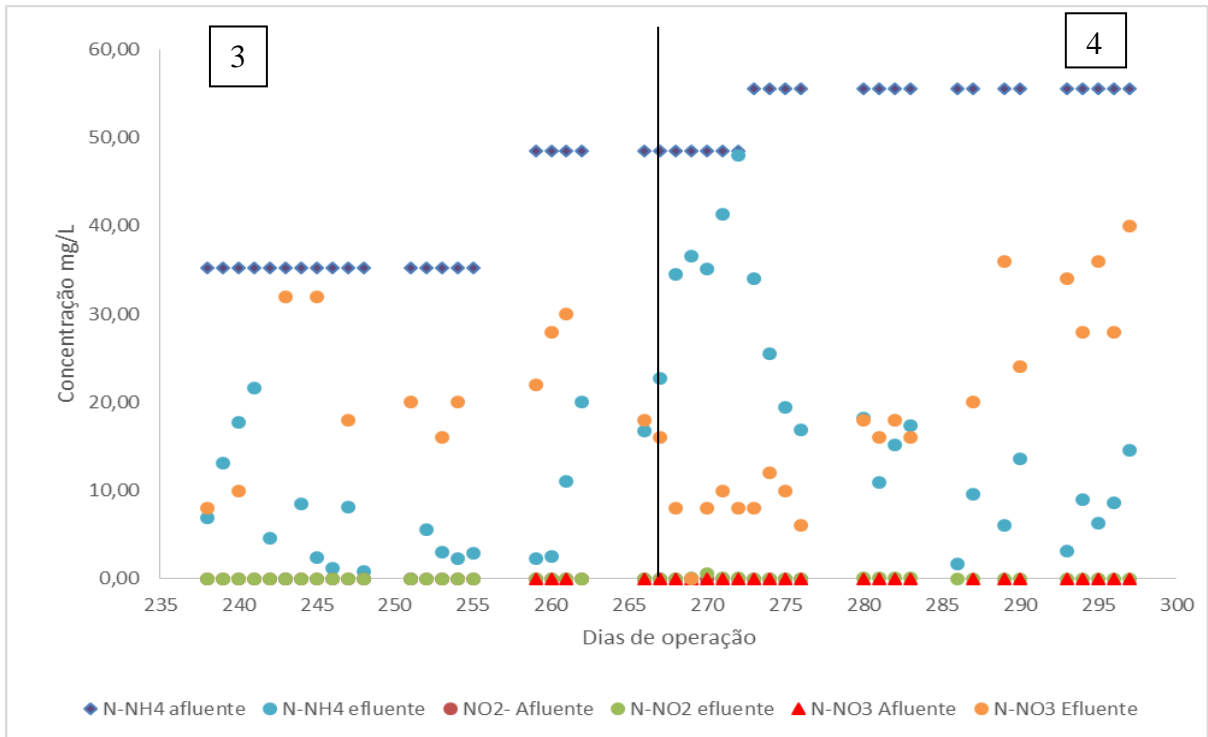


Fonte: dados da pesquisa.

### 5.1.2 Avaliação de estratégias de aeração para o desenvolvimento do processo de nitrificação parcial e Anammox para pós-tratamento de efluente doméstico (Fases 3 e 4)

Durante as Fases 3 e 4 de operação do RBS foram avaliadas duas estratégias de aeração. Durante estas fases, o reator foi alimentado com efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente, porém, sem suplementação com nitrito. O reator foi aerado de maneira intermitente, por meio de bomba de ar, seguindo as estratégias apresentadas na Tabela 4.3 (Material e Métodos), com o objetivo de desenvolver o processo de NP/Anammox. Na Figura 5.10 pode ser observada a dinâmica dos compostos nitrogenados nestas fases.

Figura 5.1.2 Dinâmica dos compostos nitrogenados nas Fases 3 e 4 do RBS laboratorial.



Fonte: dados da pesquisa.

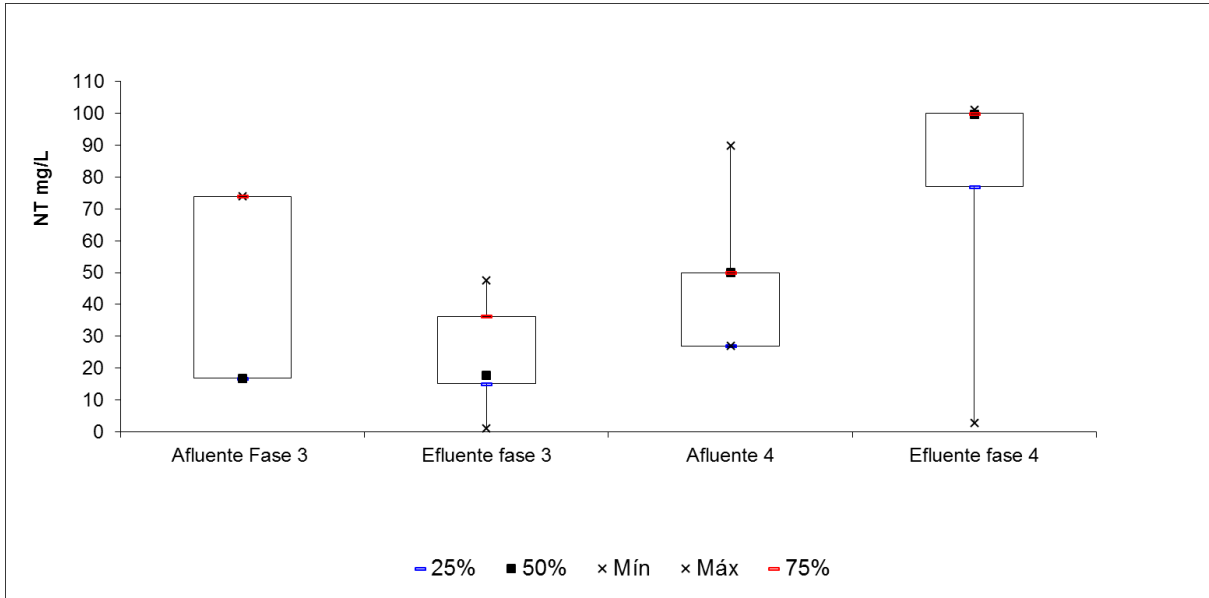
Com relação à dinâmica dos compostos nitrogenados nas Fases 3 e 4, a Figura 5.1.210 apresenta os resultados para o consumo de amônia, nitrito e formação de nitrato (lembrando que nesta fase não houve adição de nitrito e nem de nitrato), mas sim o nitrito formado deve ter sido proveniente da nitrificação parcial e deve ter sido posteriormente oxidado a nitrato, no processo de nitrificação e também no processo Anammox. A partir da Figura 5.1.2, observa-se que houve consumo de amônia em ambas as fases, porém esta foi mais instável na Fase 4, quando comparada com a Fase 3.

Hoekstra *et al.* (2019) utilizaram um reator em escala plena de 4 m<sup>3</sup> com efluente doméstico proveniente de uma ETE em Dokhaven, Holanda. Os resultados demonstraram que a supressão de bactérias oxidadoras de nitrito (BON) foi alcançada com sucessora faixa de temperatura (20 - 30 °C). Apesar da presença de BON, sua atividade poderia ser suprimida com sucesso devido a uma baixa concentração de oxigênio dissolvido. Foi detectado o excesso da capacidade de bactérias oxidadoras de amônia, e a atividade Anammox estava sempre presente no sistema. A estabilidade de NP/Anammox a longo prazo é um ponto focal para pesquisas futuras, especialmente relação à estabilidade da etapa de remoção da demanda biológica de oxigênio, precedendo o reator PN/A.

Nesse estudo as altas concentrações de OD estavam presentes durante um curto período de tempo, sendo assim o reator era totalmente nitrificante, mas depois de baixar o OD o processo Anammox retornou. A atividade das BOA foi a limitação da etapa do processo no reator, não devido a máxima capacidade das BOA, mas devido à limitação de oxigênio.

A remoção de N<sub>total</sub> (N<sub>TK</sub>+N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) do RBS laboratorial na Fase 3 para o afluente teve valor máximo obtido de 73,90 mg/L, o valor mínimo de 16,80 mg/L e a mediana de 16,80, para o efluente o valor máximo foi de 47,50 mg/L, o valor mínimo de 1,13 mg/L e a mediana de 17,70 mg/L. Na Fase 4, para o afluente os valores máximo, mínimo e mediano foram de 90, 26,90 e 50,0 mg/L, respectivamente, para o efluente o valor máximo foi 101,10 mg/L, o valor mínimo de 2,80 mg/L e a mediana igual 99,61 mg/L. O gráfico box plot com as concentrações afluente e efluente de N total nas Fases 3 e 4 pode ser observado na Figura 5.11.

Figura 5.1.2- Gráfico box plot de remoção de nitrogênio Ntotal no RBS laboratorial nas Fases 3 e 4 com aeração.



Fonte: dados da pesquisa.

Em termos de carga de N, a Fase 3 obteve mediana de remoção de  $28,37 \text{ mg/L.d}^{-1}$ , enquanto a Fase 4 obteve remoção mediana de  $43,20 \text{ mg/L.d}^{-1}$ .

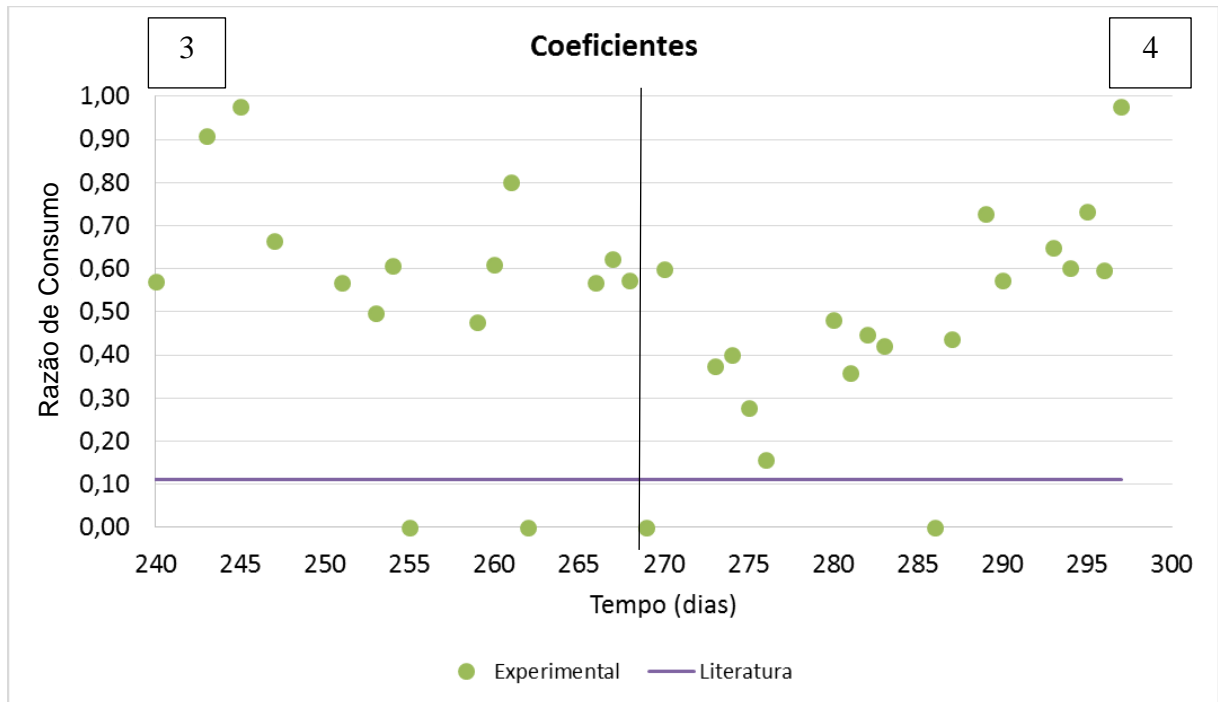
Pelos resultados obtidos, verifica-se que houve consumo de amônia e produção de nitrato (na Fase 3 quase toda a amônia consumida deve ter sido oxidada a nitrato, indicando, possivelmente, oxidação total da amônia). Na Fase 4, o consumo de amônia foi instável, mas melhorou a partir do dia 275 até o final do monitoramento. A partir deste período observa-se que quase toda a amônia consumida foi oxidada a nitrato também, sugerindo oxidação deste composto na maior parte do experimento.

Portanto, mostrando que não foi possível obter nitrificação parcial/Anammox nestas fases mesmo tendo diminuído pela metade a taxa de ar aplicada ao reator na Fase 4 ( $0,025 \text{ L/min/Lreator}$ ) em relação a Fase 3 ( $0,050 \text{ L/min/L reator}$ ). Mas, também, foi obtida certa remoção de N total; entretanto, o coeficiente de nitrato produzido/amônio consumido ainda foi elevado (em torno de 0,5) para o processo, indicando que também ocorreu nitrificação completa do amônio até nitrato.



Os valores obtidos para o coeficiente estequiométrico de nitrato produzido por amônia consumida variaram em uma faixa muito ampla, apresentando mediana de 0,53. Na Fase 4, os resultados obtivos para o coeficiente estequiométrico de nitrato produzido pelo consumo de amônia apresentaram mediana de 0,57 (Figura 5.12).

Figura 5.1.2 Coeficientes estequiométricos para a produção de nitrato por consumo de amônio obtidos durante as Fases 3 e 4 de operação do RBS laboratorial.



Legenda: Fase 3 = estratégia de aeração com taxa de ar aplicada de 0,50 L/min/L reator; Fase 4 = 0,025 L/min/L reator.

Fonte: dados da pesquisa.

Esses valores são maiores do que aqueles previstos para a reação Anammox que é de 0,26 e também são maiores do que o valor de 0,11 previsto para a reação de NP/Anammox (conforme proposto por Slieckers *et al.* (2002), indicando que nas Fases 3 e 4 mais nitrato foi formado. Na Fase 4, em que a taxa de ar aplicada foi menor (0,025L/min/L reator) em relação à Fase 3, em alguns poucos momentos, o coeficiente se aproximou mais do valor de 0,11 proposto para a reação NP/Anammox. Ainda assim, pelos resultados apresentados não foi possível estabelecer o processo de NP/Anammox nas condições testadas. Outros experimentos variando a taxa e o tempo anóxico e de aeração deverão ser testados em projeto futuro.

Para as fases com aeração, a eficiência de remoção de amônia se manteve alta em alguns dias e operação, mas, em outros, a eficiência foi próxima a 10%. As concentrações de nitrito efluente permaneceram próximas de zero durante todo o período das Fases 3 e 4, o que indica que o nitrito eventualmente formado pela oxidação parcial da amônia foi totalmente consumido pelos microrganismos no meio.

Na pesquisa desenvolvida por Wen *et al.* (2016), foi obtida uma partida bem-sucedida de um reator de nitrificação parcial. A concentração de nitrito no efluente aumentou gradualmente para 66,1 mg/L (dia 8 - dia 19). A NP estável foi alcançada quando o OD foi limitado no reator. A carga de nitrogênio removida foi de 0,16 - 0,21 kg N m<sup>3</sup>.d<sup>-1</sup>, que foi inferior ao valor relatado 0,4 kg N m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> por Ma *et al.* (2015). O motivo foi a carga de nitrogênio aplicada (0,23 - 0,25 kg N m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>) no estudo de Ma *et al.* (2015) que foi muito menor do que a carga igual a 0,47 kg N m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> reportada naquele trabalho (WEN *et al.*, 2016).

Em trabalho desenvolvido por MIAO *et al.* (2016) utilizou-se a estratégia de aeração intermitente (aeração 7 min/anóxica 21 min com 0,5 mgO<sub>2</sub>/L), em reator de 10 L para tratamento de efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente com a seguinte composição: amônia 51,2 – 67,5 mg-N/L, nitrito 0 - 5,2 mgN/L, nitrato 0 – 0,4 mg-N/L, DQO solúvel 41,4 – 70,2 mg/L, DBO<sub>5</sub> 3,5 – 10,8 mg/L, SS 35,0 – 54,0 mg/L e pH 7,56 – 7,71. Foi observada diminuição da concentração de nitrato de 38,0 mg/L para 1,30 mg-N/L, indicando que as BON foram inibidas; alcançando, assim, de remoção da carga de nitrogênio de 73 mg-N/L/d.

No trabalho desenvolvido por Carvalho (2019) em que foram estabelecidas condições para o processo de NP/Anammox em RBS de 10 L para tratamento de digestato de resíduo alimentar, os melhores resultados foram obtidos com estratégia de aeração intermitente e tempos aeróbios/anóxicos de 7 min/14 min, com taxa de ar aplicada de 0,050 L/min. Lreator. A referida autora concluiu que a diminuição dos períodos aeróbios em relação aos anóxicos para 7 min/7 min promoveu distúrbios no sistema, provocados pelo excesso de nitrificação, que seguiu até a fase de nitratação. Esta estratégia também foi aplicada neste RBS laboratorial, mas não obtendo os melhores resultados, sendo necessário reduzir a taxa de ar aplicada.

Na literatura, o debate está aberto sobre os valores reais das constantes de meia-saturação de oxigênio para AOB e NOB envolvidos em sistemas de tratamento de águas residuárias. No

estudo de Blackburne *et al.* (2008), foi verificado pela determinação da constante de meia saturação de oxigênio,  $K_o$ , com resistências semelhantes de transferência de massa de oxigênio para AOB e NOB enriquecidos como  $0,033 \pm 0,003$  mg/L e  $0,43 \pm 0,08$  mg/L, respectivamente.

No estudo de Kumar e Lin (2010), propõem-se um intervalo aceitável de OD 0,5 - 0,7 (mg/L) para se obter efeitos negativos com inibição reversível da atividade do Anammox e sob condições de excesso de oxigênio e  $\text{NH}_4^+$ , podendo gerar excesso indesejado de nitrito oxidado. Quando o reator possui meio suporte e há desenvolvimento de biofilme, o excesso de OD no sistema pode ser consumido pelas BOA nas camadas externas do biofilme e, simultaneamente, as bactérias Anammox poderiam se desenvolver nas camadas anóxicas. Entretanto, no presente estudo a biomassa era de crescimento suspenso e não aderido.

De acordo com von Sperling (2007), a matéria orgânica solúvel pode ser assimilada 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 micro-organismos. 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.

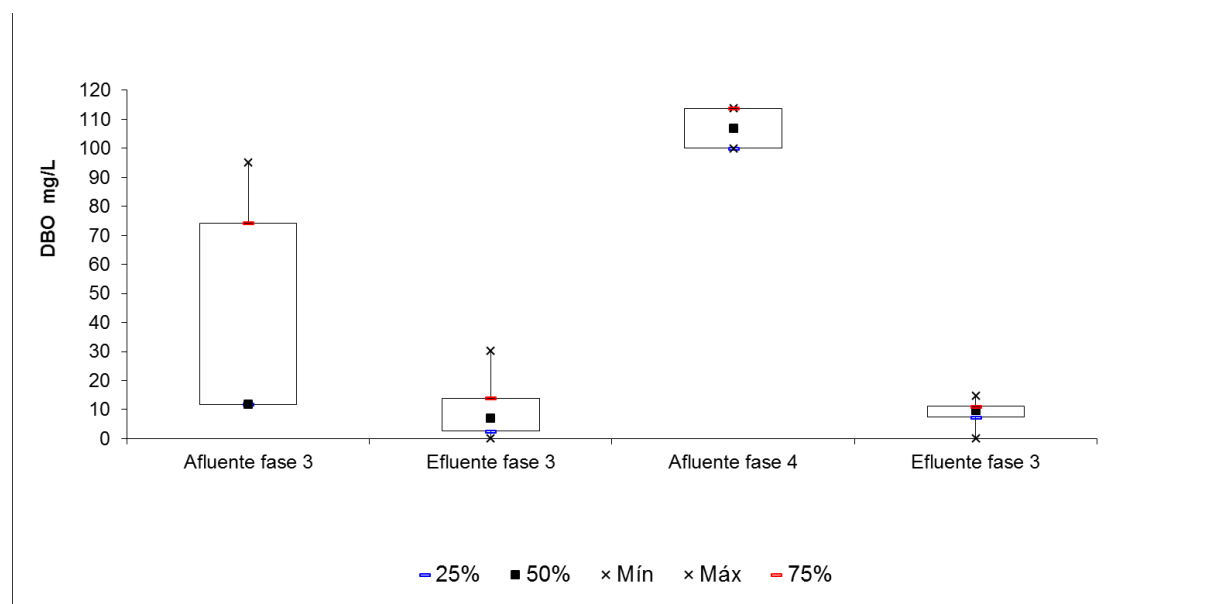
Os resultados de DBO para a Fase 3 apresentaram mediana afluenta e efluente de 11,85 e 7,10 mg/L, respectivamente e um percentual de remoção de 50,86% (Figura 5.13). Para a Fase 4, apresentou a DBO mediana afluenta de 106,85 mg/L e efluente 9,85 mg/l, com mediana de remoção de 98,69%. O gráfico box plot das eficiências de remoção de DBO pode ser observado na Figura 22. Assim, é possível observar que houve maior remoção de DBO nas Fases 3 e 4 em relação à Fase 2. Isso pode ter ocorrido em função da atividade das bactérias heterotróficas aeróbias que foram mais estimuladas, em função da aeração. Portanto, as condições operacionais na Fase 4 favoreceram a atividade heterotrófica através do consumo da DBO, alcançando assim eficiência de 100% de remoção.

Durante a operação de um sistema de reatores na estação de tratamento em Dokhaven, observou-se que as taxas de conversão do reator NP/Anammox diminuíram quando o reator de primeiro estágio foi instável, esse que desenvolvia o pré-tratamento do sistema. A DBO afluenta

neste primeiro reator foi provavelmente consumida por bactérias heterotróficas. Este reator possuía biofilme e uma camada de heterotróficas poderia ter múltiplos efeitos negativos. Em primeiro lugar, a camada heterotrófica poderia agir como uma camada de difusão adicional que aumenta a transferência de massa externa. Em segundo lugar, o crescimento heterotrófico poderia consumir mais oxigênio que as BOA, que se tornaria um fator limitante para o crescimento desses microrganismos. E finalmente, é possível que a camada heterotrófica altere a estratificação no biofilme e, portanto, torne a supressão do BON mais difícil. Baseado no possível ganho de energia como o principal problema para implementar a tecnologia NP/Anammox, sugere-se fortemente que a implementação da tecnologia NP/Anammox para um efluente de estação de tratamento seja combinada com a otimização de remoção do DBO, antes do reator NP/A (HOEKSTRA *et al.*, 2019).

Aplicando os processos de nitrificação parcial e Anammox em um RBS em escala-piloto, Joss *et al.* (2011) avaliaram a remoção de nitrogênio em águas residuárias ricas em amônio e com baixas concentrações de DBO e sólidos em suspensão. O RBS era aerado continuamente e o pH era controlado (Sistema DEMON), as concentrações do oxigênio dissolvido (OD) foram inferiores a 1mg O<sub>2</sub>/L, permitindo que o processo de nitrificação parcial ocorresse simultaneamente com o processo Anammox. As cargas de amônio eram de até 500 gN m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>, com conversão em N<sub>2</sub> superior a 90%.

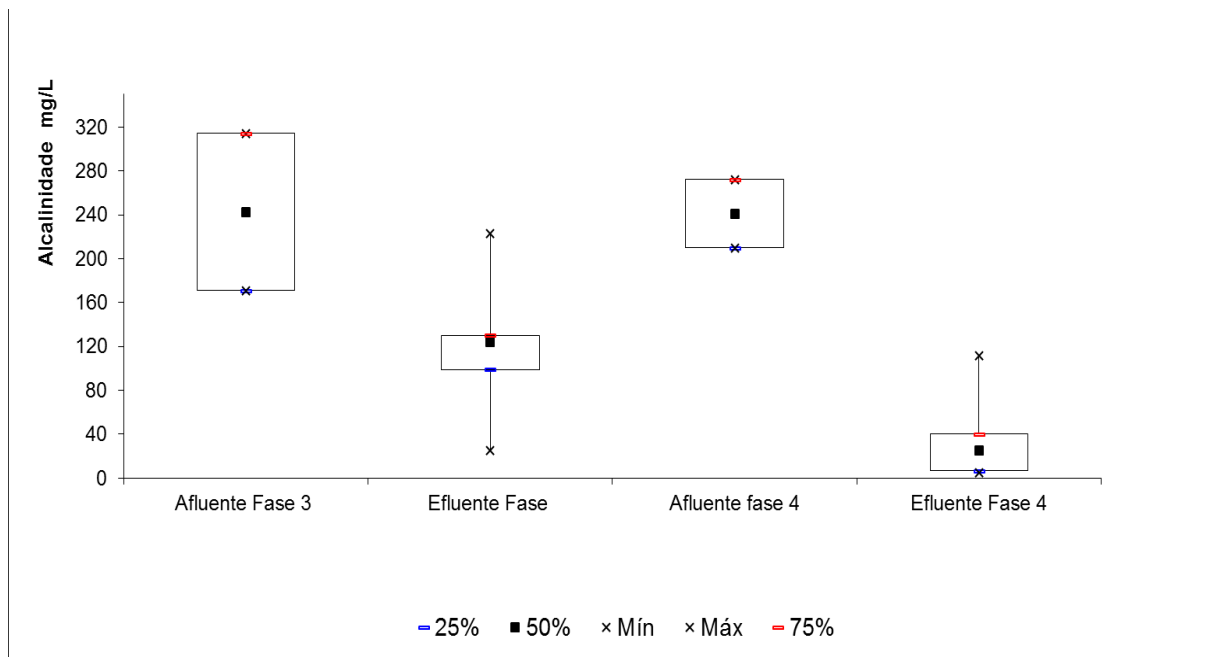
Figura 5.13 – Concentrações afluente e efluentes de DBO do RBS laboratorial nas Fases 3 e 4.



Fonte: dados da pesquisa.

Com relação aos resultados para alcalinidade (Figura 5.14), na Fase 3 a mediana afluyente foi igual 243,39 e efluente igual a 123,75 mg/L, apresentaram mediana de eficiência de remoção de 50,8%. Para a Fase 4 as medianas afluyente e efluente foram de 241 e 4,75 mg/L, respectivamente, a mediana remoção obtida foi 88,98%, demonstrando, assim, que houve consumo maior alcalinidade no RBS laboratorial para a Fase 4. Carvalho (2019) utilizou um RBS laboratorial de 10 L com NP/Anammox para tratamento de digestato de resíduo alimentar e obteve eficiência de remoção de 52,24% de alcalinidade para a fase com a mesma estratégia de operação da Fase 3, taxa de ar aplicada de 0,050 L/min/Lreator com período aeróbio de 7 e 14 minutos anóxico e 83,05% em estratégia semelhante 0,025 L/min/Lreator, com período aeróbio de 7 e 14 minutos anóxico, semelhante à estratégia de aeração da Fase 4 do presente trabalho.

Figura 5.1.2 Box plot das concentrações afluyente e efluente para alcalinidade no RBS laboratorial nas Fases 3 e 4.

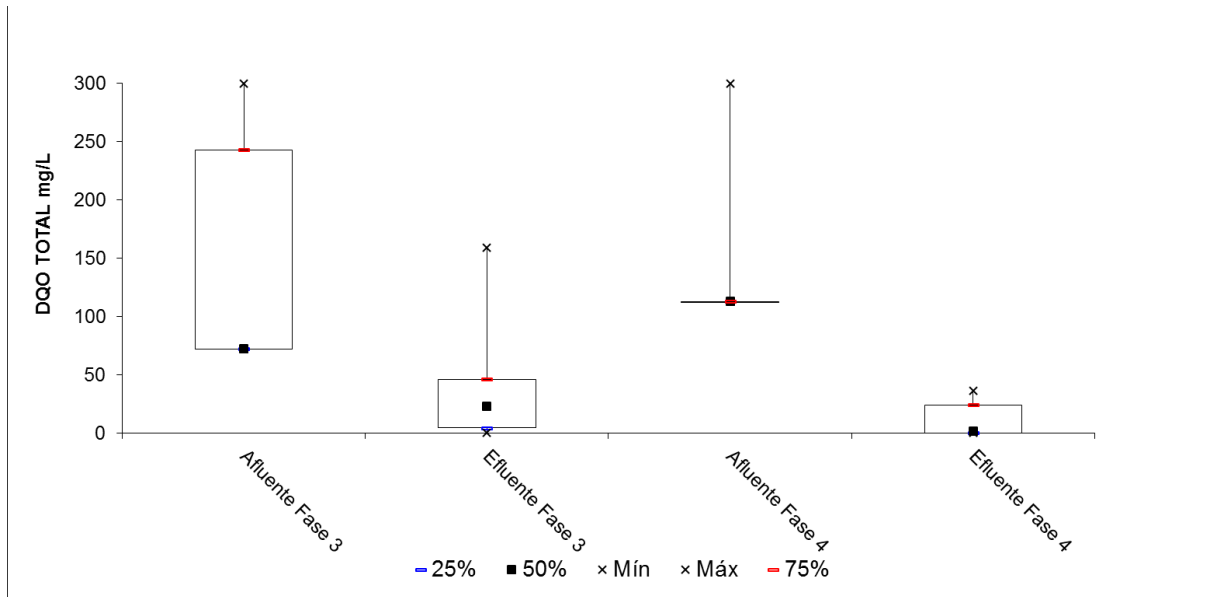


Fonte: dados da pesquisa.

Para a Fase 3, as medianas afluyente e efluentes de DQO total obtidas foram de 72,33 e 23,15 mg/L, respectivamente. Para a Fase 4, as medianas afluyente e efluentes obtidas foram de 112,15 e 1,50 mg/L, respectivamente. A mediana obtida para a eficiência de remoção de DQO total na

Fase 3 foi de 82,33% e para a Fase 4 a mediana de eficiência de remoção foi de 98,67%, dessa forma, a Fase 4, com aeração, obteve melhor percentual de remoção. Na Figura 5.15 podem ser observados os resultados obtidos para DQO total nas Fases 3 e 4 de operação do RBS laboratorial.

Figura 5.1.2 – Box plot das concentrações de DQO total nas Fases 3 e 4 do RBS laboratorial.



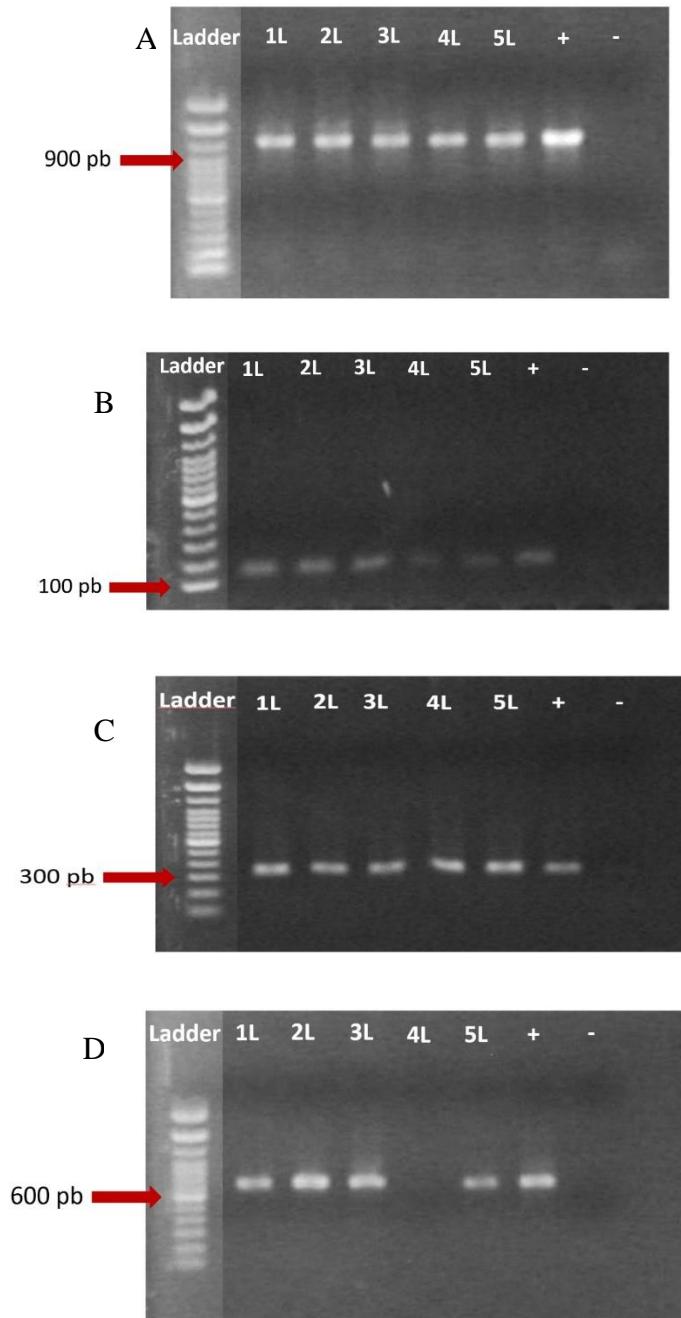
Fonte: dados da pesquisa.

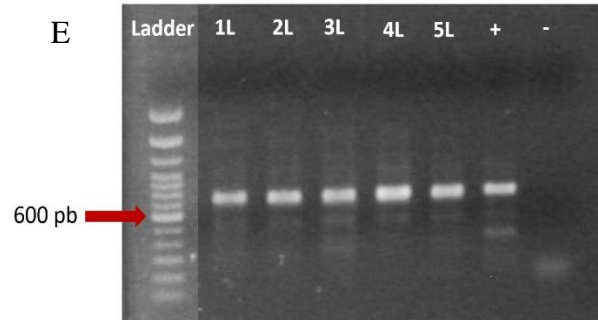
### 5.1.3 Detecção dos Microrganismos do ciclo do Nitrogênio

A detecção das bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio: bactérias Anammox, bactérias oxidadoras de amônia (BOA), *Nitrobacter*, *Nitrospira* e bactérias desnitrificantes no reator foi realizado por meio da técnica de PCR convencional. Os resultados foram positivos para a presença de DNAr 16S de bactérias Anammox em todas as fases analisadas (Figura 5.16 A). Em todas as amostras das fases monitorada no RBS ao longo do experimento foi possível detectar a presença de *Nitrobacter* e *Nitrospira* (Figura 5.16 B e C). Os resultados da PCR indicaram que as BOA permaneceram no RBS com exceção da amostra coletada após os 268 dias de operação (canaleta 4L) (Figura 5.16 D); esta amostra é referente ao final da primeira estratégia de aeração, Fase 3.

As bactérias desnitrificantes permaneceram em todas as fases de operação do RBS, como pode ser observado na figura 5.16 E.

Figura 5.1.3 – Detecção dos micro-organismo do ciclo do nitrogênio pela PCR com iniciadores para o DNAr 16S de bactérias Anammox (Pla 46f/ Amx 820r) (A). Para *Nitrospira* NTSPAF/ NTSPAR – 151 pb (B). Para *Nitrobacter* Nitro1198/ Nitro 1423 – 397 pb (C). Para Oxidadoras de amônia *AmoA1R/ AmoA2R* – 491 pb (D). Para Desnitrificantes NosZF/NosZ 1622R – 500 Pb (E).





Legenda: 1L = RBS Laboratório 63 dias (Fase1); 2L = RBS Laboratório 104 dias (Fase 1); 3L = RBS Laboratório 199 dias (Fase 2); 4L = RBS Laboratório 268 dias (Fase 3); 5L = RBS Laboratório 325 dias (Fase 4); + Controle positivo; Controle negativo.

Fonte: dados da pesquisa.

Os resultados da PCR convencional demonstraram que as bactérias Anammox permaneceram no reator ao longo de todo o tempo de operação em todas as fases avaliadas. Desse modo, pode-se verificar que a presença de matéria orgânica e dos demais compostos presentes no efluente de reator UASB tratando efluente doméstico não contribuiu para a eliminação de bactérias com atividade Anammox do RBS. Assim como a presença de OD (nas Fases 3 e 4 de operação) também não foi capaz de eliminar as bactérias Anammox do reator. A detecção de bactérias nitrificantes e desnitrificantes também foi importante para confirmar que esses grupos de bactérias participaram dos processos de conversão e remoção dos compostos nitrogenados durante as fases de operação do RBS laboratorial.

#### 5. 1.4 Atendimento a legislação brasileira dos parâmetros analisados

A resolução CONAMA nº 430/2011 que dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de efluentes em corpos de água receptores e estabelece as condições e padrões para efluentes de sistemas de tratamento de esgotos sanitários, determina valores limítrofes para o lançamento final de efluentes nos corpos receptores, desse modo avalia-se se o efluente pós-tratamento alcançou os valores preconizados para o seu lançamento no corpo receptor. Na tabela 5.2 pode ser observado os valores afluentes e efluentes obtidos para os parâmetros analisados neste RBS laboratorial durante a fase de operação com efluente doméstico pós-tratado suplementado com nitrito e os valores preconizados pela legislação. Na tabela 5.3 pode ser observados os resultados obtidos na fase 3 e 4 de operação (0,050 Lmin/Lreator e 0,025 Lmin/Lreator, respectivamente) do RBS laboratorial.



Tabela 5.2: Resumo dos parâmetros analisados no RBS laboratorial de acordo com a legislação vigente na fase 2 de operação.

Parâmetro	Afluente Média mg/L	Efluente Média mg/L	Resolução CONAMA Nº430/2011
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	30	13	Não dispõem
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	51	17	Não dispõem
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	75	Não dispõem
pH	7	7	Entre 5 a 9
Temperatura	25	25	Inferior a 40°C
DBO	39	15	Remoção mínima de 60%
DQO	63	52	Não dispõem
NTK	37	14	Não dispõem
Alcalinidade	193	112	Não dispõem

Tabela 5.3: Resumo dos parâmetros analisados no RBS laboratorial de acordo com a legislação vigente na RBS Laboratorial Fase 3 e fase 4.

Parâmetro	Fase 3		Fase 4		Resolução CONAMA Nº430/2011
	Afluente Média mg/L	Efluente Média mg/L	Afluente Média mg/L	Efluente Média mg/L	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	38	7	53	19	Não dispõem
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-	0	-	0	Não dispõem
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	21	-	18	Não dispõem
pH	7	7	7	7	Entre 5 a 9
Temp.	25	25	25	25	Inferior a 40°C
DBO	53	9	104	8	Remoção mínima de 60%
DQO	170	110	112	16	Não dispõem
NTK	45	7	50	10	Não dispõem
Alcalinidade	242	126	293	51	Não dispõem

Diante dos resultados obtidos e comparados com o valores refenciandos pela legislação vigente observa-se que os resultados obtidos demonstraram valores compatíveis com os da legislação, quando determinados pela mesma.

## 5.2 ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO ANAMMOX PARA PÓS-TRATAMENTO DE DIGESTATO DE RESÍDUO ALIMENTAR PROVENIENTE DE REATOR UASB (RBS-piloto)

O RBS-piloto foi operado por 293 dias. A Fase 1 correspondeu a fase de enriquecimento e cultivo de biomassa com atividade Anammox, sendo desenvolvida por 95 dias de operação do RBS, sendo alimentado com efluente sintético nesta fase. O objetivo desta Fase 1 foi selecionar e aumentar a população de bactérias com atividade Anammox no RBS-piloto. Ressalta-se que o reator já se encontrava em operação desde agosto de 2017, sendo alimentado com digestato de resíduo alimentar e suplementado com solução de nitrito. Durante a Fase, 1 o reator apresentou pH médio igual a 7,14 e temperatura média igual à 25,4 °C.

Para a Fase 1 foram analisadas o total de 35 amostras afluente e efluente. Para a Fase, 2 foi analisado o total de 50 amostras para afluente e efluente. Os valores médios obtidos nas respectivas Fases 1 e 2 para o afluente e efluente de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_2^-$ , são apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.2 – Concentrações medianas de amônia e nitrito afluentes e efluentes no RBS-piloto nas fases de operação.

Fase	Afluente $\text{N-NH}_4^+$ mg/L	Efluente $\text{N-NH}_4^+$ mg/L	Afluente $\text{N-NO}_2^-$ mg/L	Efluente $\text{N-NO}_2^-$ mg/L
1 (com meio de cultura)	100	39,12	99,83	65,18
2 (com digestato de Resíduo alimentar – diluído 4x)	401,71	124,45	116,60	0,50

Fonte: dados da pesquisa.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 5.2), para as concentrações afluentes e efluentes de amônia e nitrito é possível observar para a Fase 1: do período de 0 a 40 dias, período inicial no qual predominou o processo Anammox. Nesses 40 dias iniciais de operação, a eficiência de remoção de amônio foi elevada no reator, alcançando 100%, com média igual a 82,20%. Ambos os compostos (amônia e nitrito) foram removidos simultaneamente, indicando que ocorreu atividade Anammox. Não obstante, durante o período II (após 40 dias), as concentrações efluentes destes compostos ficaram elevadas, alcançando 64,99 mg/L de nitrogênio amoniacal

e 81,30 mg/L de nitrogênio na forma de nitrito. Foi observado que, neste período, houve perda de biomassa do reator, o que pode ter contribuído para a diminuição da atividade Anammox.

Outra possível explicação para a perda de eficiência durante esse período é o fato do reator, que antes deste experimento era operado com digestato de resíduo alimentar mais nitrito passou a ser alimentado com meio de cultivo mineral e autotrófico. Isso pode ter causado a morte de muitos microrganismos heterotróficos com liberação de nitrogênio orgânico celular, que pode ter sido transformado em amônio, sendo liberado com o efluente.

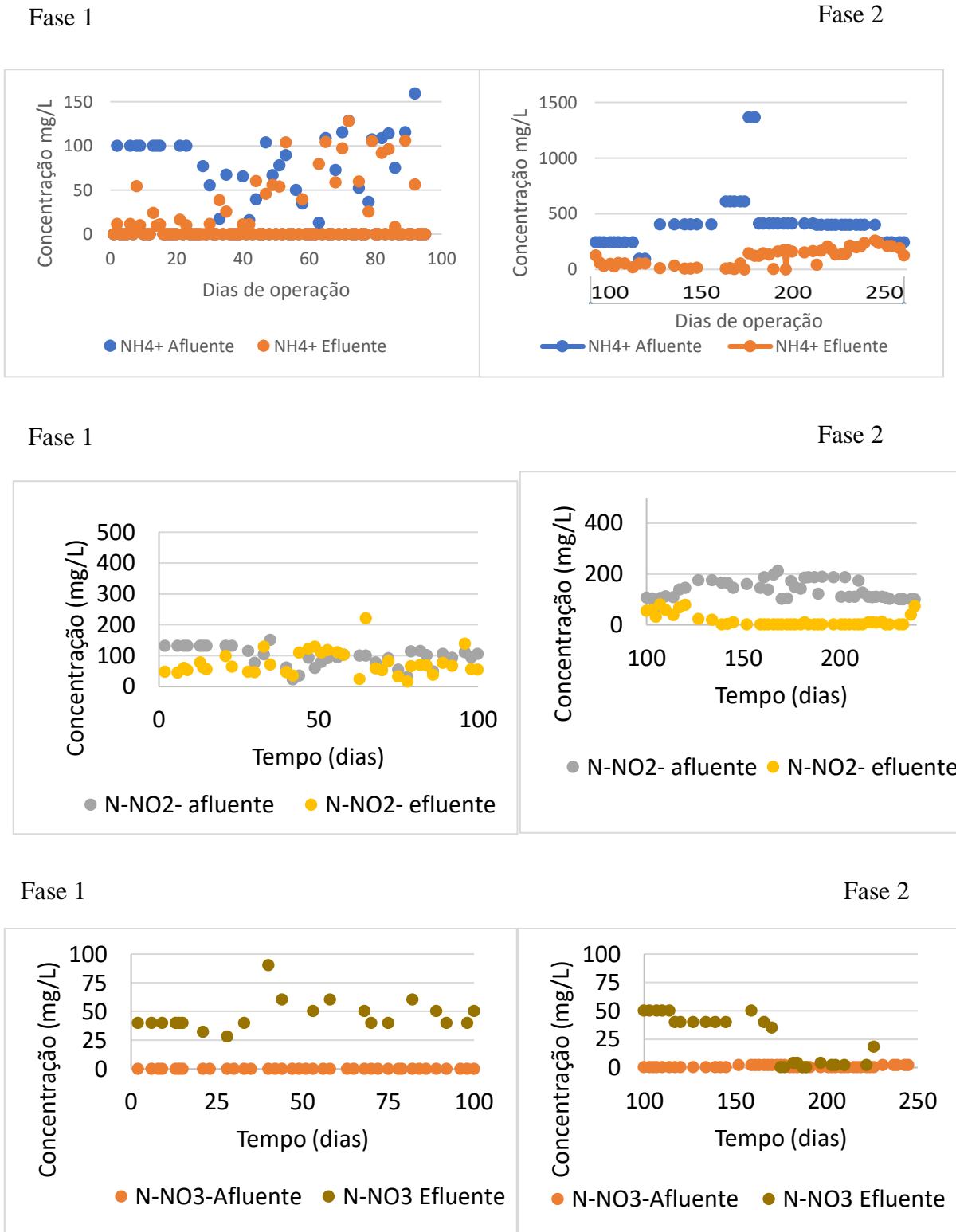
Durante a Fase 2 o reator passou a ser alimentado com digestato de resíduo alimentar (diluído quatro vezes com água) e suplementado com solução de nitrito, com concentração média igual a 134 mg/L. Durante esta fase, o reator apresentou pH médio igual a 8,06 e temperatura média igual a 25 °C (o reator era operado em condições de temperatura ambiente).

Com relação a esta fase, nos primeiros 20 dias de operação houve período de aclimação com o efluente real, uma vez que na fase anterior o reator foi alimentado com meio sintético, A partir do dia 128 até 170 aproximadamente, o reator mostrou consumo simultâneo de amônia e de nitrito, e portanto, demonstrando que houve atividade Anammox. Não obstante, posteriormente, no final do monitoramento foi observado o declínio da atividade Anammox.

A remoção de amônio foi instável até os 100 dias de operação, quando então novamente as concentrações de amônia e nitrito efluentes foram menores que as concentrações afluentes, com valores iguais a 108,06 mg/L de  $N-NH_4^+$  e 20,64 mg/L de  $N-NO_2^-$  e eficiências de remoção iguais a 73,68 e 84,65% respectivamente. Especificamente, detectou-se consumo simultâneo e elevado de amônia e de nitrito entre os dias de operação 128 a 173 com médias de eficiência de remoção de 94,94 e 88% para amônia e de nitrito, respectivamente (Figura 5.1.3-1).

Apesar da atividade Anammox ter variado neste reator ao longo das Fases 1 e 2, observou-se eficiências medianas de remoção de amônia e de nitrito de 31,29 e 31,88%, respectivamente, para a Fase 1 e para a Fase 2 de 66,97 e 99,69%, mostrando que as bactérias Anammox estavam ativas e removendo estes compostos. Na Figura 5.17, é apresentada a dinâmica dos compostos nitrogenados (amônia e nitrito) ao longo do tempo de operação deste reator.

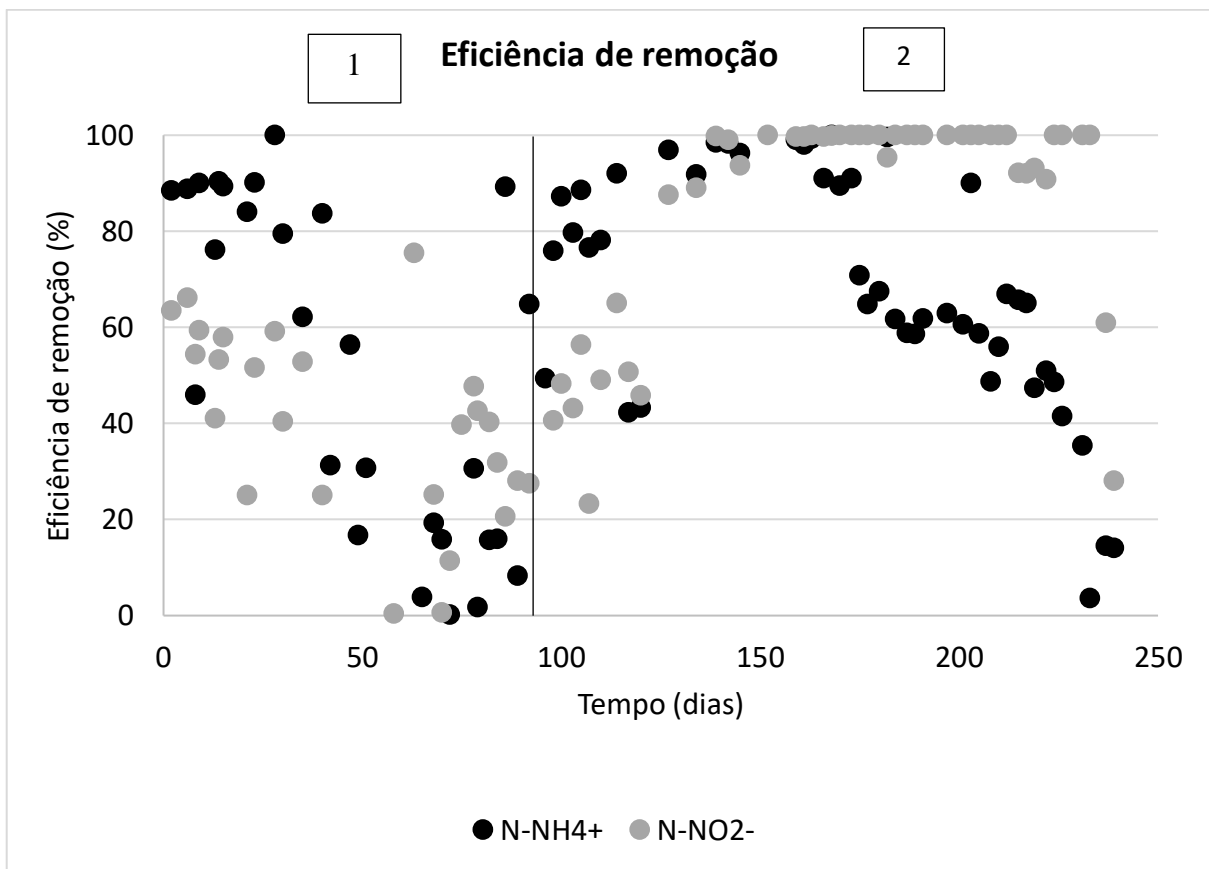
Figura 0 Dinâmica dos compostos nitrogenados no RBS-piloto nas duas fases de operação (A) e Eficiência de remoção de  $N-NH_4^+$  e  $N-NO_2$  (B).



Legenda: 1 = fase de enriquecimento e cultivo de biomassa; e 2 = fase com efluente de digestato de resíduo alimentar + nitrito. Legenda 2 = Eficiência de remoção.

Apesar de ter sido observada remoção de amônio e nitrito no reator, indicando que estava ocorrendo atividade Anammox, os coeficientes estequiométricos para o nitrito consumido/amônio consumido e nitrato produzido/amônio consumido divergiram dos reportados na literatura para a oxidação anaeróbia da amônia (1,32 e 0,26, respectivamente; Strous *et al.* 1999a), uma vez que a relação de nitrito/amônia que aplicávamos no RBS-piloto nesta fase era em torno de 0,4 e que de fato isso tudo foi consumido, visto que a estequiometria do processo Anammox não foi seguida nesta fase. (Figura 5.18).

Figura 0 Eficiência de remoção de amônio e nitrito durante a operação do RBS-piloto.



Legenda: 1 = Fase 1 de operação do RBS; e 2 = Fase 2 de operação do RBS.

Fonte: dados da pesquisa.

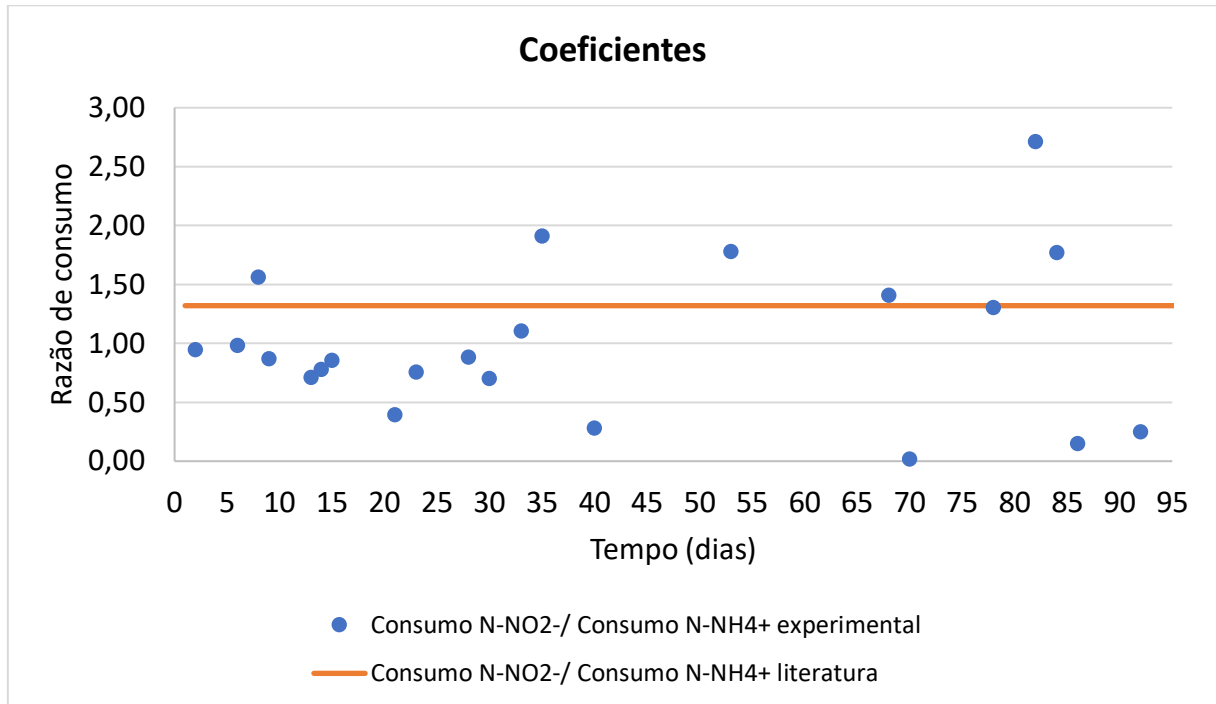
Nesta fase de operação do RBS-piloto foram obtidos coeficientes estequiométricos para produção de nitrato/consumo de amônia que ficaram relativamente abaixo do que é indicado para o processo Anammox (de 90 a 170 dias), mas depois o coeficiente foi se aproximando de 1,0, indicando que a atividade Anammox estava ocorrendo. Sendo assim, coeficientes com valores muito maiores ou menores em relação aos valores estabelecidos na literatura para o

processo Anammox são indicativos de que outros processos estejam ocorrendo. Por exemplo, coeficientes para o consumo de nitrito em relação ao consumo de amônio muito maiores que 1,32 indicam que a desnitrificação pode estar ocorrendo no sistema (TOH; ASHBOLT, 2002). Outro indicativo de que o processo de desnitrificação está ocorrendo é quando coeficientes de produção de nitrato em relação ao consumo de amônio próximos de zero são obtidos (CHAMCHOI; NITISORAVUT, 2008).

Para a Fase 1, os valores médios para o consumo de  $\text{N-NO}_2^-$  em relação ao de  $\text{N-NH}_4^+$  foi igual a 0,50 e para a produção de  $\text{N-NO}_3^-$  em relação ao consumo de  $\text{N-NH}_4^+$  igual a 0,13. Para a Fase 2, o valor mediano para o consumo de  $\text{N-NO}_2^-$  em relação ao de  $\text{N-NH}_4^+$  foi igual a 0,44 e para a produção de  $\text{N-NO}_3^-$  em relação ao consumo de  $\text{N-NH}_4^+$  igual a 0,8. Os coeficientes obtidos nas duas fases de operação, de modo geral não foram muito próximos aos relatados na literatura para reatores com atividade Anammox (1,32 para consumo de  $\text{NO}_2^-$ /consumo de  $\text{NH}_4^+$  e 0,26 para produção de  $\text{NO}_3^-$ /consumo de  $\text{NH}_4^+$ ). Uma vez que a estequiometria estabilizada para o processo Anammox, não foi igualmente alcançada. Isso indica que outros processos (como a desnitrificação, além de Anammox) aconteceram durante as duas fases de operação RBS-Lab (Figura 5.19)

Os valores medianos afluente tanto na Fase 1 quanto na Fase 2 foram de 0 mg/L de nitrato, com valores mínimos de zero e máximos de 5 mg/L.

Figura 0- Coeficientes estequiométricos obtidos na Fase 1 de operação do RBS-piloto.



Fonte: dados da pesquisa.

O RBS-piloto alcançou neste período carga de nitrogênio máxima removida igual a  $58,30 \text{ g.m}^3.\text{d}^{-1}$ , sendo que a mediana foi igual a  $19,2 \text{ g.m}^3.\text{d}^{-1}$ . Pereira (2018) conseguiu remoção de 38% do nitrogênio afluente, resultando em carga nitrogenada removida com mediana igual a  $12,2 \text{ gN.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ . Portanto, os dados do presente estudo mostraram que as estratégias adotadas nas Fases 1 e 2 foram benéficas para alcançar um incremento na remoção de nitrogênio em comparação ao que foi adotado e observado no trabalho de Pereira (2018).

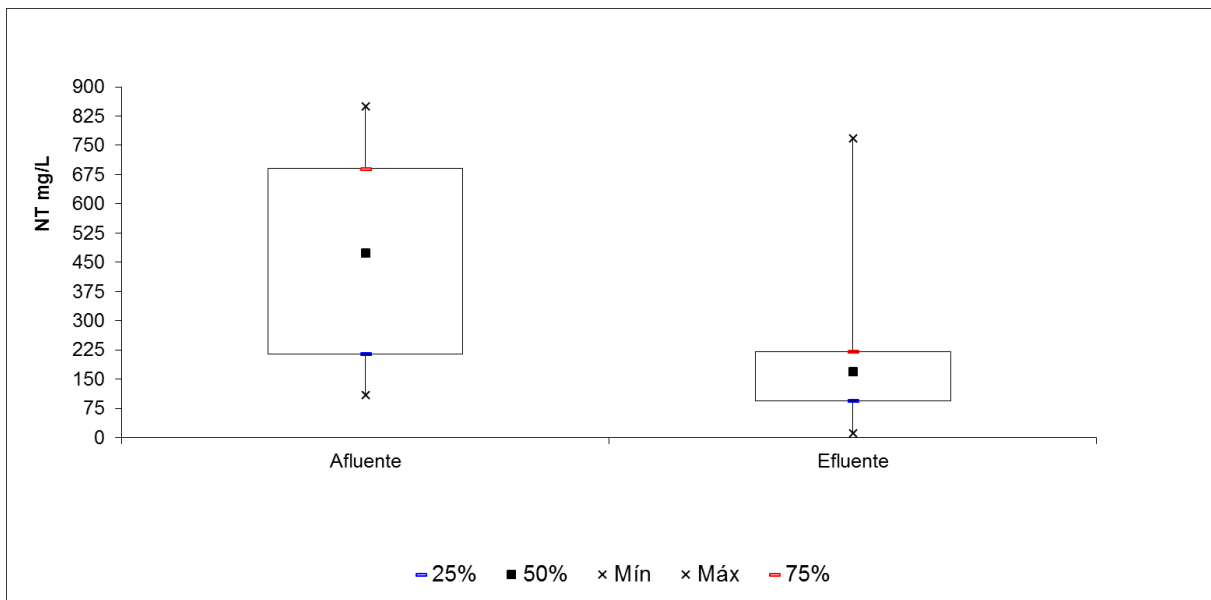
É importante destacar que são raros os estudos na literatura que tentam cultivar e enriquecer Anammox usando efluente real como foi feito no trabalho de Pereira (2018) e também no presente estudo. A maioria dos trabalhos usam efluente sintético (sem DQO e sem sólidos) para enriquecer bactérias Anammox (POLLICE *et al.*, 2002; DU *et al.*, 2017; DE COCKER *et al.*, 2018)

López *et al.* (2008) alcançou carga de nitrogênio ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_2^-$ ) removida igual a  $1.600,0 \text{ g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$  em um RBS com volume de trabalho igual a  $15,8 \text{ L}$ , também alimentado com efluentes sintético. Entretanto, ressalta-se que os reatores foram operados com TDH menores e com maiores cargas de nitrogênio aplicadas. Além disso, os autores não incluíram no cálculo a

cargade nitrato produzida durante a atividade da oxidação anaeróbia da amônia, o que provavelmente promoveria ligeira redução nos valores reportados.

Para melhor discussão dos resultados obtidos na Fase 2, os resultados para as demais análises físico-químicas do afluente e efluente serão descritos nesse item. Na Figura 5.20, pode ser observado a concentração de Ntotal (NTK+nitrato+nitrato) afluente e efluente aplicada e removida. As medianas obtidas para o afluente foram de 473,51 mg/L com valor máximo obtido de 850,92 mg/L e valor mínimo de 109,29 mg/L. Para o efluente a mediana foi de 170 mg/L com valor máximo de 767,40 mg/L e valor mínimo de 11,20 mg/L. Dessa forma, o RBS-piloto apresentou remoção média de 61,35% do N total aplicado nessa fase.

Figura 0 Concentração NT (NTK+nitrato+nitrato) afluente aplicada e efluente removida na Fase 2 de operação do RBS-piloto.

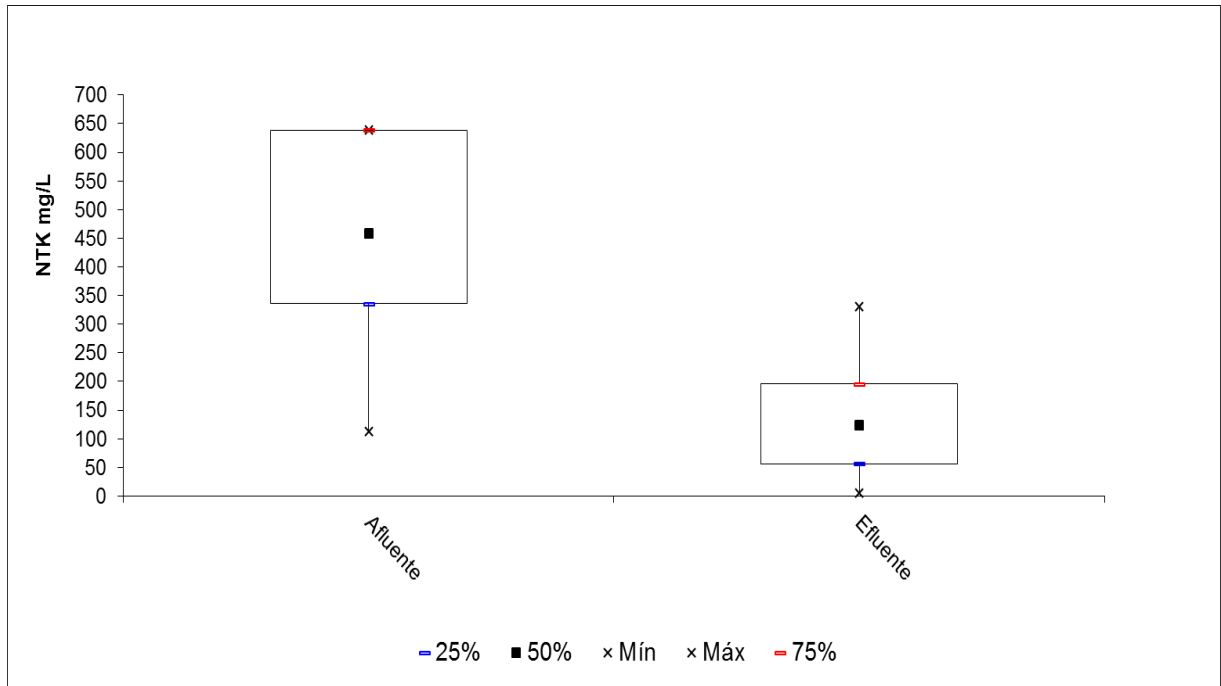


Fonte: dados da pesquisa.

Outro parâmetro analisado nesta Fase 2 foi o Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK). A mediana obtida para as amostras do afluente foi igual a 449,43 mg/L, com valor máximo de 638 mg/L e enquanto o NTK efluente apresentou mediana de 125,52 mg/L, com valor máximo de 330,40, sendo a média de remoção de 72,1%. Os resultados de NTK para as amostras afluente e efluente podem ser observados na Figura 5.21.

Figura 0 – Box plot das concentrações afluente e efluente de NTK para o RBS-piloto na Fase 2.





Fonte: dados da pesquisa.

Durante a Fase 2 (alimentação do RBS com digestato mais nitrito) foram também monitorados os parâmetros DQO total e solúvel, sólidos totais e voláteis e alcalinidade no reator.

A Figura 5.22 apresenta a estatística descritiva da DQO total afluentes e efluentes ao reator. A partir dos resultados, pode-se observar grande variação da DQO afluentes, com mínimo e máximo de 116,50 e 810,25 mg/L, respectivamente, e mediana de 384,56 mg/L. Já a DQO efluentes apresentou mediana de 206,15 mg/L, com mínimo e máximo de 0,0 e 615,67 mg/L, respectivamente. A remoção média de DQO total foi de 47%.

Apesar das elevadas concentrações de DQO aplicadas e da grande variação na concentração da DQO afluentes ao reator (pois, tratava-se de efluentes real), a eficiência de remoção de amônio não foi prejudicada. Tang *et al.* (2011) investigaram a supressão do processo Anammox quando aplicado ao tratamento de efluentes de indústria farmacêutica com concentração de DQO na faixa de 50 a 700 mg/L de DQO a 35 °C e verificaram que as bactérias Anammox foram suprimidas pelas bactérias desnitrificantes devido à competição pelo aceptor de elétrons, nitrito.

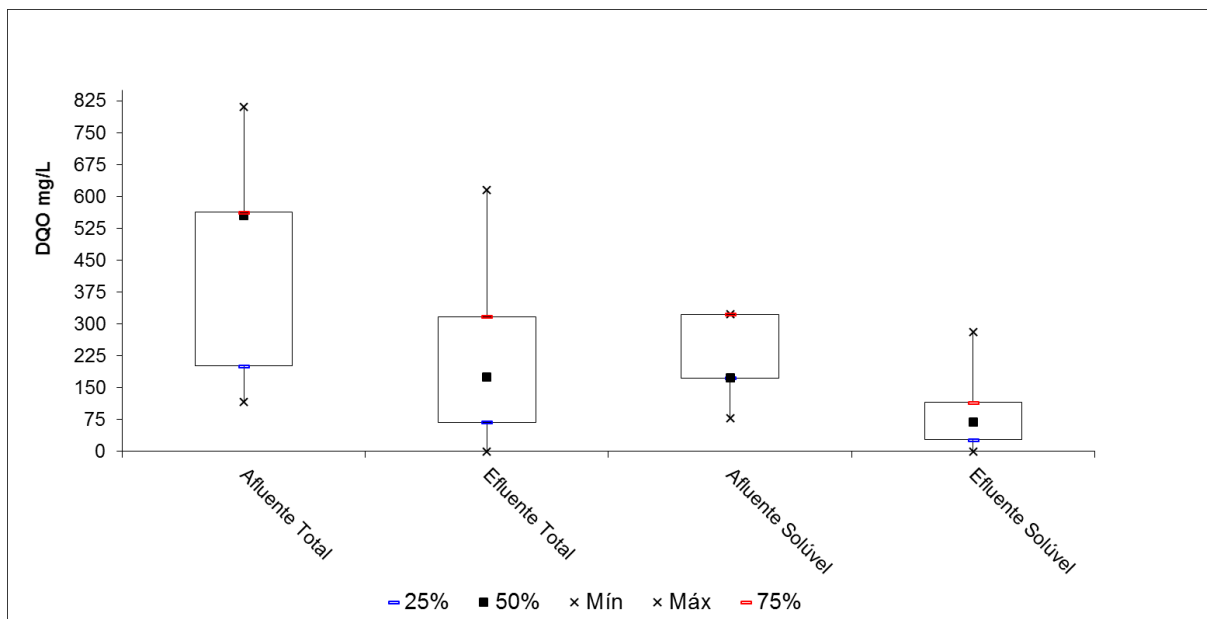
No entanto, no presente trabalho (com o reator sendo operado a temperatura ambiente, média de 25 °C) não foram observados prejuízos na remoção de amônio pelo processo Anammox

devido à presença de bactérias heterotróficas, indicando que ambas puderam coexistir. O mesmo foi concluído por Molinuevo *et al.* (2009), Oshiki *et al.* (2011), Kartal *et al.* (2012) e Leal *et al.* (2016), que ainda verificaram que a biomassa desenvolvida no reator foi capaz de remover nitrogênio e DQO simultaneamente.

Pereira (2018) obteve resultados de eficiências de remoção de matéria orgânica baixas no mesmo RBS quanto tratou o mesmo tipo de efluente (digestato de resíduo alimentar). As concentrações de DQO afluentes foram bastante variáveis, de 144,3 a 593,1 mg/L. Considerando todo o período de operação, a eficiência mediana de remoção de DQO foi igual a 21%. Entretanto, após o dia 205 de operação, as eficiências de remoção desse composto diminuíram substancialmente, atingindo valores negativos. Fato que se deveu a problemas operacionais, e função da falta de alimentação do reator, que pode ter ocasionado a morte de micro-organismos com consequentes perdas de matéria orgânica e nitrogênio com o efluente.

A matéria orgânica solúvel, fração prontamente disponível para assimilação pelos micro-organismos, apresentou variação expressiva para as amostras do afluente ao reator. Durante a Fase 2 as concentrações medianas de DQO solúvel afluente e efluente foram iguais a 220,1 e 90,6 mg/L, respectivamente (Figura 5.22).

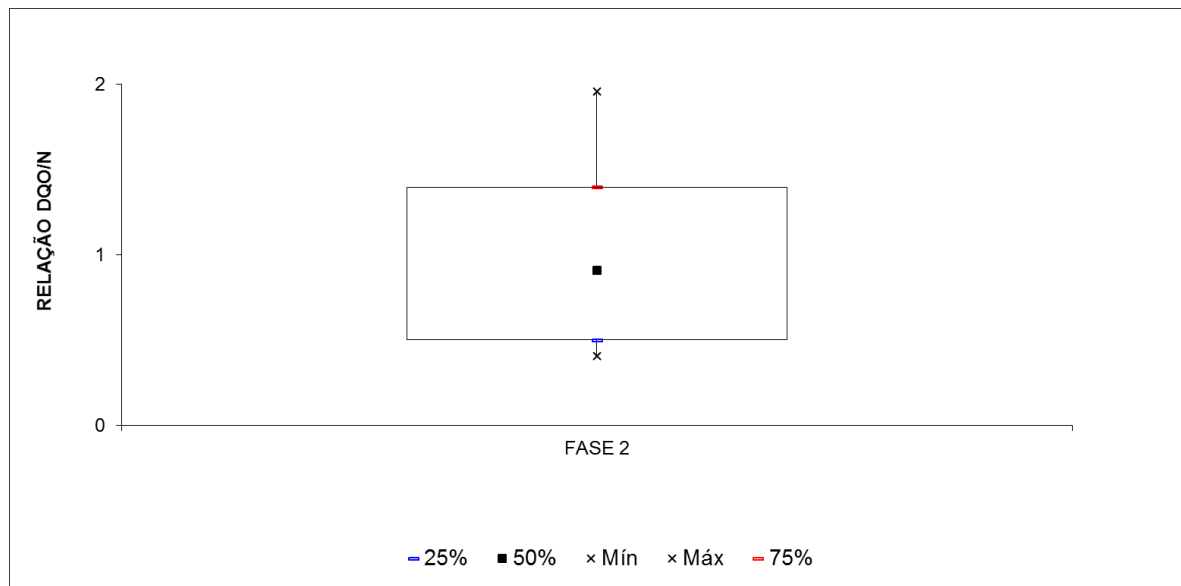
Figura 0 - Box plot da DQO total e solúvel afluente e efluente no RBS-piloto na fase 2 de operação.



Fonte: dados da pesquisa.

A relação das concentrações de DQO total/N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> média obtida nesta fase foi igual a 1,12, com mínimo de 0,46 e máximo de 1,96. Ni *et al.* (2012) reportaram um limite de DQO/N igual 3,1 para a inibição do processo Anammox, definido quando a remoção de amônio caiu para 80%. A relação DQO/N do digestato do resíduo alimentar pode ser observada na Figura 5.23

Figura 0 – Relação DQO/N obtida na Fase 2 do RBS-piloto.



Fonte: dados da pesquisa.

A série de sólidos foi analisada a fim de verificar se ocorria perda de sólidos e biomassa no RBS, assim como caracterizar a quantidade de sólidos presente no afluente. Em média, o afluente proveniente do digestato de resíduo alimentar continha 1,66 g ST/L, isso pode ser melhorado com a utilização de um sistema de polimento com maior eficiência na retenção de sólidos, além do que já é utilizado no sistema (leito constituído de tijolo, areia e brita). O RBS apresentou uma pequena remoção de sólidos, uma vez que a quantidade de sólidos no afluente apresentou média de 1,56 g ST/L e efluente média de 1,36 g ST/L. Para esta análise foram utilizadas 34 amostras ao longo da Fase 2 de operação do RBS. Na Tabela 5.5 podem ser observados os resultados medianos para as séries de sólidos.

Pereira (2018) utilizou o mesmo efluente (digestato de resíduo alimentar) com diluição de quatro vezes e obteve valores muito próximos dos obtidos no presente trabalho com mediana para sólidos totais afluente igual a 1 g/L e efluente igual a 1,50 g/L, observando-se, assim, uma perda de sólidos. O mesmo ocorreu para STV, com valores medianos afluentes de 0,45 g/L e

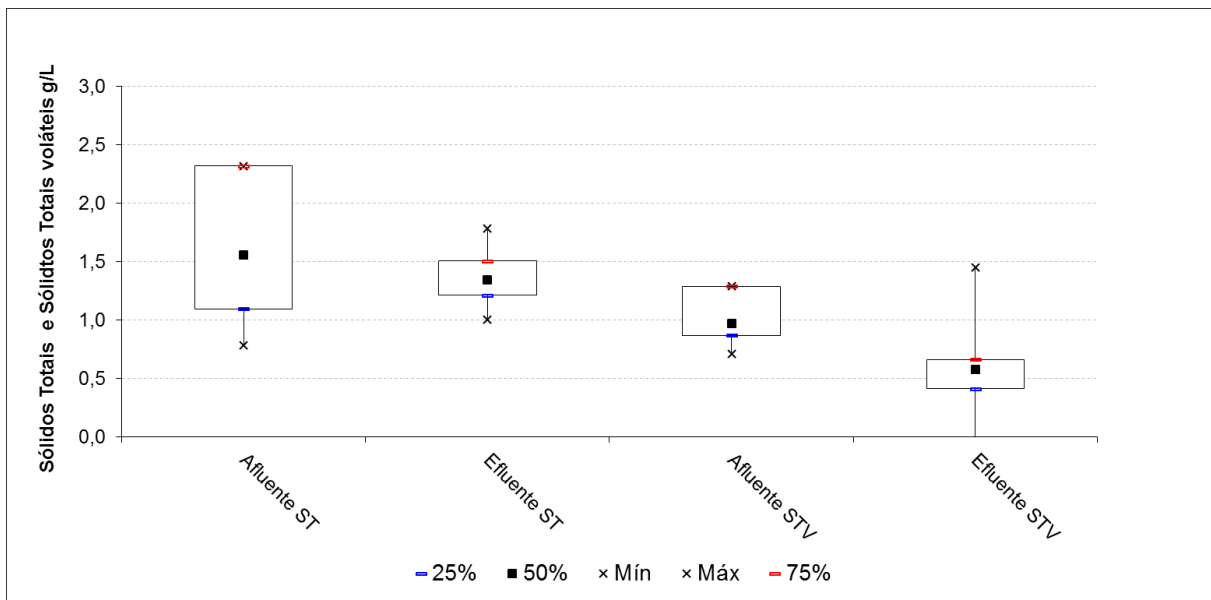
efluentes de 0,50 g/L. No estudo de Carvalho (2019) que também desenvolveu atividade Anammox a partir do mesmo tipo de efluente, porém em reator de bancada e sob condições de aeração para o desenvolvimento dos processos simultâneos de NP/Anammox, obteve valores medianos afluente para ST iguais a 1,19 g/L e para STV iguais a 0,37 g/L. Demonstrando, assim, que os resultados obtidos (Figura 5.24) no presente estudo foram próximos aos obtidos anteriormente para o mesmo efluente tratado (digestato de resíduo alimentar diluído quatro vezes).

Tabela 5.25 - Resultados medianos da série de sólidos do RBS-piloto Fase 2 para afluente com diluição de 4x.

Parâmetro	Mediana Afluente (g/L)	Mediana Efluente (g/L)
ST	1,56	1,35
STV	0,97	0,58
SST	0,22	0,11
SSV	0,19	0,10

Fonte: dados da pesquisa.

Figura 0 Box plot das concentrações afluentes e efluentes de ST e STV na Fase 2 de operação do RBS-piloto.



Fonte: dados da pesquisa.

Para a biomassa cultivada no RBS também foram realizadas análises da série de sólidos. Pode ser observado um aumento na quantidade de sólidos totais voláteis e um decréscimo de sólidos

suspensos voláteis dentro do RBS-piloto em relação a primeira amostra no início da operação com efluente real e na amostra analisada na metade do monitoramento do experimento. No estudo de Pereira (2018) foram obtidos valores superiores aos que foram obtidos neste trabalho, não sendo observadas alterações na concentração de biomassa dentro do RBS-piloto, ao longo dos 253 dias de operação, uma vez que a concentração inicial de STV no início da operação foi igual a 2,26 g/L e aos 253 dias foi semelhante, igual a 2,25 g/L (Tabela 5.6).

Tabela 5.26- Resultado das análises de sólidos para a biomassa do RBS-piloto

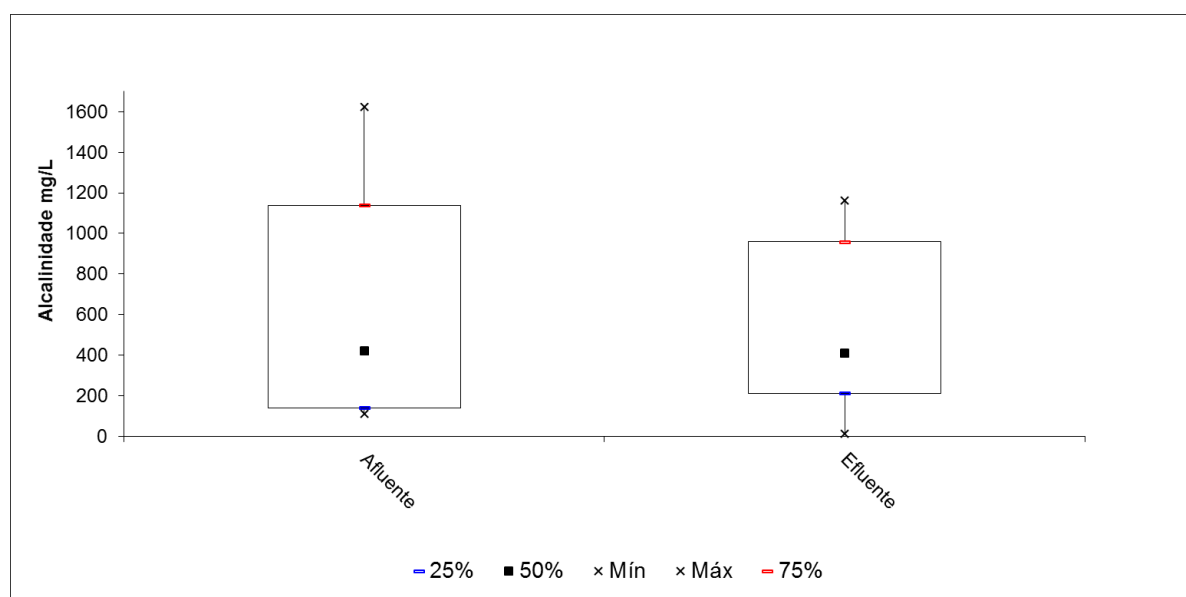
Parâmetro/Fase	STV (g/L)	SSV (g/L)
Início da operação efluente real (96 dias de operação)	1,39	1,42
Dia 163 de operação (Fase 2)	1,66	1,31

Desse modo, pode ser observado que a biomassa foi mantida e aumentada mesmo que com pequeno acréscimo (aumento de 0,27 g/L) ao longo da Fase 2. Apesar da presença de DQO e sólidos no afluente, a biomassa utilizada no sistema descrito aqui foi resistente a perturbações e problemas técnicos, mantendo sua propriedade de decantação. A concentração de STV na biomassa sofreu um ligeiro aumento, o que pode ter acontecimento por duas razões: (1) devido à adição de efluente contendo matéria orgânica ao reator, houve crescimento de micro-organismos com metabolismo heterotrófico no interior do mesmo e; (2) o próprio efluente adicionado ao reator continha certa concentração de sólidos totais voláteis que era incorporada ao RBS-piloto. Para os SSV, houve um decréscimo durante a amostragem.

Os resultados para alcalinidade das amostras afluente e efluente podem ser observados na Figura 5.25. O afluente ao reator (digestato) apresentou elevadas concentrações de alcalinidade com valor mínimo de 111,38 mg CaCO<sub>3</sub>/L máximo de 1623,6 mg CaCO<sub>3</sub>/L, com mediana de 420,75 mg CaCO<sub>3</sub>/L. O efluente do RBS-piloto apresentou valores mínimo de 14,14 mg CaCO<sub>3</sub>/L, máximo de 1.163,25 mg CaCO<sub>3</sub>/L e mediana igual 408,73 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Desta forma, demonstra-se que as concentrações afluente e efluente mantiveram-se muito próximas, assim resultando em um baixo consumo de carbono inorgânico no RBS-Piloto. No estudo de Pereira (2018), os valores medianos para alcalinidade afluente foi 668,7 mg CaCO<sub>3</sub>/L e efluente de 619,2 mg CaCO<sub>3</sub>/L, um pouco superiores aos que foram relatados neste trabalho; entretanto, também não foi observado consumo expressivo de alcalinidade

De acordo com Kosari *et al.* (2014), que utilizou um reator híbrido para Anammox de 11L, tratando uma combinação de efluente de digestão de lodo primário e resíduos de lodo, as concentrações de amônia no afluente eram de 900 a 1.000 mgN/L, com DQO igual a 150 mg/L e orto-fosfato de 70 mg P/L. A alcalinidade média era de 3.600 mg/L ( $\text{CaCO}_3$ ) e o pH médio era de 7,8. A melhor remoção de amônia foi observada no reator Anammox quando a razão nitrito amônia (afluente) era de 1,35 e 1,45; e da mesma forma, eles verificaram que a alcalinidade não controlou e nem limitou o processo Anammox.

Figura 0 Box plot das concentrações afluente e efluente de alcalinidade para o RBS-piloto na Fase 2 de operação.

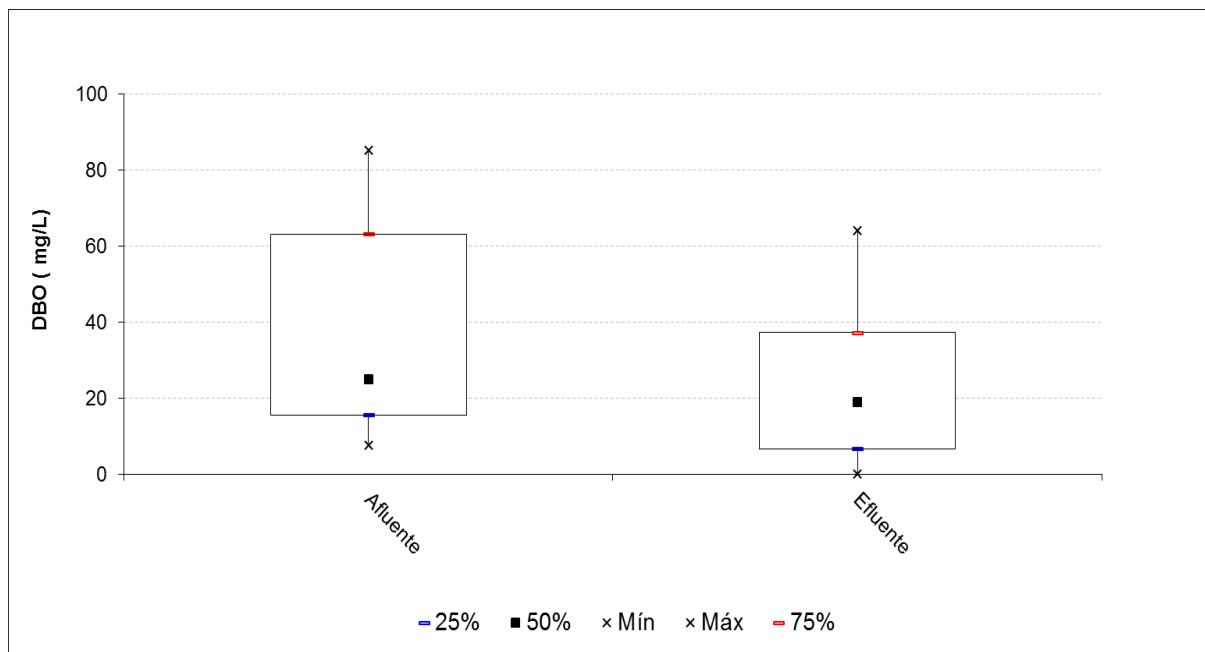


Fonte: dados da pesquisa.

As relações DQO/DBO no digestato afluente no RBS-piloto mantiveram-se na faixa de 2,6 a 16,9. As concentrações medianas da relação DQO/DBO na Fase 2 foi de 8,41. De acordo von Sperling (2005), relações DQO/DBO superiores a 4,0 indicam que a fração inerte do efluente é elevada, ou seja, apresenta baixa degradabilidade; dessa forma, é natural que efluentes pós-tratamento apresentem 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 foi pré-tratado por um digestor anaeróbio seguido de um reator UASB e filtrado em um leito de secagem.

Não obstante, nesta fase de operação do RBS, verificou-se ligeiro consumo de DBO igual a 24% com mediana afluyente igual a 24,94 mg/L e efluente igual a 18,96 mg/L (Figura 5.26).

Figura 0 – Box plot das concentrações afluyente e efluente de DBO para o RBS-piloto na Fase 2.



Fonte: dados da pesquisa.

Diante do exposto em todo este trabalho, com o monitoramento e a análise desenvolvida no RBS-piloto, verificou-se que o processo Anammox pode ser desenvolvido em RBS para tratamento de efluente real proveniente do pós-tratamento de digestato de resíduo alimentar em escala-piloto.

Ademais, visto a necessidade de melhorar e otimizar os processos de pós tratamento, é necessário continuar a realização das pesquisas que já vem sendo desenvolvidas, para que no futuro os dados de tratamento de efluentes realizadas no país mostrem melhorias e avanços na realidade das estações de tratamento de resíduos e efluentes, principalmente no país, uma vez que apresenta condições favoráveis como clima, para a utilização de tratamentos biológicos.

Por conseguinte, destaca-se a necessidade de prosseguir as pesquisas sobre o tema, uma vez que otimizar o processo de NP, o tornaria mais eficiente para ser aplicado conjugado com o processo Anammox. Assim, como as experiências desenvolvidas com a aplicação do processo

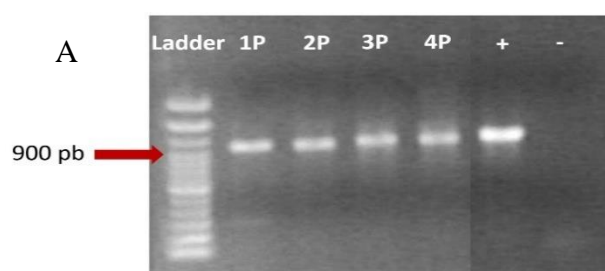
Anammox em escala-piloto demonstraram que o aumento de escala desses reatores não é tarefa fácil; entretanto, entender os obstáculos para sua aplicação em maiores escalas é de extrema importância para sua utilização em escala plena.

### 5.2.1 Detecção de bactérias do Ciclo do Nitrogênio por PCR

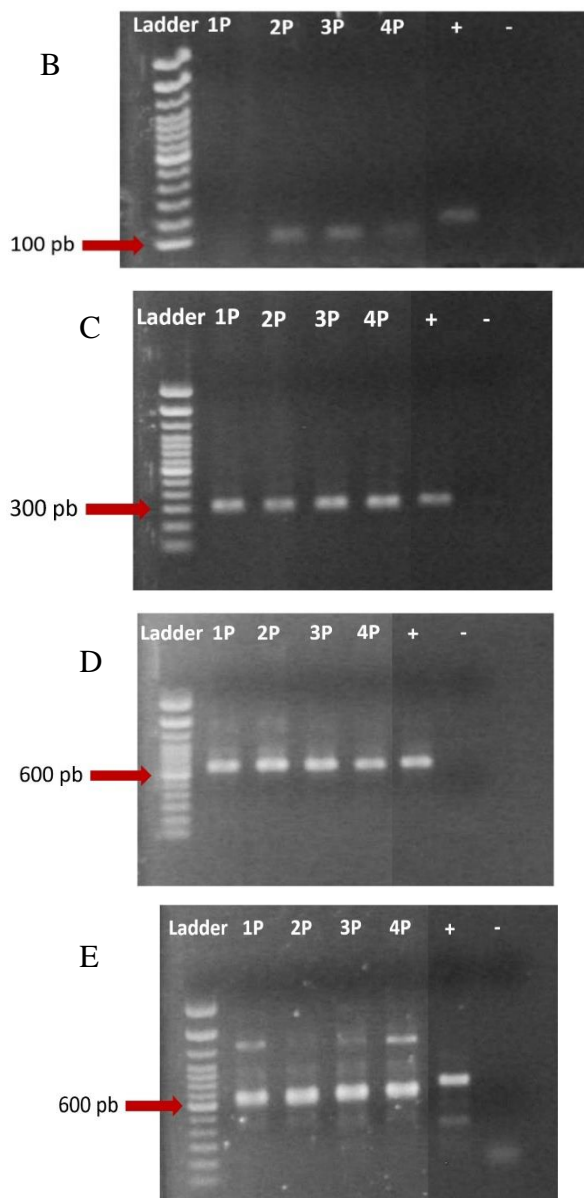
A detecção de bactérias Anammox, bactérias oxidadoras de nitrito (BON) (*Nitrospira*, *Nitrobacter*), bacterias oxidadoras de amonia (BOA) e bactérias desnitrificantes no reator foi realizado por meio da técnica de PCR convencional. Os resultados da PCR indicaram que as bactérias Anammox permaneceram no reator ao longo de todo o tempo de operação (Figura 5.27 A). Para as bactérias nitrificantes (Figura 5.27 B e C), foi possível observar a presença no sistema em todas as amostras coletadas, exceto para *Nitrospirano* dia zero de operação, que se caracteriza pelo início do experimento (Figura 5.27 B). As bactérias oxidadoras de amônia foram detectadas em todas as amostras coletadas (Figura 5.27 D), assim como a presença das bactérias desnitrificantes também foi observada em todas amostras coletadas (Figura 5.27 E).

No trabalho desenvolvido anteriormente, a presença de bactérias Anammox do gênero *Ca. Anammoximicrobium* foi detectada, porém em baixa concentração, com abundância relativa variando de 0,6% a 3,9% (PEREIRA, 2018).

Figura 5.2.1 Detecção dos micro-organismo do ciclo do nitrogênio pela PCR convencional com iniciadores para o DNAr 16S de bactérias Anammox (Pla 46f/ Amx 820r) (A), para *Nitrospira* NTSPAF/ NTSPAR – 151 pb (B), para *Nitrobacter* Nitro 1198/ Nitro 1423 – 397 pb (C). Para Oxidadoras de amônia *AmoA1R/ AmoA2R* – 491 pb (D). Para as Desnitrificantes *NosZF/NosZ* 1622R – 500 Pb(E).







Legenda: 1P = RBS-piloto 0 dias; 2P = RBS-piloto 91 dias (Fase 1); 3P = RBS-piloto 163 dias (Fase 2); 4P = RBS-piloto 243 dias (Fase 2); + Controle positivo; - Controle negativo.  
 Fonte: dados da pesquisa.

Os resultados da PCR convencional demonstraram que as bactérias Anammox permaneceram no reator ao longo de todo o tempo de operação em ambas as fases. Desse modo, pode-se verificar que a presença de matéria orgânica e demais compostos presentes no digestato de resíduo alimentar não contribuiu para a eliminação de bactérias com atividade Anammox do RBS. A PCR detectou também a presença de bactérias nitrificantes e desnitrificantes no reator, o que indica que estes micro-organismos podem ter participado dos processos de conversão e remoção dos compostos nitrogenados durante as fases de operação do RBS-piloto.

### 5.2.4 Atendimento a legislação brasileira dos parâmetros analisados

Na fase 2 de operação do RBS piloto, tratando efluente digestato mais nitrito, pode ser observada na tabela 5.7. Os valores obtidos para temperatura e pH estiveram dentro do preconizado pela legislação vigente, a DBO não alcançou a remoção de 60% com estabelecido pela legislação.

Tabela 5.7: Resumo dos parâmetros analisados de acordo com a legislação vigente.

Parâmetro	Afluente Média	Efluente Média	Resolução CONAMA Nº430/2011
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	410,43 mg/L	108,10 mg/L	Não dispõem
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	134 mg/L	20,64 mg/L	Não dispõem
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0 mg/L	25,70 mg/L	Não dispõem
pH	-	7,70	Entre 5 a 9
Temperatura	-	25 °C	Inferior a 40°C
DBO	36 mg/L	21,20 mg/L	Remoção mínima de 60%
DQO	547 mg/L	211 mg/L	Não dispõem
NTK	393 mg/L	151 mg/L	Não dispõem
Alcalinidade	750 mg/L	590 mg	Não dispõem

Fonte: Autora (2019)

Como preconizado na resolução CONAMA nº 430/2011, os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características de qualidade em desacordo com as metas obrigatórias progressivas, intermediárias e final, do seu enquadramento. Assim sendo, este efluente proveniente de digestato de resíduo alimentar não atenderia alguns padrões devido seu alto valor final e a ausência de valor limítrofe estabelecido pela legislação. Sendo assim uma opção viável para o lançamento final deste tipo de efluente seria utilizá-lo como água de diluição no processo de trituração de resíduos e alimentação do digestor anaeróbico, que compõem o sistema de tratamento utilizado na geração deste efluente.

## 6 CONCLUSÕES

É possível concluir que o objetivo geral deste trabalho, que foi desenvolver o processo de nitrificação parcial NP/Anammox em reatores com atividade Anammox para verificar a aplicabilidade deste processo na remoção de nitrogênio de efluentes anaeróbios (efluente doméstico e digestato de resíduo alimentar pré-tratados em reatores UASB), foi parcialmente alcançado. Foi possível desenvolver o processo de NP/Anammox em reator em escala laboratorial, entretanto, não foram avaliadas estratégias de aeração no RBS-piloto para o desenvolvimento dos processos simultâneos de nitrificação parcial e Anammox. Apesar disso, ressalta-se que foi possível cultivar bactérias Anammox no RBS-piloto a partir de efluente real (digestato de resíduo alimentar) e manter a atividade desses micro-organismos no reator.

Para o RBS laboratorial tratando efluente doméstico pode-se concluir que:

A atividade Anammox foi desenvolvida no reator na condição de operação com efluente sintético. Na condição de operação com efluente doméstico pré-tratado anaerobiamente suplementado com nitrito), observou-se alta remoção de nitrito (74%) e alguma remoção de amônia (cerca de 55,96%), indicando ocorrência dos processos de desnitrificação e Anammox no reator. Com relação as condições de operação de aeração intermitente, verificou-se que os valores para o coeficiente estequiométrico de nitrato produzido por amônia consumida foram maiores (na Fase 3 com taxa de ar aplicada de 0,050 L/min/Lreator) e se aproximaram na Fase 4 (vazão de 0,025 L/min/Lreator com 7 min aerado/7 min anóxico), aos valores previstos para a reação de NP/Anammox; portanto indicando que a estratégia de aeração da Fase 4 (vazão de 0,025 L/min/Lreator com 7 min aerado/7 min anóxico) é possivelmente adequada para desenvolver o processo de NP/Anammox no RBS e promover a remoção de nitrogênio do efluente doméstico de UASB (a remoção de N total na Fase 4 foi de cerca de 87,06%).

Assim, a maior taxa de aeração (0,050 L/min/Lreator) com menores tempos anóxicos apresentou uma remoção um pouco maior, mas quando a taxa de aeração foi reduzida pela metade 0,025 L/min/Lreator apresentou maior formação de nitrato. As bactérias do ciclo do nitrogênio (Anammox, BOA, BON e desnitrificantes) foram detectadas no reator em todas as etapas, indicando que estiveram envolvidas na remoção e transformação das diferentes formas de nitrogênio. O processo Anammox foi desenvolvido nesta pesquisa, mas ressalta-se que em

alguns momentos ele tenha sido instável, uma vez que os valores iniciais de finais dos compostos nitrogenados não foi alcançado como previsto pelo processo.

Com relação ao RBS-piloto pode-se concluir:

A continuação da experiência de enriquecimento de bactérias Anammox em escala-piloto (0,5 m<sup>3</sup>), a partir de lodo ativado de estação de tratamento de efluente em reator alimentado com efluente real (digestato de resíduo alimentar) foi realizada neste trabalho. Até então, no Brasil, os experimentos haviam sido realizados em escalas laboratoriais. Ao longo do período operacional deste RBS, foram alcançados resultados com grande variação de remoção de amônia e nitrito na Fase 1 de operação (efluente sintético). Não obstante, quando da alimentação com efluente real na Fase 2 (digestato de resíduo alimentar diluído quatro vezes e suplementado com nitrito); valores mais altos de remoção foram observados (remoção média de 81,9% de N<sub>total</sub> e 78% de N-orgânico, na Fase 2).

Considerando todo o período de operação, as medianas das eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub> foram iguais a 68,18 e 34%, respectivamente. Portanto, os resultados foram promissores e demonstraram que a atividade Anammox e biomassa Anammox foi desenvolvida no sistema com alimentação com efluente real (digestato de resíduo alimentar), mesmo que não sendo estável durante todo o desenvolvimento da pesquisa. Foi observado também aumento da biomassa neste RBS, ainda que em pouca quantidade, uma vez que os resultados de sólidos e análise de perfil da biomassa no RBS foram superiores aos valores encontrados no início do experimento. Foi possível detectar os micro-organismos do ciclo do nitrogênio (bactérias Anammox, bactérias nitrificantes, oxidadoras de amônia e desnitrificantes) no RBS em escala-piloto durante todo o período operacional.

Ambos os reatores apresentaram eficiências de remoção dos compostos nitrogenados em suas respectivas fases de monitoramento, os estudos com aeração e escala piloto serão mais bem desenvolvidos em estudos posteriormente a fim de melhor corroborar as melhores taxas de ar que devem ser aplicadas e assim com o desenvolvimento pleno do processo em escala piloto para tratamento de efluentes anaeróbios após tratamento.

Em relação aos trabalhos que vem sendo desenvolvidos com o processo NP/anammox e com a inovação deste trabalho pode-se concluir, também que é necessário maior tempo de análise

experimental utilizando micro-areação a fim de obter o processo de NP/anammox para pós tratamento de efluentes domésticos, assim como continuar o enriquecimento de biomassa anammox para pós-tratamento de efluentes proveniente de digestato alimentar, aumento assim a eficiência global do sistema para a remoção de nitrogênio.

## 7 RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho recomenda-se a continuação dos estudos nas seguintes linhas de pesquisa:

- Estabilizar ambos os RBS, a fim de melhor monitoramento, assim como melhorar o controle dos reatores UASB como pré-tratamento, para não ocasionar nenhum distúrbio nos processos investigados.
- Testar diferentes estratégias de aeração com maior período anóxico e menor taxa de ar aplicada para promover NP/Anammox para o pós-tratamento de efluentes anaeróbios. Assim como avaliar o desenvolvimento do processo de nitrificação parcial e Anammox no RBS em escala-piloto utilizando estratégia de aeração intermitente com maiores períodos anóxicos em relação aos períodos aerados e com menores vazões de ar aplicadas.
- Promover a nitrificação parcial de amônia no RBS-piloto através de aeração, para obter nitrito disponível para as bactérias Anammox por meio de uma oxidação parcial da amônia, com o objetivo de favorecer a aplicação em maior escala, descartando-se a necessidade de adicionar o nitrito.
- Investigar a aplicação de processos de geração de nitrito em conjunto com o processo Anammox para o tratamento de efluentes.
- Enriquecer e cultivar bactérias Anammox em reatores de maior escala, para obtenção de biomassa Anammox disponível e em quantidade suficiente para posteriormente servir como inóculo para a partida de novos reatores, facilitando desta maneira, as pesquisas realizadas futuramente e possibilitando, eventualmente, a utilização da tecnologia em escala plena no Brasil.

## REFERÊNCIAS

ABMA, W.; SCHULTZ, C.; MULDER, W. J.; LOOSDRECHT, V.; STAR, M.; STROUS, W.; TOKUMONI, T. M. The advance of Anammox. *Water*, n. 21, p. 36-37, 2007.

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

ALMASRI, M.N. Nitrate contamination of groundwater: a conceptual management framework. *Environmental Impact Assessment Review*, v. 27, n. 3, p. 220-242. 2007.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22. ed, Washington, DC, 2012.

APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20. ed. Washington: APHA, 2002.

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 bacteria enrichment and characterization from municipal activated sludge. *Water Science and Technology*, v. 64, p. 1428-1434, 2011.

AWATA, T.; OSHIKI, M.; KINDAICHI, T.; OZAKI, N.; OHASHI, A.; OKABE, S. Physiological characterization of an anaerobic ammonium-oxidizing bacterium belonging to the ‘‘Candidatus Scalindua’’. *Group. Appl. Environmental. Microbiology*.79, 4145–4148. 2013.

BARROS, C. M. C.; HO, L. T.; WINKLER, M. K. H.; VOLCKE, E. I. P. Integration of methane removal in aerobic Anammox-based granular sludge reactors. *Environmental Technology*, n.39, n. 13, p. 1615-1625, 2018.

BETTAZZI, E.; CAFFAZ, S.; VANNINI, C.; LUBELLO, C. Nitrite inhibition and intermediates effects on Anammox bacteria: A batch-scale experimental study. *Process Biochemistry*, v.45, p. 573-580, 2010.

BLACKBURNE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Demonstration of nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Water Research*, v. 42, n. 8, p. 2166-2176, 2008.

BOTHE, H.; FERGUSON, S. J.; NEWTON, W. E. *Biology of the nitrogen cycle*. 1. Ed. Elsevier, 2007. 427 p.

BRANDES, J. A.; DEVOL, A. H.; DEUTSCH, C. New developments in the marinenitrogen cycle. *Chemical. Reviews*, n. 107, p. 577-589, 2007.

BRANDSMA, J.; van de VOSSENBERG, J.; RISGAARD-PETERSEN, N.; SCHMID, M. C./ ENGSTRÖM, P.; EURENIUS, K.; HULTH, S.; JAESCHKE, A.; ABBAS, B.; HOPMANS, E. C.; STROUS, M.; SCHOUTEN, S.; JETTEN, M. S. M.; DAMSTÉ, J. S. S. A multi-proxy study

of anaerobic ammonium oxidation in marine sediments of the Gullmar Fjord, Sweden. *Environmental Microbiology Reports*, v. 3, p. 360-366, 2011.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. *Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA*. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, 2011.

CAMPOS, P. A. *Enriquecimento e caracterização de bactérias Anammox para a remoção de nitrogênio amoniacal de efluentes*. 141 f. 2011. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

CARVALHO, B. P. G. Efeitos da aeração intermitente e da temperatura no processo de nitrificação parcial/Anammox para pós-tratamento de digestato de resíduos alimentares. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - UFMG. Minas Gerais, 2019.

CHANCHOI, N.; NITISORAVUT, S.; SCHMIDT, J. E. Inactivation of Anammox communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (Anammox) and denitrification. *Bioresource Technology*, n. 99, 3331–3336. 2008.

CHANG, X.; LI, D.; LIANG, Y.; YANG, Z.; CUI, S.; LIU, T.; ZENG, H.; ZHANG, J. Performance of a completely autotrophic nitrogen removal over nitrite process for treating wastewater with different substrates at ambient temperature. *Journal of Environmental Sciences*, v. 25, n. 4, p. 688–697, 2013.

CHEN, C. J.; HUANG, X. X.; LEI, C. X.; ZHU, W. J.; CHEN, Y. X.; WU, W. X. Improving Anammox start-up with bamboo charcoal. *Chemosphere*, n. 89, p. 1224-1229, 2012.

CHEN, H. H.; LIU, S.T.; YANG, F. L.; YUAN, X.; WANG, T. The development of simultaneous partial nitrification, Anammox and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. *Bioresource Technology*, n. 100, p. 1548-1554, 2009.

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

DAPENA-MORA, A.; van HULLE, S. W. H.; CAMPOS, J. L.; MENDEZ, R.; van ROLLEGHEM, P. A.; JETTEN, M. Enrichment of Anammox biomass from municipal activated sludge: experimental and modelling results. *Journal Chemical Technology Biotechnology*, v. 79, n. 12, p. 1421-1428, 2004.

DAPENA-MORA, A.; FERNANDEZ, I. C. M.; CORRAL, J. M.; MENDEZ, A.; JETTEN, R. M. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme and Microbial Technology*, n. 40, p. 859-865, 2007.

DAVEREY, A.; CHEN, Y. C.; DUTTA, K.; HUANG, Y. T.; LIN, J. G. Start-up of simultaneous partial nitrification, Anammox and denitrification (SNAD) process in sequencing



batch biofilm reactor using novel biomass carriers. *Bioresource Technology*, v. 190, p. 480-486, 2015.

DAVEREY, A.; SU, S. H.; HUANG, Y. T.; CHEN, S. S.; SUNG, S.; LIN, J. G. Partial nitrification and Anammox process: a method for high strength optoelectronic industrial wastewater treatment. *Water Research*, n. 47, p. 2929-2937, 2013.

DE COCKER, P.; BESSIERE, Y.; HERNANDEZ-RAQUETA, G.; DUBOS, S.; MOZO, I.; GAVAL, G.; CALIGARI, M.; BARILLON, B.; VLAEMINCK, S. E.; SPERANDIOA, M. Enrichment and adaptation yield high Anammox conversion rates under low temperatures *Bioresource Technology*, n. 250, p. 505-512, 2018.

DOSTA, J.; FERNÁNDEZ, I.; VÁZQUEZ-PADÍN, J. R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MATAÁLVAREZ, J.; MÉNDEZ, R. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *Journal Hazard. Mater*, n. 154, p. 688-693, 2008.

DU, R.; SHENIN, C. BAIKUN, L. SHUYINH, W. YONGZHEN, P. Simultaneous domestic wastewater and nitrate sewage treatment by Denitrifying Ammonium Oxidation (DEAMOX) in sequencing batch reactor. *Chemosphere*, v. 174, p. 399-407, 2017.

EGLI, K.; FANGER, U.; ALVAREZ, P. J. J. J.; SIEGRIST, H.; VAN DER MEER, J. R.; ZEHNDER, A. J. B. B. Enrichment and characterization of an Anammox bacterium from arotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Archives of Microbiology*, n.175, p. 198-207, 2001.

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.

ERGAS, S. J.; REUSS, A. F. Hydrogenotrophic denitrification of drinking water using a hollow fibre membrane bioreactor. *Journal of Water Supply: Research and Technology*, n. 50, p. 161-171, 2001.

ESPOTO, M. S. *Influence of inorganic carbon and sulfur on anaerobic ammonium oxidation*. Dissertação. 2018. 42 f. (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE (FEAM). *Plano para incremento do percentual de tratamento de esgotos na Bacia Hidrográfica do Rio Paraopeba*. Belo Horizonte: FEAM, 2018. 499 p.

FERNANDES, L. A; Efeito da temperatura no processo anammox aplicado ao pós-tratamento de efluente de reator anaeróbico tratando esgoto doméstico. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

FERNANDES, L. A.; PEREIRA, A. D.; LEAL, C. D.; DAVENPORT, R.; WERNE, D.; MOTA FILHO, C. R.; RIBEIRO, B. T.; CHERNICHARO, C. A. L.; CALABIRA, J. A. 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.

FERNANDEZ, I.; VAZQUEZ-PADIN, J. R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MENDEZ, R. Biofilm and granular systems to improve Anammox biomass retention. *Biochemical Engineering Journal*, n. 42, p. 308-313, 2008.

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

FUCHSMAN, C. A.; STALEY, J. T.; OAKLEY, B. B.; KIRKPATRICK, J. B.; MURRAY, J. W. Free-living and aggregate-associated Planctomycetes in the Black Sea. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 80, p. 402-416, 2012.

FUERST, J. A.; SAGULENKO, E. Beyond the bacterium: Planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function. *Nature Reviews*, v. 9, n. 6, p. 403-413, 2011.

GAO, D. W.; TAO, Y. Versatility and application of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Appl. Microbiology. Biotechnology*, v. 91, n. 4, p. 887-894, 2011.

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; BRUNNER, F.; SCHWARTZ, T.; HORN, H.; LACKNER, S. Response of Different Nitrospira Species to Anoxic Periods Depends on Operational DO. *Environmental Science & Technology*, v. 48, n. 5, p. 2934-2941, 2014.

GIUSTINIANOVICH, E. A. L.; M. D. ESTRADA, A. J. MOSQUERA-CORRAL, A. VAL DEL RÍO, A. 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., GARCIA-RUIZ, M. J., MUÑOZ-PALAZON, B., CORTES-LORENZO, C., OSORIO, F., & VAHALA, R. Performance and bacterial community dynamics of a CANON bioreactor acclimated from high to low operational temperatures. *Chemical Engineering Journal*, v. 287, p. 557-567, 2016.

GUADIE, A. ZHANG, Z. S. ZELEKE, J. GUO, W, NGO, H. H HERMANOWICS, S. W. Effect of intermittent aeration cycle on nutrient removal and microbial community in a fluidized bed reactor-membrane bioreactor combo system. *Bioresource Technology*, v. 156, p. 195-205, 2014.

HE, S. B.; XUE, G.; WANG, B. Z. Factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND) and its kinetics model in membrane bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*, v. 168, n. 2-3, p. 704-710. 2009.

HELLINGA, C.; CHELLEN, A. A. J. C.; MULDER, J. W.; VAN-LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. The Sharon process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich wastewater. *Water Science and Technology*, v. 37, n. 9, p. 135-142, 1998.

HENDRICKX, T. L.G. KAMPMAN, C. ZEEMAN, G. TEMMINK, H. HU Z. BORAN K. BUISMAN, C. J. N. High specific activity for Anammox bacteria enriched from activated sludge at 10 °C. *Bioresource Technology*, n. 163, p. 214-221, 2014.

HOEKSTRA, M.; GEILVOET, S. P.; HENDRICKX, T. L.G. VAN ERP, T. K. C. S. KLEEREBEZEM, R. VAN LOOSDRECHT, M.C. M. Towards mainstream Anammox: lessons learned from pilot-scale research at WWTP Dokhaven. *Environmental Technology*, v.40, n. 13, p. 1721-1733, 2019.

HONG, Y. G.; LI, M.; CAO, H. L.; GU, J. D. Residence of habitat-specific Anammox bacteria in the deep-sea subsurface sediments of the South China Sea: analyses of marker gene abundance with physical chemical parameters. *Microbiology Ecology*, v. 62, p. 36-47, 2011.

HU, Z.; LOTTI, T.; VAN LOOSDRECHT, M.; KARTAL, B. Nitrogen removal with the anaerobic ammonium oxidation process. *Biotechnology Letters*, v.35, p. 1145-1154, 2013.

HU, Z.Y.; LOTTI, T.; DE KREUK, M.; KLEEREBEZEM, R.; van LOOSDRECHT, M.; KRUIT, J.; JETTEN, M. S. M.; KARTAL, B. Nitrogen removal by a nitrification-Anammox bioreactor at low temperature. *Applied Environmental Microbiology*, v. 79, p. 2807-2812, 2013.

HULTH, S. R. C.; ALLERB, D. E.; CANFIELD, T.; DALSGAARD, P.; ENGSTRFM, F.; GILBERTE, K.; SUNDBCK, B.; THAMDRUP. Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future research challenges. *Marine Chemistry*, v. 94, n. 1-4, p. 125-145, 2005.

JAROSZYNSKI, L. W.; OLESZKIEWICZ, J. A. Autotrophic ammonium removal from reject water: partial nitrification and Anammox in onereactor versus two-reactor systems. *Environmental technology*, v.6132, n. 3-4, p. 289-294, 2011.

JETTEN, M. S. M.; STROUS, M.; VAN DE PAS-SCHOONE, K. T.; SCHALK. J.; VAN DONGEN, U. G. H. M.; VAN DE GRAAF. A.; A. LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN. J. G. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 22, n. 5, p. 421-437, 1998.

JETTEN, M. S. M.; WAGNER, M.; FUERST, J. A.; VAN LOOSDRECHT, M.; KUENEN, J. G.; STROUS, M. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ("Anammox") process. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 12, p. 283-288, 2001.

JETTEN, M. S. M.; CIRPUS, I.; KARTAL, B.; VAN NIFTRIK, L.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; SLIEKERS, O.; HAAIJER, S.; VAN DER STAR, W.; SCHMID, M.; VAN DE VOSSENBERG, J.; SCHMIDT,I.; HARHANGI, H.; VAN LOOSDRECHT, M.; GIJS KUENEN, J. O. P.; DEN CAMP, H.; STROUS, M. 10 years of research on the anaerobic oxidation of ammonium. *Biochemical Society Transactions*, n. 33, p. 119-123, 2004.

JIN, R.; YANG, G. F.; ZHANG, Q.-Q.; MA, C.; YU, J.-J.; XING, B.-S. The effect of sulfide inhibition on the Anammox process. *Water Research*, n. 47, p. 1459-1469, 2013.

JOSS, A; DERLON, N; CYPRIEN, C; BURGER, S. SZIVAK, I; TRABER, J; SIEGRIST, H; MORGENROTH, E. Combined NitritationAnammox: Advances in Understanding Process Stability. *Environmental Science & Technology*, n 45, p. 9735–9742. 2011.

KARTAL, B.; KUYPERS, M. M. M.; LAVIK, G.; SCHALK, J.; DEN CAMP, H.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. *Environmental Microbiology*, n. 9, p.635-642, 2007.

KARTAL, B.; VAN NIFTRIK, L.; KELTJENS, J. T.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M. Anammox-growth physiology, cell biology and metabolism. *Microbial Physiology*, vol. 60, p. 211–262, 2012.

KHRAMENKOVA, S. V.; KOZLOVA, M. N.; KEVBRINAA, M. V.; DOROFEEVA, A. G.; KAZAKOVAA, E. A.; GRACHEVA, V. A.; KUZNETSOVB, B. B.; POLYAKOV, D. Y.; NIKOLAEVA, Y. A. A novel bacterium carrying out anaerobic ammonium oxidation in a reactor for biological treatment of the filtrate of wastewater fermented sludge. *Microbiology*, v.82, p. 628-636, 2013.

KINDAICHI, T.; TSUSHIMA, I.; OGASAWARA, Y.; SHIMOKAWA, M.; OZAKI, N.; SATOH, H.; OKABE, S. In situ activity and spatial organization of anaerobic ammoniumoxidizing (Anammox) bacteria in biofilms. *Appl. Environmental. Microbiology*, n.73, p. 4931-4939, 2007.

KIVAIISI, A. K. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. *Ecological Enginnering*. v.16, p. 545-560, 2001.

KOSARI, S. F.; LO, K. V.; MANINICA, D. S. Operational strategy for nitrogen removal from centrate in a two-stage partial nitrification–Anammox process. *Environmental Technology*, v.35, v, 9, p. 1110-1120, 2014.

KUMAR, M.; LIN, J. G. Co-existence of Anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal – Strategies and issues. *Journal of Hazardous Materials*, n. 178. p. 1-9, 2010.

KUYPERS, M. M. M.; SLIEKERS, A. O.; LAVIK, G.; SCHMID, M.; JORGENSEN, B.; KUENEN, J. G.; DAMSTÉ, J. S. S.; STROUS, M.; JETTEN, M. S. M. Anaerobic ammonium oxidation by Anammox bacteria in the Black Sea. *Nature*, v. 422, p. 608-611, 2003.

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. *WaterResource*. v. 55, p. 292–303, 2014.

LARA, B. S. *Avaliação e comparação de diferentes estratégias para o enriquecimento de bactérias Anammox*. 2009. 108 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

LEAL, D. C. *Avaliação do efeito de diferentes relações DQO/N sobre o processo Anammox e viabilidade da aplicação do processo como pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico*. 142 f. 2015. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

LEAL, D. C.; PEREIRA, A. D.; NUNES, F. T. et al. 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.; CHEN, S.; MU, B. Z.; GU, J. D. Molecular detection of anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria in high-temperature petroleum reservoirs. *Microbiology Ecology*, v. 60, p. 771-783, 2010.

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

LINDSAY, M. R.; WEBB, R. I.; STROUS, M.; JETTEN, M. S.; BUTLER, M. K.; FORDE, R. J.; FUERST, J. A. Cell compartmentalisation in planctomycetes: novel types of structural organization for the bacterial cell. *Archives of microbiology*, v. 175, n. 6, p. 413-29, 2001.

LIU, S.; GONG, Z.; YANG, F.; ZHANG, H.; SHI, L.; FURUKAWA, K. Combined process of urea nitrogen removal in anaerobic Anammox co-culture reactor. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 6, p.1722–1728, 2008.

LONG, A.; HEITMAN, J.; TOBIAS, C.; PHILIPS, R.; SONG, B. Co-occurring Anammox, denitrification, and codenitrification in agricultural soils. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 79, p. 168-176, 2013.

LOTTI, R. KLEEREBEZEM, Z. HU, B. KARTAL, M.K. DE KREUK, C. VAN ERP TAALMAN KIP, J. KRUIT, T.L.G. HENDRICKX & M.C.M. VAN LOOSDRECHT Pilot-scale evaluation of Anammox based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater, *Environmental Technology*, n 36:9, p. 1167-1177. 2014.

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, 2014.

MA, B.; BAO, P.; WEI, P.; 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. *Scientific Reports*, v. 5, 13048, 2015.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. *Microbiologia de Brock*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1128 p.

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.

MARCHESINI, F. A.; PICARD, N.; MIRÓ, E. E. Study of the interactions of Pd,In with SiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mixed supports as catalysts for the hydrogenation of nitrates in water. *Catalysis Communications*, v. 21, p. 9-13, 2012.

MENEGON, G. C.; AUGUSTO, M. R.; ZAIAT, M.; SOUZA, O. S.T. Efeito da diluição de lixiviado de aterro sanitário no desenvolvimento de biomassa Anammox. In: Anais do Congresso ABES/FENASAN, 2017.

MIAO, Y.; ZHANG, L.; YANG, Y. 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.

MOLINUEVO, B.; GARCÍA, M. C.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Anammox for ammonium removal from pig manure effluents: effect of matter organic content on process performance. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 7, p. 2171-2175, 2009.

MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A. A.; ROBERTSON, L. A. E.; KUENEN, J. G. Oxidação de amônio anaeróbico descoberto em um reator de leito fluidizado desnitrificante. *FEMS Microbiology Ecology*, n. 16, p. 177-184, 1995.

NETO, I. F. F. Estudo dos processos de nitrificação e desnitrificação numa Estação de Tratamento de Águas Residuais. 2011. 145 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

NI, S. Q.; NI, J.Y.; HU, D.L.; SUNG, S.; Effect of organic compound on the performance of granular Anammox process. *Bioresource Technology*. n 110, p. 701–705. 2012.

NI, S. Q.; ZHANG, J. Anaerobic ammonium oxidation: from laboratory to full-scale application. *BioMedical Research International*, v. 2013, p. 1-11, 2013.

NIKOLAEV, YU. A.; KOZLOV, M. N.; KEVBRINA, M. V.; DOROFEEV, A. G.; PIMENOV, N. V.; KALLISTOVA, A. YU.; GRACHEV, V. A.; KAZAKOVA, E. A.; ZHARKOV, A. V.; KUZNETSOV, B. B.; PATUTINA, E. O.; BUMAZHKIN, B. K. Candidatus “*Jettenia moscovienalis*” sp. nov., a new species of bacteria carrying out Anaerobic Ammonium oxidation. *Microbiology*, v. 84, n. 2, p. 256-262, 2015.

NOVOTNY, V. *Water quality: Diffuse pollution and watershed management*. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2003.

OSHIKI, M.; AWATA, T.; KINDAICHI, T.; SATOH, H.; OKABE, S. Cultivation of planktonic anaerobic ammonium oxidation (Anammox) bacteria. *Microbes Environmental.*, v. 28, n.4, p. 436-443, 2013.

OSHIKI, M.; SHIMOKAWA, M.; FUJII, N.; SATOH, H.; OKABE, S. Physiological characteristics of the anaerobic ammonium-oxidizing bacteria 'Candidatus Brocadia sinica'. *Microbiology*, v. 157, p. 1706-1713, 2011.

PAQUES. *Leading in biological*. Wastewater and gas treatment. Disponível em: <https://br.paques.nl/produtos/featured/Anammox-remocao-de-amoniaremocao-de-nitrogenio>. Acesso em: 10 mai. 2019.

PENG, Y.; JLANLONG, W.; SHUYINH, W.; YOUNGQINH, G. Nitrogen removal by simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in sequence hybrid biological reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, n. 16, p. 778-784, 2004.

PEREIRA, A. D. *Caracterização microbiana e avaliação do efeito do fenol em um reator em batelada sequencial com atividade Anammox*. 2013. 128 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

PEREIRA, A. D. *Reatores com atividade Anammox para o pós-tratamento de digestato de resíduo alimentar [manuscrito]: avaliação de diferentes estratégias de aeração e da comunidade microbiana*. 2018. 246 f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

POLLICE, A.; TANDOI, V.; LESTINGI, C. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate. *Water Research*, v. 36, n. 10, p. 2541-2546, 2002.

QIAO, S.; KAWAKUBO, Y.; CHENG, Y.; NISHIYAMA, T.; FUJII, T.; FURUKAWA, K. Identification of bacteria coexisting with Anammox bacteria in an upflow column type reactor. *Biodegradation*, v. 20, p. 117-124, 2009.

RAHMAN, M. S.; ENCARNACION, G.; CAMPER, A. K. Nitrification and potential control mechanisms in simulated premises plumbing. *Water Research*, v. 45, n. 17, p. 5511-5522, 2011.

RAUDKIVI, M.; ZEKKER, I.; RIKMANN, E.; VABAMAE, P.; KROON, K.; TENNO, T. Nitrite inhibition and limitation-the effect of nitrite spiking on Anammox biofilm, suspended and granular biomass. *Water Science. Technology*, v. 75, p. 313-321, 2017.

RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, R. R. M. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2016.

ROTTHAUWE, 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.

SÁNCHEZ-GUILLÉN, J. A.; YIMMAN, Y.; LOPEZ VAZQUEZ, C. M.; BRDJANOVIC, D.; VAN LIER, J. B. Effects of organic carbon source, chemical oxygen demand/N ratio and temperature on autotrophic nitrogen removal. *Water Science Technology*, n. 69, p. 2079-2084, 2014.

SCHIMDELL, W.; SOARES, H. M.; ETCHEBEHERE, C.; MENES, R. J.; BERTOLA, N. C.; CONTRERAS, E. M. Tratamento biológico de águas residuárias. Florianópolis: [s.n.], 2007. 720 p. Comissão editorial: Universidade Federal de Santa Catarina, Universidad de la Republica - Uruguay, CIDCA/CONICET-UNLP.

SCHMID, M.; TWACHTMANN, U.; KLEIN, M.; STROUS, M.; JURETSCHKO, S.; JETTEN, M. S. M.; METZGER, J. W.; SCHLEIFER, K. H.; WAGNER, M. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Systematic Applied Microbiology* v. 23, p. 93– 106, 2000.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; CIRPUS, I.; STROUS, M.; BOCK, E.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria competitors or natural partners? *FEMS Microbiology Letters. Ecol.*, v. 39, p. 175-181, 2002.

SEYFRIED, C. F.; HIPPEN, A.; HELMER, C.; KUNST, S.; ROSENWINKEL, K.-H. One-stage deammonification: Nitrogen elimination at low costs. *Water Science and Technology: Water Supply*, v.1, n. 1, p. 71-80, 2001.

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 singlereactor. *Water Research*, n. 36, p. 2475-2482, 2002.

SRI SHALINI, S.; JOSEPH, K. Start-up of the SHARON and ANAMMOX process in landfill bioreactors using aerobic and anaerobic ammonium oxidising biomass. *Bioresource Technology*, v. 149, p.474–485, 2013.

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

STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, v.49, p.236-244, 1999a.

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., 1999a. Missing lithotrophic identified as new planctomycete. *Nature* n°400, p.446–449. 1999b.

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 Biotechnology*, n. 50, p. 589-596, 1998.

STROUS, M.; PELLETIER, E.; MANGENOT, S.; RATTEI, T.; LEHNER, A.; TAYLOR, M. W.; HORN, M.; DAIMS, H.; BARTOL-MAVEL, D.; WINCKER, P.; BARBE, V.; FONKNECHTEN, N.; VALLENET, D.; SEGURENS, B.; SCHENOWITZ-TRUONG, C.; MÉDIGUE, C.; COLLINGRO, A.; SNEL, B.; DUTILH, B. E. Deciphering the evolution and metabolism of an Anammox bacterium from a community genome. *Nature*, v. 440, n. 7085, p.790-794, 2006.

TANG, C. J.; ZHENG, P.; CHEN, T. T.; ZHANG, J. Q.; MAHMOOD, Q.; DING, S. A.; CHEN, X. G.; CHEN, J. W.; WU, D. T. Enhanced nitrogen removal from pharmaceutical wastewater using SBA-ANAMMOX process. *Water Research*, v. 45, n. 1, p. 201-210, 2011.



TOH, S. K.; ASHBOLT, N. J. Adaptation of anaerobic ammonium-oxidising consortium to synthetic coke-ovens wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 59, n. 2-3, p.344-352, 2002.

TSUSHIMA, I.; KINDAICHI, T.; OKABE, S. Quantification of anaerobic ammonium oxidizing bacteria in enrichment cultures by real-time PCR. *Water Resource*, n. 41, p. 785-794, 2007

VAN DE GRAAF A. A.; BRUIJN P.; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G. Autotrophic growth anaerobic ammonium-oxidation microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*, v. 142, n. 8, p. 2187-2196, 1996.

VAN DE VOSSENBERG, J.; WOEBKEN, D.; MAALCKE, W. J.; WESSELS, H. J. C. T.; DUTILH, B. E.; KARTAL, B.; JANSSEN-MEGENS, E. M.; ROESELERS, G.; YAN, J.; SPETH, D.; GLOERICH, J.; GEERTS, W.; VAN DER BIEZEN, E.; PLUK, W.; FRANCOIS, K. J.; RUSS, L.; LAM, P.; MALFATTI, S. A.; TRINGE, S. G.; HAAIJER, S. C. M.; OP DEN CAMP, H. J. M.; STUNNENBERG, H. G.; AMANN, R.; KUYPERS, M. M. M.; JETTEN, M. S. M. The metagenome of the marine Anammox bacterium 'Candidatus Scalindua profunda' illustrates the versatility of this globally important nitrogen cycle bacterium. *Environmental Microbiology*, v. 15, p. 1275-1289, 2013.

VAN DER STAR, W. R. L.; ABMA, W. R.; BLOMMERS, D.; MULDER, J.-W.; 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 Resource*. v. 41, p. 4149-4163, 2007.

VAN DER STAR, W. R. L.; MICLEA, A. I.; van DONGEN, U. G. J. M.; MUYZER, G.; PICIOREANU, C.; van LOOSDRECHT, M. C. M. The membrane bioreactor: a novel tool to grow Anammox bacteria as free cells. *Biotechnology. Bioengineering*, n. 101, p. 286-294, 2008.

VAN DONGEN, U.; JETTEN, M. S. M.; van LOOSDRECHT, M. C. M. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*, v. 44, p. 153-160, 2001.

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

VANOTTI, M. B.; SZOGI, A. A.; HUNT, P. G.; ELLISON, A. Q.; MILLNER, P. D.; HUMENIK, F. J. Development of an environmentally superior treatment system for replacing anaerobic swine waste lagoons. In: WATER ENVIRONMENT FEDERATION TECHNICAL EXHIBITION AND CONFERENCE (Weftec), October 29 - November 2, 2005, Washington, DC, 2005.

VEYS, P.; VANDEWEYER, H.; AUDENAERT, W.; MONBALLIU, A.; DEJANS, P.; JOOKEN, E.; DUMOULIN, A.; MEESCHAERT, B.; VAN HULLE, S. Performance analysis and optimization of autotrophic nitrogen removal in different reactor configurations: a modeling study. *Environmental Technology*, v. 31, n. 12, p. 1311-1324, 2010.

VLAEMINCK, S. E.; DE CLIPPELEIR, H.; VERSTRAETE, W. Microbial resource management of one-stage partial nitrification/Anammox. *Microbiology. Biotechnology*, n. 5, p.433-448, 2012.

VOLCKE, E. I. P.; VANROLLEGHEM, P.; van LOOSDRECHT, M. C. M. Modelling, analysis and control of partial nitrification in a SHARON reactor. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, p. 77-84, 2006.

VON SPERLIN, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3a ed. Belo Horizonte: DESA, UFMG, 2005.

VON SPERLING, M. *Estudos de modelagem da qualidade da água de rios*. 1. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2007. 243 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, 7).

WANG, G.; XU, X. C.; GONG, Z.; GAO, F.; YANG, F. L.; ZHANG, H. M. Study of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in an intermittent aeration membrane bioreactor. *Process Biochemical*, v. 51, n. 5, p. 632-641, 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*, v. 40, n. 1, 2017.

WANTAWIN, K. N.; PONGSAK, C. N. Anammox bacteria with attached-growth media for nitrogen removal in wastewater. *Clean Technologies and Environmental Policy*, n. 20, p. 1458-1467, 2008.

WEN, X.; ZHOU, J.; LI, Y.; QING, X.; HE, Q. A novel process combining simultaneous partial nitrification, Anammox and denitrification (SNAD) with denitrifying phosphorus removal (DPR) to treat sewage. *Bioresource technology*, v. 222, p. 309-316, 2016.

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.

WIESMANN, U.; CHOI, I. S.; DOMBROWSKI, E. M. *Fundamentals of biological wastewater treatment*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2007. 355 p.

WINKLER, M. K. H.; YANG, J.; KLEEREBEZEM, R.; PLAZA, E.; TRELA, J.; HULTMAN, B.; VAN LOOSDRECHT, M. C. Nitrate reduction by organotrophic Anammox bacteria in a nitrification/Anammox granular sludge and a moving bed biofilm reactor. *Bioresource Technology*, n. 114, p. 217-223, 2012.

WOEBKEN, D.; LAM, P.; KUYPERS, M. M. M.; NAQVI, W. A.; KARTAL, B.; STROUS, M.; JETTEN, M. S. M.; FUCHS, B. M.; AMANN, R. A microdiversity study of Anammox bacteria reveals a novel Candidatus Scalindua phylotype in marine oxygen minimum zones. *Environmental Microbiology*, v. 10, p. 3106-3119, 2008.

XU, F. X.; HAN, Y. N.; LIY, F. X.; YAN, Z.; LIU, Z. J. Nitrogen removal via a single-stage PN– Anammox process in a novel combined biofilm reactor. *Water Science Technology*, n. 77, p. 1483-1492, 2017.

YANG, J. Intermittent aeration in one-stage partial nitrification/Anammox process. *Ecological Engineering*, v. 75, p. 413-420, 2015.

YANG, S.; YANG, F. Nitrogen removal via short-cut simultaneous nitrification and denitrification in an intermittently aerated moving bed membrane bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*, v. 195, p. 318-323, 2011.

YUAN, X.; GAO, D. Effect of dissolved oxygen on nitrogen removal and process control in aerobic granular sludge reactor. *Journal of Hazardous Materials*, v. 178, p. 1041-1045, 2010.

ZENATTI, D. C.; GOMES, S. D.; FAZOLO, A.; CONSTANZI R. N.; HASAN, S. D. M.; GENTELINI, A. Nitrificação de efluente de abatedouro de tilápia em função da aeração e tempo de reação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 13, n. 6, p. 750-754, 2009.

ZHANG, F. Z. 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, 2017.

ZHANG, L.; JIANG J.; YANG, J.; HIRA, D.; FURUKAWA, K. High rate nitrogen removal by the CANON process at ambient temperature. *Water Science & Technology*, v. 65, n. 10, p.1826, 2012.

ZHANG, Z. Z.; CHENG, Y. F.; ZHU, B. Q.; LIU, Y. Y.; ZHANG, Q.; JIN, R. C. Achieving completely anaerobic ammonium removal over nitrite (CAARON) in one single UASB reactor: Synchronous and asynchronous feeding regimes of organic carbon make a difference. *Science of the Total Environment*, n. 653 p. 342-350, 2019.

ZHANG, Z.; CHEN, S.; WU, P.; LIN, L.; LUO, H. Start-up of the Canon process from activated sludge under salt stress in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR). *Bioresource Technology*, v.0101, p. 6309-6314, 2010.

ZHU, G.; PENG, Y.; LI, B.; GUO, J.; YANG, Q.; WANG, S. Biological removal of nitrogen from wastewater. *Reviews of Environmental Contamination Toxicology*, n. 192, p. 159-195, 2008.

ZIELINSKA, M.; BERNAT, K.; CYDZIK-KWIATKOWSKA, A.; SOBOLEWSKA, J.; WOJNOWSKA-BARYLA, I. Nitrogen removal from wastewater and bacterial diversity in activated sludge at different COD/N ratios and dissolved oxygen concentrations. *Journal of Environmental Sciences*, v. 24, n. 6, p. 990-998, 2012.

ZOPPAS, F. M. *Estudo da remoção de nitrogênio em efluentes por nitrificação e desnitrificação simultânea*. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

## APÊNDICE A - Estatística descritiva dos compostos nitrogenados durante as Fases 1, 2, 3 e 4 de operação do RBS-Lab.

**Tabela A1** – Estatística descritiva das concentrações e eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no RBS-Lab durante a Fase 1 de operação.

	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %	Afluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Efluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Eficiência de remoção
N de dados	39	39	39	39	39	39
Média	51,06	26,06	39,24	52,85	8,46	81,40
Mediana	49,26	25,61	40,79	42,90	6,20	91,87
Mínimo	18,11	0,00	0,00	21,09	0,00	15,29
Máximo	103,68	58,02	100,00	118,00	36,34	100,00

**Tabela A2** – Estatística descritiva das concentrações e eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no RBS-Lab durante a Fase 2 de operação.

	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %	Afluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Efluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Eficiência de remoção %
N de dados	61	61	61	61	61	61
Média	29,87	13,46	59,40	65,1	57,1	57,0
Mediana	32,16	14,74	54,91	50,24	0,84	98,23
Mínimo	23,23	-1,44	0,00	39,70	0,00	0,00
Máximo	35,25	34,05	104,22	70,00	99,70	101,10

**Tabela A3** – Estatística descritiva das concentrações e eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no RBS-Lab durante a Fase 3 e 4 de operação.

	Fase 3			Fase 4		
	Aeração 0,050 L min/Lreator			Aeração 0,050 L mim/Lreator		
	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %
Nº de dados	21	21	21	23	23	23
Média	38,40	7,21	81,48	53,66	19,49	62,41
Mediana	35,25	4,56	87,06	55,50	16,83	69,68
Mínimo	35,25	0,00	38,55	48,46	1,62	0,80
Máximo	48,46	21,66	100,00	55,50	48,07	97,08

## APÊNDICE B - Estatística descritiva dos compostos nitrogenados durante as Fases 1 e 2 de operação do RBS-Piloto.

Tabela A1 – Estatística descritiva das concentrações e eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no RBS-piloto durante a Fase 1 de operação.

	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %	Afluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Efluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Eficiência de remoção %
Nº de dados	35	35	35	35	35	35
Média	81,83	46,46	45,89	96,02	74,59	29,74
Mediana	100	39,12	31,29	99,83	65,18	27,99
Mínimo	12,87	0,00	0,00	22,92	15,96	0,00
Máximo	159,00	128,06	137,30	151,00	221,07	75,45

Tabela A2 – Estatística descritiva das concentrações e eficiências de remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no RBS-piloto durante a Fase 2 de operação.

	Afluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Efluente NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	Eficiência de remoção %	Afluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Efluente NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	Eficiência de remoção %
Nº de dados	50	50	50	50	50	50
Média	410,43	108,10	68,18	134,49	20,64	81,61
Mediana	401,71	124,45	66,36	116,60	0,50	99,70
Mínimo	93,48	0,00	3,58	71,61	0,00	0,00
Máximo	1364,10	259,59	100,55	210,52	138,99	100,00