



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo

ROSANA OLIVEIRA MENEZES

**A INFLUÊNCIA DA RECIRCULAÇÃO NO PROCESSO
ANAMMOX EM UM FILTRO BIOLÓGICO
PERCOLADOR UTILIZANDO ESPUMAS DE
POLIURETANO COMO MEIO SUPORTE**

CAMPINAS

2019

ROSANA OLIVEIRA MENEZES

**A INFLUÊNCIA DA RECIRCULAÇÃO NO PROCESSO
ANAMMOX EM UM FILTRO BIOLÓGICO
PERCOLADOR UTILIZANDO ESPUMAS DE
POLIURETANO COMO MEIO SUPORTE**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e
Urbanismo da Unicamp, para obtenção do
título de Mestra em Engenharia Civil na área
de Saneamento e Ambiente.

Orientadora: Prof^a Dr^a Luana Mattos de Oliveira Cruz

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA ROSANA OLIVEIRA
MENEZES E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. LUANA MATTOS
DE OLIVEIRA CRUZ

ASSINATURA DA ORIENTADORA



CAMPINAS

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Luciana Pietrosanto Milla - CRB 8/8129

M524i Menezes, Rosana Oliveira, 1991-
A influência da recirculação no processo Anammox em um Filtro Biológico Percolador utilizando espumas de poliuretano como meio suporte / Rosana Oliveira Menezes. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Luana Mattos de Oliveira Cruz.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Esgotos - Tratamento. 2. Nitrogênio - Remoção. I. Cruz, Luana Mattos de Oliveira, 1985-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Recirculation influence on Anammox process on a Trickling Filter using polyurethane sponge as support media

Palavras-chave em inglês:

Wastewater - Treatment

Nitrogen - Removal

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Mestra em Engenharia Civil

Banca examinadora:

Luana Mattos de Oliveira Cruz [Orientador]

Édson Aparecido Abdour Nour

Airton Kunz

Data de defesa: 30-08-2019

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Civil

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-3821-2511>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/1984421277805035>

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO**

**A INFLUÊNCIA DA RECIRCULAÇÃO NO PROCESSO
ANAMMOX EM UM FILTRO BIOLÓGICO PERCOLADOR
UTILIZANDO ESPUMAS DE POLIURETANO COMO MEIO
SUPORTE**

Rosana Oliveira Menezes

Dissertação de Mestrado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:

Profa. Dra. Luana Mattos de Oliveira Cruz
Presidente e Orientadora/ FEC / UNICAMP

Prof. Dr. Edson Aparecido Abdul Nour
FEC / UNICAMP

Prof. Dr. Airton Kunz
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade

Campinas, 30 de agosto de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar forças e saúde para que meus objetivos sejam alcançados.

À minha família, Mãe, Pai, Rodrigo e Mara, por me darem o apoio e as palavras de incentivo sempre que precisei. Por vibrarem comigo a cada pequena vitória da minha vida e por me amarem, acima de qualquer coisa. Obrigada por existirem e serem o meu porto seguro.

Ao meu amor e a minha amora, por completarem a minha vida e por estarem ao meu lado sempre que precisei. Obrigada Felipe, por acreditar em mim todas as vezes que eu não acreditei e por ficar muito mais feliz do que eu a cada pequena vitória da minha vida. Sem você nada disso seria possível.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Luana Cruz, a quem dedico este mestrado. Obrigada por todo ensinamento, confiança, respeito e dedicação depositados em mim. Por ter sido minha professora de vida, minha mentora e minha amiga. Por ter me aceitado não apenas como sua aluna, mas como ser humano, passível de erros, limitações e de dias bons e dias ruins. Obrigada por ser a calma da minha ansiedade e a paz do meu desespero. Por ter sempre a palavra certa na hora certa e por sempre olhar o copo meio cheio. Pela (enorme) paciência de me explicar a mesma coisa mil vezes e por todas as (muitas) vezes que me auxiliou fora do horário de trabalho com tanto carinho e dedicação. Obrigada por amar o que faz e por me inspirar e inspirar as pessoas ao seu redor. Você sempre terá um lugar especial em minha vida e nunca será como a bananeira que deu cacho.

Agradeço ainda, aos professores presentes nas minhas bancas, Prof. Dr. Edson Nour, Prof. Dr. Airton Kunz e ao Dr. Paulo de Almeida, por todas as contribuições dedicadas à melhoria desta pesquisa.

À empresa Bio Proj tecnologia ambiental, em especial ao Moacir pelo fornecimento dos mini-BioBobs® e à empresa Paques Brasil Sistemas para Tratamento de Efluentes Ltda pela doação do inóculo.

Aos professores Carlos M. Lopez-Vázquez, Jules van Lier e Regina Maura pelo apoio à pesquisa.

À Unicamp, à Faculdade de Engenharia Civil Arquitetura e urbanismo e ao DSA, pelo apoio à pesquisa. E aos funcionários, principalmente ao Eduardo, por todas as vezes que esteve pronto a me auxiliar.

Aos professores da Unicamp, pelas aulas que contribuía com minha formação.

Aos técnicos do Laboratório de saneamento: Fernando, Thiago e Daniel, por me ajudarem quando que precisei.

Ao José Maria, pela construção do reator.

Ao Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão (FAEPEX) pela bolsa concedida (Solicitação nº 2946/18), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste projeto (Processo nº 2016/21586-1) e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio à participação de eventos e publicação de trabalho.

Aos bolsistas que foram muito importantes por auxiliarem nas análises e manutenção do reator: Alef, Luíza, Diego, Otávio, Laissa e Heberton. Aos colegas Rafael e Felipe pelo auxílio na manutenção do reator.

Às queridas Diana e Tammy, pelo auxílio à pesquisa e por todo companheirismo. Obrigada por todas as contribuições como um grupo de pesquisa e pela amizade que certamente também guardarei com muito carinho.

À todos os colegas que de contribuíram com minha pesquisa. Agradeço principalmente àqueles que tornaram o ambiente de pesquisa mais leve e o clima do laboratório mais agradável: Natália, Ariane, Francisco, Júlio, Pedro, Janaína, Wilson, Lays, Gabi, Alana, Carlos Isac. Gostaria de agradecer especialmente ao Raul, por ter me ensinado as análises laboratoriais quando ingressei, me auxiliado com estatística e por estar sempre pronto para me auxiliar em todas as vezes que precisei.

Também agradeço às pessoas e situações difíceis que encontrei, por terem me mostrado que eu poderia ser mais forte e mais capaz do que eu mesma acreditava.

RESUMO

O nitrogênio é um dos principais poluentes do esgoto doméstico, sendo sua remoção de fundamental importância para manutenção da qualidade ambiental e saúde humana. O processo Anammox (Anaerobic Ammonium-Oxidation) tem sido considerado uma boa alternativa para remoção biológica de compostos nitrogenados de efluentes industriais e domésticos. Filtros Biológicos Percoladores (FBP) preenchidos com meio suporte de espumas de poliuretano proporcionam alta aderência de biomassa e maiores idades do lodo, características que favorecem as bactérias anammox por serem micro-organismos de crescimento mais lento. A pesquisa teve como objetivo avaliar a interferência da não recirculação do efluente final na remoção de compostos nitrogenados durante o período de partida de um FBP inoculado com bactérias anammox. O reator foi operado com efluente sintético e diferentes cargas de aplicação de nitrogênio (CAN) que variaram de 1,0 a 1,5 kgN.m⁻³.d⁻¹ e taxa de aplicação superficial (TAS) de 6,9 a 10,4 m³.m⁻².d⁻¹. Os melhores resultados foram obtidos com CAN igual a 1,0 kgN.m⁻³.d⁻¹ e TAS igual a 6,9 m³.m⁻².d⁻¹, atingindo a estabilização com eficiência de remoção de nitrogênio (ERN) média igual a 18,0 ± 3,4% e carga média de remoção de nitrogênio (CRN) igual a 0,21 ± 0,06 kgN.m⁻³.d⁻¹. A partir das baixas ERN e CRN obtidas, conclui-se que recirculação do efluente final influencia a remoção de nitrogênio pelas bactérias anammox durante o período de partida de um FBP.

Palavras-chave: Anammox; remoção de nitrogênio; tratamento de esgoto.

ABSTRACT

Nitrogen is one of the main pollutants from domestic sewage, and its removal is important for environmental maintenance and human health quality. The Anammox process (Anaerobic Ammonium-Oxidation) has been considered a good alternative for the biological removal of nitrogen compounds from industrial and domestic effluents. Trickling Filters (TF) filled up with polyurethane sponge carries provide high biomass attachment and higher sludge age, an excellent feature for slower growing anammox bacteria. The research aimed to evaluate the interference of effluent non-recirculation in nitrogen removal efficiency during the *start-up* of a TF inoculated with anammox sludge. The reactor was operated with synthetic effluent and different Nitrogen Loading Rate (NLR) ranging from 1.0 to 1.5 kgN.m⁻³.d⁻¹ and Hydraulic Loading Rate (HLR) ranging from 6.9 to 10.4 m³.m⁻².d⁻¹.1 L.d⁻¹. The best results were obtained with NLR equal to 1.0 kgN.m⁻³.d⁻¹ and HRT equal to 6.9 m³.m⁻².d⁻¹, reaching stabilization with average Nitrogen Removal Efficiency (NRE) of 18.0 ± 3.4% and average Nitrogen Removal Rate (NRR) of 0.21 ± 0.06 kgN.m⁻³mini-BioBob®.d⁻¹. From low NRE and NRR obtained, it is concluded that the final effluent recirculation influences the anammox bacteria nitrogen removal during the start-up of a TF.

Keywords: Anammox; nitrogen removal; wastewater treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo microbiológico do nitrogênio.....	25
Figura 2 - Rotas metabólicas do processo Anammox e os possíveis intermediários: (a) óxido nítrico e (b) hidroxilamina.	34
Figura 3 - Distribuição geográfica de estações de tratamento em escala plena que utilizam reator Anammox.....	42
Figura 4 - Coexistência de bactérias BOA e Anammox em biofilme e os respectivos substratos para realização do processo Anammox.....	48
Figura 5 - (a) Esquema do FBP demonstrando pontos de entrada e saída do esgoto sintético, além dos pontos de coleta; (b) mini-BioBob® utilizado como meio suporte.	65
Figura 6 - Propriedade das curvas E, F e $E\theta$, para fluxo pistão, mistura completa e fluxo disperso.	71
Figura 7 – Aparato experimental	73
Figura 8 - Inoculação do FBP na Fase I.	76
Figura 9 - Pontos de amostragem ao longo do FBP.....	79
Figura 10 – (a) Remoção dos mini-BioBobs® ao final do período de operação, (b) regiões de amostragem mini-BioBobs® em cada compartimento.....	81
Figura 11 - (a) Mini-Biobobs® antes e (b) após secagem na estufa, dos 3 compartimentos e nas duas alturas de amostragem em cada um deles.....	82
Figura 12 – Relação entre as concentrações de cloreto de sódio e o tempo de coleta.	86
Figura 13 – (a) Curva de Distribuição do Tempo de Residência e Percentual cumulativo; (b) Curva de E e tempo adimensionais.	86
Figura 14 – Zonas mortas e curtos-circuitos no primeiro compartimento do FBP.	90
Figura 15 - Distribuição do afluente no FBP com vista (a) em planta e (b) e frontal.	91
Figura 16 – pH monitorado no afluente e efluente do FBP.....	92

Figura 17 – Alcalinidade monitorada no afluente e efluente do FBP.....	93
Figura 18 – Concentrações de oxigênio dissolvido monitoradas no afluente e efluente do FBP.	95
Figura 19 – (a) Concentrações nitrogênio afluentes e efluentes ao FBP; (b) TRN, CVN e ERN, para as 3 fases de operação do FBP.....	100
Figura 20 - Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase I.	104
Figura 21 – (a) Lodo utilizado na inoculação do reator na Fase I; (b) FBP inoculado antes da remoção dos grânulos; (c) FBP antes de remover os grânulos, com formação de zonas mortas e acúmulo de precipitados; (d) FBP após a remoção dos grânulos.	107
Figura 22 – Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase II.	109
Figura 23 - Lodo usado para inoculação na Fase III; (b) FBP logo após a inoculação; (c) e (d) Perda gradual de biomassa no FBP.	111
Figura 24 - Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase II.	112
Figura 25 – Perfil das concentrações médias dos compostos nitrogenados ao longo do FBP.	119
Figura 26 – Mini-BioBobs® retirados do FBP ao final da operação.....	120

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Formas de nitrogênio em diferentes estágios de tratamento.	20
Tabela 2 - Referências dos gêneros e espécies das bactérias anammox e a origem de seu inóculo.	37
Tabela 3 - Configurações com um ou dois reatores e as respectivas tecnologias e aplicações.	39
Tabela 4 - Aplicações do Anammox utilizando diferentes tecnologias e tipos de efluentes.	41
Tabela 5 - Estudos de start-up e estabilização de reatores anammox	58
Tabela 6 - Configuração do FBP e do meio suporte	66
Tabela 7 - Parâmetros para avaliação da performance hidráulica do reator.	72
Tabela 8 – Parâmetros operacionais do FBP.	74
Tabela 9 – Composição e concentração do efluente sintético nos reservatórios R1 e R2 antes da mistura na tubulação.	77
Tabela 10 – Análises laboratoriais e os respectivos métodos empregados.	80
Tabela 11 – Resultados do teste de acomodação volumétrica.	84
Tabela 12 - Índice de vazios e volume unitário.	85
Tabela 13 - Parâmetros para avaliação da performance hidráulica do reator.	88
Tabela 14 - pH médio afluente e efluente ao FBP.	93
Tabela 15 - Alcalinidade média afluente e efluente ao reator.	94
Tabela 16 - Oxigênio dissolvido médio do substrato afluente e efluente ao FBP.	96
Tabela 17 – Média da temperatura ambiente em cada fase de operação.	98
Tabela 18 - Balanço de massa com os valores de remoção médios das 3 fases operacionais.	102
Tabela 19 - Comparação entre os resultados da Fase III desta pesquisa, realizada sem recirculação e outro estudo semelhante que utilizou a recirculação do efluente final.	117

Tabela 20 - Pontos amostrais do perfil e as respectivas alturas no FBP. 118

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivos Gerais.....	19
2.2	Objetivos Específicos	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	Formas de nitrogênio nos esgotos – Importância sanitária e ambiental	20
3.2	Ciclo microbiológico do Nitrogênio aplicado ao tratamento de efluentes	24
3.3	Principais formas de remoção de nitrogênio do esgoto doméstico	27
3.3.1	Nitrificação seguida de desnitrificação.....	27
3.3.1.1	Nitrificação	27
3.3.1.2	Desnitrificação.....	30
3.3.1.3	Características da remoção de nitrogênio pelos processos tradicionais de tratamento	32
3.3.2	Processo Anammox.....	32
3.3.2.1	Configurações de reatores Anammox.....	38
3.3.2.2	Características do processo Anammox.....	40
3.4	Aplicações do processo Anammox	40
3.5	Fatores intervenientes na atividade Anammox	42
3.5.1	Concentração de substratos	43
3.5.2	Temperatura e pH.....	44
3.5.3	Concentração de Oxigênio Dissolvido (OD)	45
3.5.4	Crescimento e retenção de biomassa anammox.....	46
3.5.4.1	Meio suporte e o crescimento aderido de biomassa	49
3.6	Filtro Biológico Percolador	50
3.6.1	FBP operado com bactérias anammox.....	52

3.6.2	DHS – Downflow Hanging Sponge	53
3.6.2.1	Sistema DHS e o processo Anammox	54
3.7	<i>Start-up</i> e estabilização do processo Anammox	55
3.8	Limitações e desafios do saneamento e remoção de nutrientes de efluentes no Brasil.....	59
3.9	Análise crítica da literatura e contribuição do presente trabalho	62
4	METODOLOGIA	65
4.1	Aspectos construtivos do reator	65
4.2	Caracterização do meio suporte	67
4.2.1	Umidade Residual	67
4.2.2	Índice de Acomodação Volumétrica	67
4.2.3	Índice de vazios	68
4.3	Teste hidrodinâmico	68
4.4	Configuração do aparato experimental	72
4.5	Aspectos e fases operacionais.....	73
4.6	Inoculação do Reator	75
4.6.1	Fase I.....	75
4.6.2	Fase II.....	76
4.6.3	Fase III.....	76
4.7	Efluente sintético	77
4.8	Coleta de amostras e análises laboratoriais.....	78
4.9	Atividade específica das bactérias	80
4.10	Análise estatística	83
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
5.1	Caracterização do meio suporte	84
5.1.1	Umidade Residual	84
5.1.2	Índice de Acomodação Volumétrica	84

5.1.3	Índice de Vazios	85
5.2	Comportamento hidrodinâmico	86
5.3	Variáveis monitoradas durante a operação	92
5.3.1	pH.....	92
5.3.2	Alcalinidade	93
5.3.3	Oxigênio dissolvido (OD)	95
5.3.4	Temperatura	98
5.4	Remoção de nitrogênio	99
5.4.1	Fase I.....	102
5.4.2	Fase II.....	105
5.4.3	Fase III.....	109
5.4.4	Atividade específica das bactérias anammox.....	113
5.4.5	Características operacionais importantes à eficiência de remoção de nitrogênio no FBP	114
5.4.5.1	Inóculo.....	114
5.4.5.2	Forma de inoculação.....	115
5.4.5.3	Tempo de detenção hidráulica	116
5.4.5.4	Recirculação do efluente final	116
5.5	Perfil de compostos nitrogenados	117
6	CONCLUSÕES	121
7	RECOMENDAÇÕES.....	122
8	REFERÊNCIAS.....	123

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um elemento essencial à vida, porém, é também um dos maiores poluentes do esgoto doméstico, sendo sua remoção de grande importância para proteger os corpos receptores e a saúde pública.

O lançamento de efluentes contendo altas concentrações de nitrogênio pode provocar diversos efeitos indesejáveis aos corpos receptores (KIM *et al.*, 2017). Por ser um elemento necessário à síntese de proteínas, o nitrogênio é fundamental ao crescimento de plantas aquáticas e algas, no entanto, quando presente em concentrações elevadas, pode desencadear o crescimento excessivo destes organismos, fenômeno conhecido como eutrofização (CONLEY *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2018). Este fenômeno tem como resultado redução dos níveis de oxigênio dissolvido, ocasionando mortandade de peixes e outros organismos aeróbios. Além disto, algumas formas de nitrogênio são tóxicas a peixes e também podem afetar a eficiência da desinfecção com cloro (ROUMIEH *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2018; WAHMAN; SPEITEL JUNIOR, 2012).

A presença de nitrogênio pode também ser prejudicial à saúde pública, uma vez que o excesso de nitrato na água potável pode causar metahemoglobinemia em recém-nascidos, também conhecida como síndrome do bebê azul. Além disso, esta forma de nitrogênio é potencialmente cancerígena, aumentando o risco de câncer no estômago e intestino (FEWTRELL, 2004; JAISWAL *et al.*, 2015; SUTTON *et al.*, 2011). Desse modo, formas de remoção dos compostos nitrogenados têm sido amplamente discutidas a fim de minimizar os impactos negativos ao meio ambiente e evitar as graves consequências à saúde pública.

A remoção de nitrogênio dos esgotos domésticos ou industriais, ou seja, liberação da molécula de nitrogênio gasoso (N_2) para a atmosfera, pode ser realizada por processos físico-químicos ou biológicos, sendo este último frequentemente utilizado por ter um bom custo-benefício (AHN, 2006). A nitrificação seguida de desnitrificação heterotrófica é uma forma de remoção tradicionalmente utilizada, porém, a necessidade de introdução oxigênio na nitrificação e adição de fonte de carbono para complementar a desnitrificação, tornam maiores os custos do tratamento

(AUGUSTO; CAMILOTI; SOUZA, 2018; CHATTERJEE; GHANGREKAR; RAO, 2016; MA *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2017).

Desde sua descoberta na década de 90 (MULDER *et al.*, 1995), o processo Anammox (Anaerobic Ammonium-Oxidation) tem sido amplamente estudado por ser considerado uma boa alternativa para a remoção de compostos nitrogenados dos efluentes. Neste processo, amônia e nitrito são removidos simultaneamente do efluente, havendo liberação da molécula de nitrogênio gasoso para atmosfera (ALI; OKABE *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2008).

O Anammox apresenta como características positivas um baixo requisito energético (redução de cerca de 60%), uma vez que a oxidação da amônia ocorre apenas até nitrito, não necessitando de fonte externa de carbono e menor produção de lodo, o que implica em menores gastos com tratamento e destinação final (NARITA *et al.*, 2017; TOMASZEWSKI; CEMA; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA, 2017; VAN DONGEN; JETTEN; VAN LOOSDRECHT, 2001).

Devido ao lento crescimento das bactérias anammox, é recomendável o uso de meio suporte no reator, a fim de propiciar aumento da idade do lodo, evitando que sejam varridas junto com o efluente final (AHN, 2006; CHUANG *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2010a). Desse modo, a tecnologia de Filtros Biológicos Percoladores (FBP) com meio suporte de espumas de poliuretano pode ser considerada uma boa opção para trabalhar com bactérias anammox no Brasil, uma vez que favorece a retenção e crescimento da biomassa, e apresenta bom custo-benefício, ideal para países em desenvolvimento (ALMEIDA *et al.*, 2011, 2013).

A tecnologia de FBP tem sido frequentemente recomendada como pós tratamento de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB), uma vez que, como este último também apresenta características como baixo custo de operação e manutenção, a associação entre estas duas tecnologias pode ser considerada uma alternativa adequada para aplicação em países em desenvolvimento (GUILLÉN *et al.*, 2015b; TANDUKAR *et al.*, 2005, 2006). Além disso, como em tratamentos anaeróbios não é realizada a remoção de nutrientes, a complementação da associação UASB-FBP com o processo Anammox, pode contribuir com a produção de um efluente mais adequado ao lançamento nos corpos hídricos, favorecendo a proteção ao meio ambiente (CHERNICHARO *et al.*, 2006; GUILLÉN *et al.*, 2015b).

Em FBP pode haver recirculação do efluente final, porém este procedimento implica um maior gasto com energia, sendo que, no Brasil, este parâmetro já representa um dos maiores custos operacionais nas estações de tratamento de esgoto (ETE) (JORDÃO, 2015). Além disso, a compra e manutenção de bombas, bem como a construção e manutenção de estruturas de suporte ao processo de recirculação, elevam os custos do tratamento, o que pode não ser viável, principalmente, em casos de limitação de recursos, como é a realidade de muitos países em desenvolvimento (JORDÃO; PESSÔA, 2011).

Neste sentido, a pesquisa teve como objetivo verificar se a inexistência de recirculação do efluente final de um Filtro Biológico Percolador-Anammox influencia a remoção de compostos nitrogenados durante o período de partida.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar se a não recirculação do efluente final influencia na eficiência de remoção de compostos nitrogenados durante o período de partida de um Filtro Biológico Percolador inoculado com bactérias anammox.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o meio suporte utilizado
- Caracterizar o perfil de remoção/produção de compostos nitrogenados ao longo do FBP
- Verificar se a profundidade do leito no FBP influencia a remoção e produção de compostos nitrogenados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Formas de nitrogênio nos esgotos – Importância sanitária e ambiental

O nitrogênio é um elemento fundamental à vida, uma vez que é componente essencial à síntese de proteínas e encontra-se distribuído na natureza em diversas formas e estados de oxidação (STEIN; KLOTZ, 2016). Do ponto de vista sanitário, as principais formas de nitrogênio encontradas no esgoto sanitário são: gás nitrogênio (N_2), amônia livre (NH_3), íon amônio (NH_4^+), íon nitrito (NO_2^-) e íon nitrato (NO_3^-) (TCHOBANOGLOUS; BURTON; STENSEL, 2014a).

Nos efluentes domésticos brutos as principais formas de nitrogênio encontradas são nitrogênio orgânico e amônia. Já em efluentes tratados via nitrificação completa, a forma predominante de nitrogênio encontrada é a de nitrato, caso contrário, se ocorreu apenas a nitrificação parcial ou nitritação, a forma predominante será nitrito. Se na linha de tratamento for incluída a desnitrificação, é possível encontrar no efluente final concentrações mais reduzidas de todas as formas de nitrogênio (VON SPERLING, 2014). Desse modo, percebe-se que, a partir da determinação da forma predominante de nitrogênio, são obtidas informações sobre o estágio de degradação do efluente, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Formas de nitrogênio em diferentes estágios de tratamento.

Estágio de tratamento	Forma predominante de nitrogênio
Esgoto bruto	Nitrogênio orgânico Amônia
Efluente nitrificação parcial	Nitrito
Efluente nitrificado	Nitrato
Efluente após nitrificação e desnitrificação	Concentrações reduzidas de todas as formas de nitrogênio

Fonte: Adaptada de von Sperling (2014).

Os seres humanos e os animais, ao ingerirem alimentos ricos em proteínas, sejam elas de origem animal ou vegetal, absorvem nitrogênio na forma orgânica. Posteriormente, em seus dejetos, restituem ao meio ambiente o nitrogênio na forma orgânica, o qual será rapidamente hidrolisado por atividade microbiológica, liberando o nitrogênio na forma amoniacal, processo denominado amonificação (NUVOLARI, 2011; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014a; MADIGAN *et al.*, 2016c).

É importante ressaltar que, a faixa de concentração típica de nitrogênio total em esgoto sanitário, resultado da soma de nitrogênio orgânico, amônia, nitrito e nitrato está compreendida entre 35 e 60 mg-N.L⁻¹ (VON SPERLING, 2014). Como mostra a Tabela 1, as concentrações de nitrito e nitrato são muito baixas em efluentes bruto, e podem ser consideradas desprezíveis.

A amônia é a principal forma de nitrogênio encontrada nos esgotos e pode assumir a forma livre (NH₃) ou ionizada (NH₄⁺), sendo que a forma predominante é dependente da temperatura e do valor do pH do meio. Observando a Equação 1, percebemos que uma elevação do pH (e o mesmo serve para um aumento da temperatura), desloca o equilíbrio para a esquerda, resultando em aumento da forma livre e diminuição da forma ionizada. Assim, para valores de pH menores do que 8,0, praticamente toda a amônia encontra-se na forma ionizada, já em pH acima de 11,0, a amônia encontra-se predominantemente na forma livre, enquanto que em valores próximos a 9,5 temos proporções aproximadamente iguais de amônia livre e ionizada. (VON SPERLING *et al.*, 2009).



A amônia livre é tóxica a peixes podendo causar intensa irritação e inflamação nas brânquias em concentrações acima de 0,02 mg.L⁻¹ e morte em concentrações entre 0,70 a 2,40 mg.L⁻¹, quando expostos por um curto período (PEREIRA; MERCANTE, 2005; ROUMIEH *et al.*, 2013; VON SPERLING, 2005).

A remoção de amônia de efluentes antes de seu lançamento é ainda relevante, devido sua tendência de ser oxidada a nitrito e este posteriormente a nitrato no processo de nitrificação (MA *et al.*, 2016). Neste processo, há consumo de oxigênio dissolvido (OD) do meio e, caso venha a ocorrer em um corpo hídrico poderá causar

prejuízos à vida aquática aeróbia ali existente (EKAMA; WENTZEL, 2008; ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

De acordo com von Sperling (2014), a concentração de nitrogênio amoniacal encontrada em esgotos sanitários pode variar de 20 a 35 $\text{mgNH}_3\text{-N.L}^{-1}$, sendo 25 $\text{mgNH}_3\text{-N.L}^{-1}$ o valor típico. Já nos países nórdicos, essa concentração tende a ser um pouco mais elevada, em média 45 mg.L^{-1} e máximo de 70 mg.L^{-1} (HENZE; COMEAU, 2008), visto que há menor consumo de água nos países mais frios. Além disso, ao caracterizar o efluente de uma estação de tratamento de esgoto (ETE) no Brasil, Saliba e von Sperling (2017) constataram que ele era mais diluído, atribuindo este fato à entrada de águas de infiltração na rede. A caracterização do efluente bruto realizada na referida pesquisa, demonstrou uma concentração de nitrogênio amoniacal no esgoto bruto igual a 26 mg.L^{-1} e de nitrogênio total igual a 38 mg.L^{-1} . Corroborando o exposto na Tabela 1, nesta caracterização as formas de nitrito e nitrato foram desprezadas para o esgoto bruto.

Outra importante forma do nitrogênio no tratamento de esgoto é o íon nitrito, o qual é relativamente instável e facilmente oxidado à forma de nitrato sendo, por este motivo normalmente encontrado no meio líquido em concentrações reduzidas, desde que o meio tenha quantidade suficiente de oxigênio que permita o processo de nitrificação (VON SPERLING *et al.*, 2009).

Embora seja encontrado em baixas concentrações nos esgotos domésticos (raramente maiores que 1 mg.L^{-1}), o estudo e monitoramento de nitrito é muito importante devido ao mesmo ser tóxico à peixes além de outras espécies aquáticas (SILVA *et al.*, 2018). Além disso, o nitrito presente em efluentes pode combinar-se com o cloro destinado a desinfecção, resultando em inibição da ação desinfetante para com micro-organismos, aumento na dosagem requerida de cloro e, conseqüentemente, dos custos com o processo de desinfecção em Estações de Tratamento de Água (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014a; MUIRHEAD; APPLETON, 2008).

Além das formas já apresentadas, o nitrogênio também pode assumir nos esgotos a forma de íon nitrato, que pode variar de 0 a 20 $\text{mgNO}_3\text{-N.L}^{-1}$ em esgotos sanitários bruto e, se assumirmos tratamento com nitrificação completa, a faixa usual no efluente é de 15 a 25 $\text{mgNO}_3\text{-N.L}^{-1}$ (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL,

2014a). O excesso de nitrato em águas potáveis, representa um sério problema de saúde global por estar relacionado a doença metahemoglobinemia ou síndrome do bebê azul principalmente em recém-nascidos (FEWTRELL, 2004). O nitrato é conhecido ainda pelo seu potencial em causar câncer de estômago e intestinal (SUTTON *et al.*, 2011; JAISWAL *et al.*, 2015).

Os compostos nitrogenados, juntamente com outros nutrientes, são fundamentais para o crescimento de algas e plantas aquáticas, apesar disto, quando presentes em concentrações excessivas e combinados a condições favoráveis de crescimento, tais como temperatura e insolação, pode causar eutrofização de corpos d'água (HUANG *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2009; VON SPERLING *et al.*, 2009).

O crescimento excessivo destes organismos tem como consequência a deterioração da qualidade da água do corpo hídrico, podendo vir a comprometer os usos previstos para a mesma (VON SPERLING *et al.*, 2009). Um dos principais problemas da eutrofização está associado à diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido do corpo hídrico decorrente da decomposição de algas mortas (GERARDI, 2006c). Além disto, a grande massa de algas e plantas aquáticas formada tende a se concentrar na superfície do corpo hídrico devido à maior incidência dos raios solares, reduzindo a penetração luminosa nas camadas mais internas. Consequentemente, a fotossíntese é prejudicada nessas regiões, bem como a introdução de oxigênio decorrente desse processo (VON SPERLING *et al.*, 2009). Em ambas os casos, devido às concentrações de oxigênio serem reduzidas, haverá prejuízos para os organismos que dependam do mesmo para a sobrevivência, como diversas espécies de peixes (GÜREVIN; ERTURK; ALBAY, 2017).

Além de perda de diversidade aquática, a eutrofização pode ainda ter como consequências problemas estéticos e recreacionais, dificuldades e elevação dos custos do tratamento de água devido à necessidade de remoção de cor, sabor, odor e das próprias plantas e algas, perda de valor comercial da área afetada e problemas de toxicidade (cianotoxinas) devido ao afloramento de cianobactérias (KARTAL; KUENEN; VAN LOOSDRECHT, 2010; SMITH; SCHINDLER, 2009; VON SPERLING *et al.*, 2009).

Diante do exposto, é possível perceber a importância da etapa de tratamento terciário para remoção dos diversos compostos nitrogenados, não apenas

como forma de atendimento à legislação vigente, mas também para preservação do meio ambiente e manutenção da saúde pública.

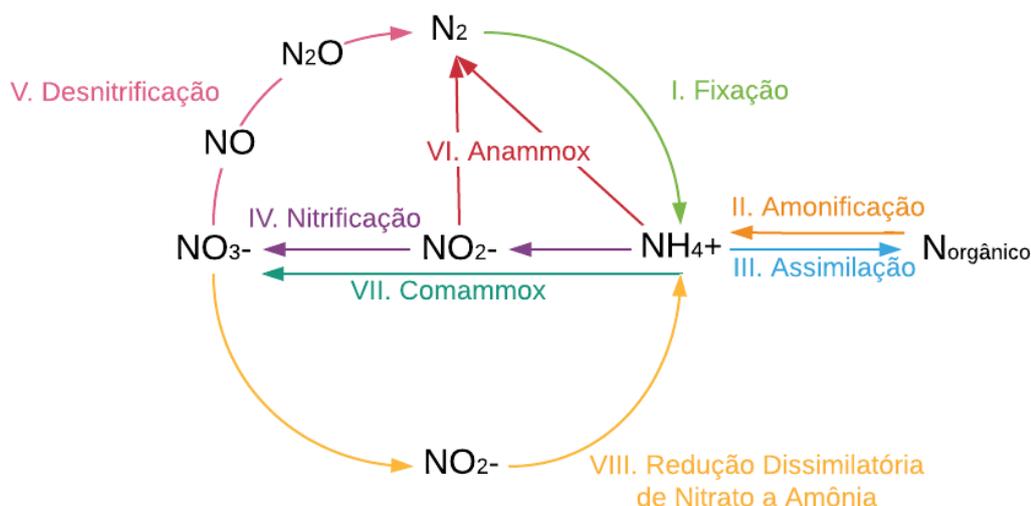
3.2 Ciclo microbiológico do Nitrogênio aplicado ao tratamento de efluentes

Na natureza, existem diversas rotas de transformação do nitrogênio, sendo a maioria delas desempenhadas por micro-organismos, compondo o denominado ciclo microbiológico do nitrogênio. No que se refere ao tratamento biológico de efluentes, por muito tempo acreditou-se que as únicas rotas de transformação de nitrogênio eram: fixação biológica, nitrificação e desnitrificação (STEIN; KLOTZ, 2016). Porém, outros processos recentemente descobertos como Anammox e Comammox, vieram complementar este ciclo, tornando-o ainda mais completo e complexo (DAIMS *et al.*, 2015; MULDER *et al.*, 1995; VAN KESSEL *et al.*, 2015).

Apesar de aproximadamente 78% do nitrogênio disponível na atmosfera encontrar-se forma de nitrogênio gasoso (N₂), a maioria dos organismos não são capazes de utilizá-lo diretamente, sendo necessário convertê-lo a formas mais facilmente assimiláveis (biodisponíveis) pelas plantas (BRAGA *et al.*, 2005; FRANCIS *et al.*, 2007).

Essa conversão pode ser realizada no processo de amonificação, na qual o nitrogênio na forma orgânica (proveniente de excretas ou tecido de animais mortos) é decomposto liberando amônia para o ambiente (Figura 1 - rota metabólica II,). O processo contrário é denominado assimilação (Figura 1 - rota metabólica III). Outro processo que resulta na produção de amônia, é a Redução Dissimilatória de Nitrato a Amônia (do inglês, *Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium*) (Figura 1 - rota metabólica VIII), o qual pode também ser realizado por bactérias anammox (este processo será comentado com mais detalhes no tópico 1.3.2) (CASTRO-BARROS *et al.*, 2017; MADIGAN *et al.*, 2016a; STEIN; KLOTZ, 2016).

Figura 1 – Ciclo microbiológico do nitrogênio.



Fonte: Adaptada de van Loosdrecht (2008)

A amônia também pode ser gerada como produto da redução do nitrogênio gasoso, no processo de fixação (Figura 1 - rota metabólica I) (MADIGAN *et al.*, 2016a). A fixação de nitrogênio pode ser realizada naturalmente no meio ambiente por alguns micro-organismos de vida livre ou simbióticos, ou ainda realizada industrialmente no processo *Haber-Bosch*, o qual é empregado para produção de fertilizantes utilizados atualmente na agricultura (MADIGAN *et al.*, 2016c; SUTTON *et al.*, 2011; STEIN; KLOTZ, 2016).

Apesar de não constituir um processo realizado nas estações de tratamento de esgoto, a fixação é uma etapa particularmente importante pois, é a partir dela que a amônia ficará disponível para as plantas e, conseqüentemente, será introduzida na dieta animal, chegando às estações como parte constituinte dos despejos (MADIGAN *et al.*, 2016c).

A amônia produzida no processo de fixação pode ser oxidada em processos aeróbios ou anóxicos. A oxidação aeróbia da amônia é realizada no processo de nitrificação (Figura 1 - rota metabólica IV), a qual será convertida a nitrito e este posteriormente a nitrato (este processo será discutido com mais detalhes no tópico 1.3.1.1) (EKAMA; WENTZEL, 2008; MA *et al.*, 2016). Durante muitos anos, acreditou-se que a nitrificação era realizada exclusivamente em duas etapas e por dois grupos diferentes de micro-organismos. Porém, em 2006 um grupo de pesquisadores levantaram a hipótese da existência de uma bactéria capaz de oxidar

completamente amônia a nitrato, ou seja, em uma única etapa e as denominaram comammox (**Complete Ammonia Oxidizer**) (Figura 1 - rota metabólica VII) (COSTA; PÉREZ; KREFT, 2006). A existência desses micro-organismos só foi confirmada de fato em 2015 em duas publicações (DAIMS *et al.*, 2015; VAN KESSEL *et al.*, 2015), nas quais relataram a descoberta e que os mesmos são pertencentes ao gênero *Nitrospira*. A oxidação da amônia pelo processo Comammox é mais vantajoso energeticamente quando comparado à nitrificação, fato que intriga ainda hoje os cientistas sobre a existência da oxidação em etapas separadas (DAIMS *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2017).

A desnitrificação (Figura 1 - rota metabólica V) normalmente é realizada após a nitrificação para remoção dos compostos nitrogenados e consiste na redução de nitrato ou nitrito a nitrogênio gasoso, produzindo como compostos intermediários os óxidos nítrico (NO) e nitroso (N₂O) (este processo será discutido com mais detalhes no tópico 1.3.1.2) (STEIN; KLOTZ, 2016).

O processo Anammox (**Anaerobic Ammonium-Oxidation**) é uma rota metabólica descoberta recentemente (na década de 90) e, provocou avanços para o tratamento biológico de efluentes (Figura 1 - rota metabólica VI) (MULDER *et al.*, 1995). Neste processo, a amônia é oxidada diretamente a nitrogênio gasoso sob condições anóxicas, utilizando o nitrito como acceptor de elétrons (STROUS *et al.* 1998; ALI; OKABE, 2015). Tal como o processo Comammox, o Anammox também é vantajoso em relação à nitrificação, uma vez que para realização desse processo é necessário a oxidação da amônia apenas até nitrito, reduzindo custos com aeração (LACKNER *et al.*, 2014).

Por mais de cem anos, acreditou-se que o ciclo microbiológico do nitrogênio já estava completo apenas com os processos tradicionais, mas com o advento de novas tecnologias, novas descobertas também têm sido realizadas (KARTAL *et al.*, 2012; STEIN; KLOTZ, 2016). Observando o ciclo, é possível perceber que as rotas Anammox e Comammox que o complementou nos últimos anos, representam importantes avanços para o tratamento biológico de efluentes, principalmente no que se refere à sustentabilidade do sistema. Estes acontecimentos nos demonstram como a natureza pode ser surpreendente e o quanto ainda temos a descobrir do mundo microbiológico.

3.3 Principais formas de remoção de nitrogênio do esgoto doméstico

Em estações de tratamento de efluentes, a remoção da matéria carbonácea é realizada em um primeiro estágio, normalmente nos níveis primário e secundário, e a remoção da matéria nitrogenada é realizada a nível terciário (VON SPERLING, 2005).

A remoção de compostos nitrogenados de efluentes pode ser feita por processos físico-químicos ou biológicos, sendo este último amplamente utilizado por ser mais eficiente e de menor custo, e será alvo desta revisão (AHN, 2006).

3.3.1 Nitrificação seguida de desnitrificação

A remoção de nitrogênio de efluentes domésticos e industriais, isto é, quando há desprendimento da molécula de nitrogênio (N_2) da fase líquida, tem sido tradicionalmente realizada por combinação dos processos de nitrificação e desnitrificação (HU *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2016).

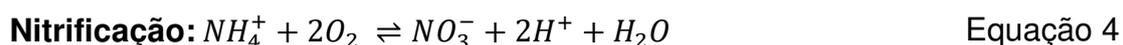
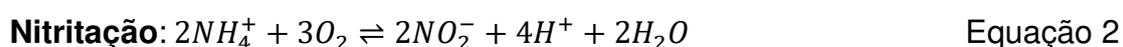
3.3.1.1 Nitrificação

A nitrificação é um processo de oxidação biológica realizada em duas etapas sequenciais sob condições aeróbias estritas (rota metabólica IV, Figura 1) (EKAMA; WENTZEL, 2008). A primeira etapa, também conhecida como nitrificação parcial ou nitritação, consiste na oxidação do íon amônio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-) pelas BOA (Bactérias Oxidadoras de Amônia ou AOB, do inglês *Ammonium Oxidizing Bacteria*) representadas, principalmente, pelo gênero *Nitrosomonas*. Os gêneros *Nitrosococcus*, *Nitrosopira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus* também são capazes de realizar a nitritação (AHN, 2006; MA *et al.*, 2016; YANG *et al.* 2017).

Na segunda etapa, também conhecida como nitratação, o nitrito formado na etapa anterior é oxidado a nitrato (NO_3^-) por ação das BON (bactérias oxidadoras de nitrito ou do inglês *Nitrite Oxidizing Bacteria*), associadas principalmente ao gênero *Nitrobacter* (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b; YANG *et al.*, 2017). As bactérias pertencentes aos gêneros *Nitospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrocystis* também são capazes de realizar nitritação (AHN, 2006).

As bactérias responsáveis pela nitrificação são quimioautótrofas, uma vez que utilizam matéria inorgânica, amônia ou nitrito, para gerar energia (catabolismo) e, como fonte de carbono, utilizam CO₂ na forma de alcalinidade bicarbonato (HCO₃⁻) para a síntese celular (anabolismo) (EKAMA; WENTZEL, 2008; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b). De acordo com Gerardi (2006a), em condições favoráveis, o tempo de duplicação das nitrificantes é de 8 a 10 horas.

As equações Equação 2, Equação 3 e Equação 4 representam as reações de oxidação envolvidas nos processos de nitritação, nitratação e na reação global de nitrificação, de acordo com von Sperling (2002).



O crescimento e desenvolvimento das nitrificantes pode ser afetado por alguns fatores ambientais, sendo eles: temperatura, pH, oxigênio dissolvido e substâncias tóxicas ou inibidoras. De acordo com Cho *et al.* (2014), os parâmetros que mais afetam a taxa de crescimento bacteriano são temperatura e pH. O mesmo autor ainda afirma que, apesar de existirem diversos dados na literatura sobre os efeitos exercidos pela temperatura e pH na nitrificação, as condições ótimas exatas ainda não são consenso.

Gerardi (2006a) destaca que as bactérias nitrificantes são ativas a temperatura entre 5 e 40°, com ótimo em 30°C, e em pH entre 5,0 e 8,5, com ótimo na faixa de 7,3 a 8,5. Segundo o mesmo autor, a diminuição da temperatura implica em redução da atividade das nitrificantes com consequente perda de eficiência.

Quanto aos requisitos de oxigênio, na nitritação são necessários 3,43 mgO₂/mgN e na nitratação 1,14 mgO₂/mgN. Conseqüentemente, o processo de nitrificação consome 4,57 mgO₂/mgN. Se levamos em consideração a parcela de amônia utilizada para produção de novas células, assim como na alcalinidade, o valor de oxigênio requerido também será levemente reduzido, sendo igual a 4,3 mgO₂/mgN (EKAMA; WENTZEL, 2008; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b).

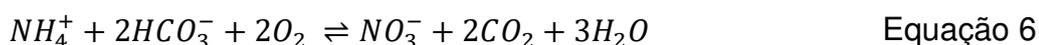
A alcalinidade também é um importante parâmetro para a nitrificação e deve ser sempre monitorada, uma vez que sua redução implica em redução na

capacidade de tamponamento do meio e, conseqüentemente, em queda do pH. A taxa de nitrificação será reduzida em meio cujo pH é menor do que 7,2 (VON SPERLING, 2002).

Observando a equação global (Equação 4), é possível perceber que no processo de nitrificação há produção de 2 mols de H^+ para cada mol de NH_4^+ oxidado, o que contribui para redução do pH do meio (TONETTI *et al.*, 2012). No entanto, em um primeiro momento, a alcalinidade já presente no efluente irá atuar de forma a não permitir uma queda abrupta do pH, por meio do acionamento do sistema tampão. (VON SPERLING, 2002). O sistema de tamponamento bicarbonato – gás carbônico ($HCO_3^- - CO_2$) ocorre de acordo com a reação descrita na Equação 5.



Pela equação acima, temos que 1 mol de H^+ consome 1 mol de HCO_3^- . Assim, como na nitrificação temos geração de 2 mols de H^+ , serão necessários 2 mols de HCO_3^- para cada mol de NH_4^+ oxidado, que correspondem a 7,3 $mg.L^{-1}$ de alcalinidade como $CaCO_3$. Levando em conta que uma pequena parte da amônia oxidada é utilizada na produção de novas células, a alcalinidade requerida no processo assume o valor de 7,1 $mgCaCO_3.L^{-1}$ (VON SPERLING, 2002; TCHOBANOGLOUS; BURTON; STENSEL, 2014b). Quando consideramos a alcalinidade requerida na nitrificação, podemos reescrever a Equação 4 como representado na Equação 6.



De acordo com von Sperling (2002), a faixa típica de alcalinidade esgoto bruto varia entre 110 a 170 $mgCaCO_3.L^{-1}$. Nos casos em que a alcalinidade do efluente não seja suficiente para tamponar o sistema, faz-se necessária a adição de algum agente alcalinizante, como por exemplo a cal hidratada.

Por fim, ressalta-se que no processo de nitrificação não há remoção de nitrogênio, apenas transformação da forma de amônia para nitrato. Podemos dizer então que a remoção neste processo é de amônia, mas não de nitrogênio (VON SPERLING, 2002). Quando o objetivo do tratamento é a remoção de nitrogênio, ou seja, produção de N_2 , é essencial que posteriormente à etapa de nitritação ou nitrificação ocorra um processo que efetivamente propicie tal remoção, como é o caso

do processo anammox e da desnitrificação, respectivamente (VAN HAANDEL; KATO; VON SPERLING, 2009).

3.3.1.2 Desnitrificação

A desnitrificação consiste na redução de nitrato ou nitrito tendo como produto final o nitrogênio gasoso. Neste processo, há uma redução sequencial de nitrato a nitrito e deste aos óxidos nítrico e nitroso (compostos intermediários) respectivamente e, finalmente a nitrogênio gasoso, que se desprende da fase líquida para a atmosfera (JETTEN, 2008; STEIN; KLOTZ, 2016).

A desnitrificação pode ser realizada por uma vasta gama de micro-organismos autotróficos e heterotróficos (JETTEN, 2008; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b). No tratamento de esgotos, a desnitrificação por bactérias heterotrófica é mais comum devido às mesmas utilizarem o carbono orgânico para gerar energia (SLIEKERS *et al.*, 2002; XU *et al.*, 2011). Em comparação com as bactérias autotróficas, as heterotróficas apresentam uma taxa de crescimento maior e, conseqüentemente, assumem tempo de residência celular menor (SOUSA; FORESTI, 1999). Ressalta-se que, especificamente para o caso das bactérias anammox (autotróficas) e desnitrificantes heterotróficas, situações em que haja abundância de carbono orgânico, são competitivamente desfavoráveis para as bactérias anammox, justamente devido às desnitrificantes possuírem uma taxa de duplicação maior (XU *et al.*, 2015).

Quanto aos parâmetros pH e temperatura ideais para o desenvolvimento das desnitrificantes, Gerardi (2006b) destaca que a faixa ótima de pH é de 7,0 a 7,5 e que a diminuição da atividade bacteriana ocorre em pH menor do que 6,0 ou maior do que 8,0.

De acordo com Gerardi (2006b) durante a desnitrificação são necessárias condições anóxicas. Para isso, é preciso que se tenha no meio presença de nitrito ou nitratos, ausência de oxigênio ou presença de um gradiente de oxigênio.

As bactérias desnitrificantes são facultativas, uma vez que conseguem utilizar oxigênio molecular, nitrato e nitrito como aceptores para degradar a matéria orgânica, porém, apenas um por vez. A escolha de qual acceptor usar está relacionado à sua disponibilidade no meio e à quantidade de energia gerada. A preferência é

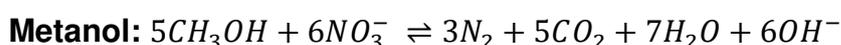
sempre pelo oxigênio em relação ao nitrato, devido à sua degradação liberar mais energia para o crescimento celular (GERARDI, 2006b). Desse modo, para que a redução de nitrito e nitrato seja realizada é importante manter a concentração de OD baixa (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

Na desnitrificação, o doador de elétrons é a matéria orgânica. Como a remoção de nutrientes normalmente é realizada no tratamento terciário, é comum que o efluente não contenha concentrações suficientes de material orgânico para a desnitrificação, uma vez que, previamente já foram realizadas etapas para remoção de carbono (VON SPERLING, 2002). Desse modo, quando a relação carbono/nitrogênio (C/N) é baixa, é necessária a adição de uma fonte externa de carbono (AHN *et al.*, 2006; SUN *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2016).

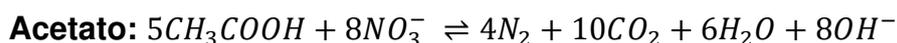
As equações 7, 8 e 9 representam a desnitrificação utilizando como fonte de carbono matéria orgânica biodegradável presente nos efluentes, metanol e acetato, respectivamente (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b).



Equação 7



Equação 8



Equação 9

Ao contrário do que ocorre na nitrificação, na desnitrificação a alcalinidade é produzida na forma de íons de hidróxido (OH^-) e íons bicarbonato (HCO_3^-), sendo este último proveniente da dissolução de CO_2 no meio líquido (GERARDI, 2006b). Na nitrificação, a oxidação de um mol de amônia resulta na produção de 2 moles de H^+ (equação 3), o que contribui para reduzir o pH do meio. Já na desnitrificação, a redução de um mol de NO_3^- implica na produção de um mol de OH^- (equações 6 a 8), elevando o pH. Assim, é possível recuperar cerca de 50% da alcalinidade caso seja adotada a nitrificação seguida de desnitrificação. O consumo de alcalinidade no processo de nitrificação passa de 7,1 $mg.L^{-1}$ a apenas 3,5 $mg.L^{-1}$ (VON SPERLING, 2002).

3.3.1.3 Características da remoção de nitrogênio pelos processos tradicionais de tratamento

A nitrificação é um processo aeróbio e, portanto, para garantir uma eficiente oxidação dos compostos nitrogenados é necessária a utilização de grandes quantidades de OD. Este oxigênio é provido por meio de aeradores, sopradores, entre outros, os quais requerem grandes quantidades de energia para funcionar, aumentando o custo de operação (KARTAL; KUENEN; VAN LOOSDRECHT, 2010; MA *et al.*, 2016).

Quanto a desnitrificação, a necessidade de uma fonte externa de carbono, contribui para aumentar os custos de operação (CHUANG *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2017). O metanol, é bastante utilizado como fonte externa e, apesar de ser considerada em diversos países uma opção de menor custo em relação às demais, a exposição ao mesmo pode ser perigosa devido a apresentar toxicidade a seres humanos caso ingerido, inalado ou absorvido pela pele em quantidades suficientes. Os principais efeitos adversos da alta exposição são tonturas, visão embaçada, dores de cabeça e dores abdominais (EDLUND, 2011).

Outra característica associada à desnitrificação, é a geração do óxido nitroso (N_2O) como produto intermediário o qual é um poderoso gás de efeito estufa, que apesar de presente em menores proporções do que o CO_2 , seu efeito para o aquecimento é cerca de 300 vezes maior (CHO *et al.*, 2010; HU *et al.*, 2013; MADIGAN *et al.*, 2016c). De acordo com Jetten (2008), a desnitrificação é uma das maiores fontes de NO e N_2O na atmosfera.

Nesse sentido, uma alternativa aos processos tradicionais de remoção de nitrogênio é o processo Anammox.

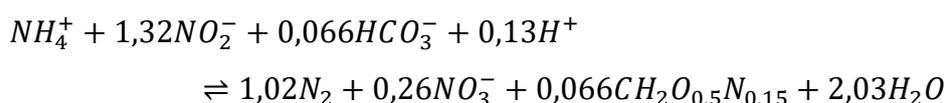
3.3.2 Processo Anammox

Mulder *et al.* (1995) observou remoção de amônia e simultânea produção de N_2 em um reator desnitrificante de leito fluidizado localizado em uma fábrica de produção de fermento em pó em Delft, Holanda. O autor atribuiu a esta nova rota metabólica do ciclo do nitrogênio o nome de Anammox (**Anaerobic Ammonium-Oxidizing**).

A existência destes micro-organismos já havia sido prevista anteriormente por Broda (1977). Engelbert Broda, baseado em teorias termodinâmicas, descreveu a potencial existência de um grupo de bactérias capazes de oxidar amônia em condições anóxicas as quais, apenas cerca de 20 anos depois, viriam a ser descobertas.

Por meio do processo Anammox é possível, portanto, oxidar amônia diretamente para gás nitrogênio, sob condições anóxicas, tendo o nitrito como acceptor de elétrons. Trata-se de um processo completamente autotrófico, que utiliza CO₂ como única fonte de carbono (MA *et al.*, 2016; STROUS *et al.*, 1998).

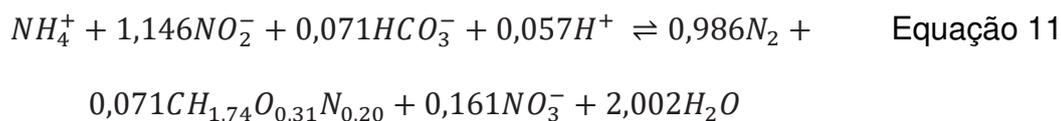
A estequiometria atualmente aceita foi calculada por Strous *et al.* (1998), conforme representado na Equação 10. O balanço de nitrogênio desta equação mostra que para cada mol de NH₄⁺ oxidado, são consumidos 1,32 mol de NO₂⁻ e produzidos 0,26 mol de NO₃⁻, ou seja, uma relação 1: 1,32: 0,26.



Equação 10

De acordo com a Equação 10, tem-se que a razão de consumo de NO₂⁻/NH₄⁺ é igual a 1,32, dado que pode servir para auxiliar a detecção do processo em um reator, por exemplo. Além disso, o nitrato pode indicar a presença do processo Anammox, servindo como uma medida do crescimento de biomassa (VAN LOOSDRECHT, 2008).

Lotti *et al.* (2014a) também propôs a estequiometria Anammox, baseada em biomassa suspensa cultivadas em Reator Biológico de Membrana (do inglês *Membrane Bioreactor* - MBR), conforme a Equação 11.



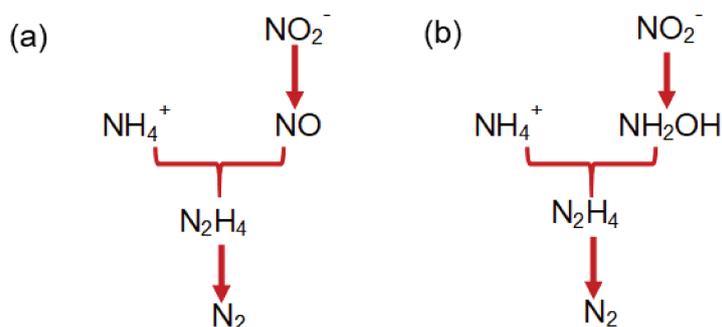
Van the Graaf *et al.* (1997) propuseram a rota metabólica do processo que consiste, primeiramente, na redução de nitrito a hidroxilamina (NH₂OH). Posteriormente, a amônia se condensa à hidroxilamina formada produzindo hidrazina (N₂H₄) e, finalmente, esta hidrazina é oxidada formando nitrogênio gasoso. Ainda não

há um consenso sobre os intermediários do processo, uma vez que algumas pesquisas apontam como sendo a hidroxilamina e outras o óxido nítrico (NO) (STEIN; KLOTZ, 2016; STROUS *et al.*, 2006; VAN LOOSDRECHT, 2008).

É importante ressaltar que, ao contrário do processo de desnitrificação, na rota metabólica das anammox o óxido nitroso (N_2O) não é formado como intermediário (BASSIN, 2011; VAN LOOSDRECHT, 2008). No entanto, a produção de N_2O foi detectada em algumas pesquisas que trabalhavam com nitrificação parcial/anammox (ALI *et al.*, 2016; CHUANG *et al.*, 2007; OKABE *et al.*, 2011; YANG; TRELA; PLAZA, 2016). A origem da produção ainda não é uma certeza, no entanto, suspeita-se da ação de desnitrificantes em zonas anóxicas criadas no sistema, como ocorre, por exemplo, no interior de espumas (CHUANG *et al.*, 2007) ou grânulos (OKABE *et al.*, 2011).

Na Figura 2, estão representadas as possíveis rotas metabólicas do processo Anammox, considerando o óxido nítrico (a) e hidroxilamina (b) como intermediários.

Figura 2 - Rotas metabólicas do processo Anammox e os possíveis intermediários: (a) óxido nítrico e (b) hidroxilamina.



Fonte: Adaptada de Bassin (2011).

Ainda com relação à rota metabólica do processo, não é comum a ocorrência de hidrazina como composto intermediário nas conversões microbiológicas de nitrogênio, porém, tal fato é visto de forma positiva uma vez que se trata de um composto que, ainda que tóxico, é energeticamente rico e pode ser utilizado como fonte de energia pelas bactérias (KUENEN, 2008; VAN DE GRAAF *et al.*, 1997).

As bactérias anammox possuem forma de cocos (esférica) e diâmetro menor que $1 \mu\text{m}$ (BASSIN, 2011; NIFTRIK *et al.*, 2004). Além disso, apresentam

coloração marrom-avermelhada, provavelmente devido ao alto conteúdo de citocromos presente em suas células (BASSIN, 2011; JETTEN *et al.*, 1999). Strous *et al.* (1999a) identificou filogeneticamente as anammox como sendo pertencentes ao filo *Planctomyces*. Outra importante característica das anammox, é a presença de um compartimento especial, denominado anamoxossomo, onde ocorrem as reações catabólicas de conversão da amônia e nitrito à nitrogênio gasoso (KALLISTOVA *et al.*, 2016; KUYPERS *et al.*, 2003). O anamoxossomo tem a ainda a importante função de armazenar os intermediários tóxicos gerados no processo, protegendo o restante da célula (VAN NIFTRIK *et al.*, 2004).

As bactérias anammox apresentam crescimento lento, com tempo de duplicação de aproximadamente 11 dias, no entanto algumas pesquisas reportaram tempos menores (STROUS *et al.*, 1998). Van der Star *et al.* (2008) reportou tempo de duplicação de 5,5 a 7,5 dias, operando MBR a 38 °C e pH entre 7,1 e 7,5. Lotti *et al.* (2014a) também operando MBR, obtiveram, para o gênero, *Ca. B. sinica* tempo de duplicação de 3,3 dias a 30 °C e pH entre 6,8 a 7,5. Recentemente, Zhang *et al.* (2017) revisaram a taxa máxima de crescimento específico das bactérias anammox (μ_{max}). Os autores cultivaram as bactérias imobilizadas em matrizes de gel e também em reator MBR, porém sem limitação de substrato e a 37° C. Como resultado, foi obtido uma μ_{max} igual a $0.33 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ e 0.18 d^{-1} (correspondente a 2,1 d e 3,9 d) para os gêneros *Ca. B. sinica* e *Ca. J. caeni*, respectivamente. É possível perceber, portanto, que as bactérias anammox quando cultivadas em reatores que propiciem retenção de biomassa, podem apresentar menor tempo de duplicação.

As bactérias anammox possuem um metabolismo versátil e a cada vez mais descobertas surpreendentes a seu respeito têm sido feitas. Ao contrário do que se pensava, as anammox não são quimiolitotróficas estritas, uma vez que podem utilizar ferro e óxidos de manganês como aceptor de elétrons ao invés de apenas o nitrito (KALLISTOVA *et al.*, 2016). Também são capazes de utilizar alguns compostos como propionato e acetato como fonte de carbono, ao invés de CO₂ (NOZHEVNIKOVA; SIMANKOVA; LITTI, 2012). Além disso, foi descoberto recentemente que podem realizar o processo de Redução Dissimilatória de Nitrato a Amônia (ou do inglês *Dissimilatory Nitrate Neduction to Ammonium* – DNRA) formando nitrito como composto intermediário. Neste processo, podem reduzir nitrato ao intermediário nitrito (DNRA parcial) e combiná-lo com a amônia já presente no meio

para realizar o processo Anammox. Ou ainda, podem converter parte do nitrato a nitrito (DNRA parcial) e outra parte a amônia (DNRA completa) e, posteriormente, utilizá-los no processo Anammox (CASTRO-BARROS *et al.*, 2017; KARTAL *et al.*, 2007a).

Muitos esforços têm sido dedicados para descoberta e mapeamento de novos gêneros e espécies de bactérias anammox, porém, até o momento nenhuma cultura pura foi isolada (KALLISTOVA *et al.*, 2016). Devido a isto, as bactérias já identificadas recebem o status taxonômico “*Candidatus*”, por serem “candidatas a gênero”. Seis gêneros de bactérias anammox já foram descobertas: *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia*, *Candidatus Scalindua*, *Candidatus Anammoxoglobus*, *Candidatus Jettenia* e *Candidatus Anammoxomicrobium* e, mais de 20 espécies (ALI; OKABE, 2015), como apresentado na Tabela 2.

De acordo com as pesquisas de Oshiki, Satoh e Okabe (2016) e Leal (2015), as bactérias anammox podem ser encontradas em vários tipos de ambientes: terrestre, marinho, água doce, mangues, sedimentos marinhos e água doce, e ainda em ambientes com condições extremas como reservatórios de petróleo, tanques de tratamento de chorume, bacias hipersalinas, gelo, entre outros.

Tabela 2 - Referências dos gêneros e espécies das bactérias anammox e a origem de seu inóculo.

Gênero	Espécie	Origem do inóculo	Referência
Brocadia	<i>Candidatus Brocadia anammoxidans</i>	Lodo de reator desnitrificante/anammox	Jetten <i>et al.</i> (2001)
	<i>Candidatus Brocadia fulgida</i>	Lodos ativados	Kartal <i>et al.</i> (2008)
	<i>Candidatus Brocadia sinica</i>	Diversas fontes de sementeira, inclusive cruzamentos	Hu <i>et al.</i> (2010)
	<i>Candidatus Brocadia caroliniensis</i>	Lodo de tratamento de esterco suíno Reator	Vanotti, Szogi e Rothrock Júnior (2011)
	<i>Candidatus Brocadia brasiliensis</i>	Lodos ativados	Araujo <i>et al.</i> (2011)
	<i>Candidatus Brocadia sapporoensis</i>	Bifilme de reator de fluxo ascendente	Narita <i>et al.</i> (2017)
Scalindua	<i>Candidatus Scalindua brodae</i>	Lodos ativados	Schmid <i>et al.</i> (2003)
	<i>Candidatus Scalindua wagneri</i>	Lodos ativados	Schmid <i>et al.</i> (2003)
	<i>Candidatus Scalindua sorokinii</i>	Zonas suboxicas do Mar Negro	Kuypers <i>et al.</i> (2003)
	<i>Candidatus Scalindua arabica</i>	Zonas suboxicas do Mar Negro, Mar Árábico e região costeira da Namíbia e Peru	Woebken <i>et al.</i> (2008)
	<i>Candidatus Scalindua sinooifield</i>	Reservatórios de petróleo	Li <i>et al.</i> (2010)
	<i>Candidatus Scalindua zhenghei</i>	Sedimento da subsuperfície do Mar da China Meridional	Hong <i>et al.</i> (2011)
	<i>Candidatus Scalindua richardsii</i>	Zonas suboxicas do Mar Negro	Fuchsman <i>et al.</i> (2012)
	<i>Candidatus Scalindua profunda</i>	Sedimento marinho	van de Vossenberg <i>et al.</i> (2013)
	<i>Candidatus Scalindua japonica</i>	Sedimento da Baía de Hiroshima	Oshiki <i>et al.</i> (2017)
Anammoxoglobus	<i>Candidatus Anammoxoglobus propionicus</i>	Lodos ativados	Kartal <i>et al.</i> (2007b)
	<i>Candidatus Anammoxoglobus sulfate</i>	Lodo de reator anammox	Liu <i>et al.</i> (2008)
	<i>Candidatus Jettenia asiática</i>	Biomassa de reator desnitrificante	Tsushima <i>et al.</i> (2007)
Jettenia	<i>Candidatus Jettenia caeni</i>	Lodos ativados	Ali <i>et al.</i> (2015)
	<i>Candidatus Jettenia moscovienalis</i>	Lodos ativados	Nikolaev <i>et al.</i> (2015)
Kuenenia	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	Lodos ativados	Schmid <i>et al.</i> (2000)
Anammoximicrobium	<i>Candidatus Anammoximicrobium moscowii</i>	Lodo do fundo do rio Moskva	Khramenkov <i>et al.</i> (2013)

3.3.2.1 Configurações de reatores Anammox

Para realização do processo, é preciso que metade da amônia contida no efluente seja oxidada a nitrito, disponibilizando dessa forma, os substratos necessários em quantidades adequadas (BASSIN, 2011). Este processo é denominado nitrificação parcial ou nitritação e é exercido pelas BOA, conforme demonstrado na Equação 2 (CASTRO-BARROS *et al.*, 2017; NOZHEVNIKOVA *et al.*, 2012; SIMANKOVA; LITTI, 2012). Nesse sentido, são utilizadas diversas abordagens para garantir a retenção seletiva das BOA e inibir o crescimento das BON no sistema (CASTRO-BARROS *et al.*, 2017). Estas técnicas são mencionadas com maior detalhe nos estudos de Nozhevnikova *et al.* (2011), Mao *et al.* (2017) e Xu *et al.* (2015).

Existem duas principais configurações em que o processo pode se estabelecer para promover a NP/A (Nitrificação Parcial/Anammox): dois reatores ou apenas um reator. Como o próprio nome sugere, na configuração de dois reatores, a nitrificação parcial é alcançada em um reator e, posteriormente, o efluente é direcionado a um segundo reator Anammox. Já na configuração de um único reator, a NP/A ocorrem no mesmo reator (ALI; OKABE, 2015; BASSIN, 2011; GONZALEZ-MARTINEZ *et al.*, 2015; MAO *et al.*, 2017). Na Tabela 3, constam as tecnologias e as aplicações para as respectivas configurações, dois reatores ou um reator.

Tabela 3 - Configurações com um ou dois reatores e as respectivas tecnologias e aplicações.

Configuração	Tecnologia	Aplicações
Dois reatores	SHARON	Guillén <i>et al.</i> (2016) Shalini e Joseph (2013) van der Star <i>et al.</i> (2007)
	DEAMOX	Kalyuzhnyi <i>et al.</i> (2006) Mulder, Versprille e van Braak (2012)
	NAS	Desloover <i>et al.</i> (2011)
Um reator	CANON	Daverey <i>et al.</i> (2013) Peng <i>et al.</i> (2013) Third <i>et al.</i> (2005) Zhang <i>et al.</i> (2010b)
	DEMON	Wett (2007)
	OLAND	Monballiu <i>et al.</i> (2013) Vlaeminck, de Clippeleir e Verstraete (2012)
	SNAD	Chen <i>et al.</i> (2009) Lan <i>et al.</i> (2011)
	ANITA Mox	Christensson <i>et al.</i> (2013)
	NITRAMMOX	Bonassa <i>et al.</i> (2019)

SHARON - do inglês *Single reactor High Activity ammonia Removal Over Nitrite*

DEAMOX - do inglês *Denitrifying Ammonium Oxidation*

NAS - do inglês *New Activated Sludge*

CANON – do inglês *Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrate*

DEMON - do inglês *pH-Controlled Deammonification system* ou desamonificação

OLAND – do inglês *Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification*

SNAD – do inglês *Simultaneous Nitrification Anammox and Denitrification*

O processo Anammox tem sido designado por diversos acrônimos, como mostrado na Tabela 3. No entanto, é importante ressaltar, que todos eles se referem ao mesmo tipo de tratamento, nitrificação parcial e anammox, atuando em um mesmo reator ou em reatores separados (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 2008). O que muda de uma tecnologia para outra são alguns manejos operacionais, como por exemplo na OLAND em que é realizada limitação de oxigênio a fim de favorecer as AOB e, conseqüentemente, a oxidação parcial da amônia (VAN HAANDEL; KATO; VON SPERLING, 2009). Já a ANITATM Mox, é baseada no desenvolvimento de biofilmes utilizando meio suporte AnoxKaldnes normalmente em reatores MBBR (Reator de Biofilme de Leito Móvel, do inglês *moving bed biofilm reactor*) (CHRISTENSSON *et al.*, 2013).

3.3.2.2 Características do processo Anammox

O processo Anammox tem demonstrado ser uma alternativa para a remoção de nitrogênio com um bom custo-benefício (AHN, 2006; KALISTOVA *et al.*, 2015; KARTAL; KUENEN; VAN LOOSDRECHT, 2010; MA *et al.*, 2016). Isto porque, devido ao processo ser autotrófico, não requer carbono orgânico para o crescimento celular e, portanto, a adição de fonte de externa de carbono não é necessária como na desnitrificação. Ainda, como a amônia é oxidada apenas até nitrito no processo de nitrificação parcial, o consumo de energia no Anammox é substancialmente menor que na nitrificação/desnitrificação (redução de cerca de 60%) (TCHOBANOGLOUS; BURTON; STENSEL, 2014b; NARITA *et al.*, 2017; TOMASZEWSKI; CEMA; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA, 2017; VAN DONGEN; JETTEN; VAN LOOSDRECHT, 2001).

Devido a estas características, o processo Anammox foi escolhido para a realização desta pesquisa.

3.4 Aplicações do processo Anammox

O processo Anammox tem sido amplamente aplicado no tratamento de efluentes de diversos processos industriais, como alimentícios e de abate de animais, tratamento de lixiviados e ainda em efluentes proveniente de digestores de lodo, os denominados *sidestream* (MAO *et al.*, 2017; NOZHEVNIKOVA; SIMANKOVA; LITTI, 2012). O efluente de tais aplicações contém altas concentrações de amônia e baixas concentrações de carbono, ou seja, baixa relação C/N (ALI; OKABE, 2015; LEAL *et al.*, 2016). Na Tabela 4, constam alguns exemplos de aplicações do processo utilizando diferentes tecnologias e tipos de efluentes, e operadas em localidades distintas. Algumas delas foram realizadas em escala de bancada.

Tabela 4 - Aplicações do Anammox utilizando diferentes tecnologias e tipos de efluentes.

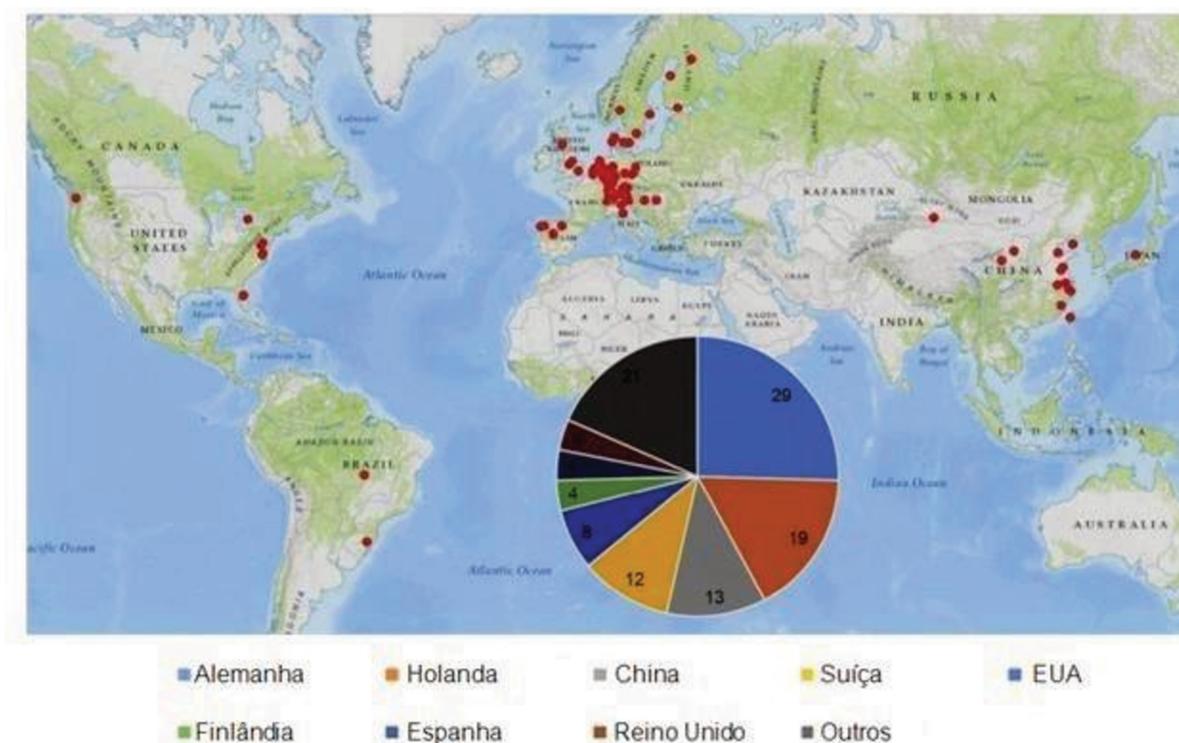
Tecnologia usada	Tipo de efluente	Localização	Referência
NAS ^a (dois reatores)	Indústria alimentícia (batata)	Holanda	Desloover <i>et al.</i> (2011)
Sharon- Anammox	Sidestream da estação de tratamento Dokhaven	Holanda	van der Star <i>et al.</i> (2007)
Sharon- Anammox	Indústria de semicondutores	Japão	Tokutomi <i>et al.</i> (2011)
ANITA Mox	Água de rejeito	Suécia	Chistensson <i>et al.</i> (2013)
SNAD ^b	Indústria de fertilizante	Índia (Bancada)	Keluskar, Nerurkar e Desai (2013)
Sharon- Anammox	Suíno	Japão (Bancada)	Yamamoto <i>et al.</i> (2008)
DEMON	Água de rejeito	Áustria	Wett (2007)
Lodos Ativados (lodo anammox)	Lixiviado	Alemanha	Azari <i>et al.</i> (2017)
CANON	Indústria Optoeletrônica	Taiwan (Bancada)	Daverey <i>et al.</i> (2013)

^aNAS – do inglês new activated sludge (novo lodo ativado)

^bSNAD – do inglês simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (simultânea nitrificação parcial, anammox e desnitrificação)

Lackner *et al.* (2014) reportou a existência de mais de 100 instalações em escala plena utilizando o processo Anammox, tratando efluentes de origem industrial, com baixa relação C/N. De acordo com o mesmo estudo, a maior parte das estações estão localizadas na Europa. O país com maior número de estações que operam com o processo anammox é a Alemanha, seguida da Holanda e China, como representado na Figura 3 (ALI; OKABE, 2015).

Figura 3 - Distribuição geográfica de estações de tratamento em escala plena que utilizam reator Anammox.



Fonte: Adaptado de Ali e Okabe (2015).

Estudos têm sido realizados para aplicação do Anammox também em efluentes que contenham maiores relações C/N, como é o caso dos efluentes domésticos (*mainstream*) após tratamento anaeróbico (por exemplo UASB) (FERNANDES *et al.*, 2018; LEAL *et al.*, 2016; LOTTI *et al.*, 2014b, 2015). No entanto, ainda há muitos desafios a serem vencidos, como a baixa temperatura destes efluentes (não ideal para anammox) e as menores concentrações de amônia, as quais podem culminar em perda de vantagem seletiva das BOA sobre as BON (ALI; OKABE, 2015; MAO *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2015). Dessa forma, assim como a presente pesquisa, estudos que objetivam melhor compreender o processo Anammox utilizando efluente com características semelhantes à do doméstico, são considerados relevantes.

3.5 Fatores intervenientes na atividade Anammox

Fatores como concentração de substratos, pH e temperatura, concentração de OD e biomassa, podem interferir na atividade anammox de forma positiva (elevando a taxa de crescimento) ou negativa (inibindo o processo). Conhecer esses

parâmetros para melhor ajustá-los aos requisitos do processo é de fundamental importância para o sucesso das aplicações e da operação de reatores. Esses fatores serão descritos com mais detalhes nos itens que seguem.

3.5.1 Concentração de substratos

Conforme podemos ver na Equação 10, amônia e nitrito são substratos fundamentais para realização do processo Anammox, porém alguns cuidados devem ser tomados. No caso do nitrito, se ocorrer em concentrações muito baixas, pode limitar o crescimento das bactérias anammox, já em concentrações mais elevadas pode provocar inibição do processo. Vários estudos que demonstram inibição por nitrito podem ser encontrados na literatura, porém não há consenso sobre o valor limite. Jin *et al.* (2012) ressaltam que isto pode acontecer pelas características operacionais utilizadas serem diferentes de teste para teste.

Strous *et al.* (1999b) verificou que as bactérias anammox foram completamente inibidas em concentrações de nitrito maiores que $0,1 \text{ gN.L}^{-1}$. O autor destacou ainda que a adição de quantidades traço de hidrazina e hidroxilamina, podem auxiliar na reversão da inibição por nitrito. Dapena-Mora *et al.* (2007) demonstrou por meio de testes de atividade que nitrito provoca 50% de inibição quando em concentração igual/superior a 350 mgN.L^{-1} . Lotti *et al.* (2012) verificou que o aumento do tempo de exposição e concentração de nitrito aumentam a inibição. Eles encontraram que 400 mgN.L^{-1} resultava em 50% de inibição. Os autores mostraram ainda, que a inibição é reversível em concentração de nitrito até 1000 mg.L^{-1} dentro de 24 horas de exposição.

Quanto à inibição por amônia, estudos mostram que a mesma só ocorre para concentrações bem elevadas. Dapena-Mora *et al.* (2007) mostrou que concentrações de amônia e nitrato iguais a 770 e 630 mgN.L^{-1} , respectivamente, são capazes de inibir o processo em 50%.

Jin *et al.* (2012) resumiu em sua pesquisa diversos aspectos potencialmente causadores de inibição no processo Anammox, como salinidade, matéria orgânica tóxica (álcoois, aldeídos, fenóis, antibióticos), matéria orgânica não tóxica, metais pesados, fosfatos, sulfatos, entre outros, e concluiu que todos estes, acima de uma determinada concentração limite, podem provocar inibições.

3.5.2 Temperatura e pH

A temperatura é um parâmetro muito importante quando se trabalha com bactérias anammox, uma vez que influencia diretamente a velocidade dos processos metabólicos e o crescimento celular (MA *et al.* 2016).

Para o processo Anammox, a faixa ideal de pH é de 6,7 a 8,3 com ótimo em 8,0. A faixa de temperatura usual para o processo é de 30-35°C (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014b). De acordo com Wang *et al.* (2019) a faixa de temperatura que favorece o processo Anammox é de 30 a 38°C.

Egli *et al.* (2001) observou atividade anammox em pH entre 6,5 e 9 e temperatura ótima igual a 37°C. Dosta *et al.* (2008) observou máxima atividade em temperatura de 35 a 40°C e inibição a 45°C, uma vez que, nesta temperatura ocorreu lise celular.

Tomaszewski, Cema e Ziembinska-Buczynska (2017) realizaram experimento sobre a interferência da temperatura e na atividade anammox variando de 10°C a 40°C em pH fixo igual a 7,5 e um segundo teste sobre a interferência do pH, variando de 6,0 a 9,0 em temperatura fixa de 30°C. Como resultados, foi observada dependência da atividade anammox sobre temperatura, já que o maior crescimento de biomassa ocorreu a 40°C e menor a 10°C. Quanto ao pH, a maior atividade obtida foi em pH 7,0 e 7,5. O autor concluiu por meio de testes estatísticos que temperatura e pH afetam o crescimento das anammox.

Guillén *et al.* (2015a) deram partida em dois FBP (filtros biológicos percoladores), um deles a 30°C e o outro a 20°C e concluiu que a 30°C o reator estabilizou e atingiu uma maior taxa de remoção de nitrogênio mais rapidamente.

Recentemente, Fernandes *et al.* (2018) estudaram o efeito da variação de uma faixa de temperatura típica tropical (20-30°C) quanto à remoção de nitrogênio e comunidade microbiana. Os autores utilizaram reator do tipo batelada sequencial (RBS) e a alimentação foi realizada com efluente anaeróbio pré-tratado acrescido de nitrito (reproduzindo uma situação de *mainstream*). Os resultados mostraram que em todas as temperaturas testadas (30, 25 e 20°C), a remoção de nitrogênio foi acima de 90%, demonstrando viabilidade de utilizar o processo Anammox no tratamento de efluentes *mainstream* em países de clima tropical (como o Brasil).

Apesar da maior parte dos estudos serem realizados em temperatura acima de 25°C, alguns avanços têm sido feitos para conciliar uma boa remoção de nitrogênio em temperaturas mais baixas. Ma *et al.* (2013) operando reator UASB-Anammox mostrou que ao reduzir a temperatura de 30°C para 16°C, não houve mudança na morfologia dos grãos ou redução do número de células anammox. Além disso, a eficiência de remoção de nitrito reduziu apenas cerca de 2% e de amônia 14%.

Dosta *et al.* (2008) operando reator batelada sequencial (RBS) reportou sucesso operacional até 18°C, porém, a 15 °C o sistema teve perda de eficiência na remoção de nitrito e este substrato começou a acumular.

3.5.3 Concentração de Oxigênio Dissolvido (OD)

Como as bactérias Anammox são anaeróbias estritas, é de fundamental importância que o OD seja monitorado no sistema de forma a evitar inibição das mesmas (BASSIN, 2011).

Kimura, Isaka e Kazama (2011) analisaram os efeitos provocados pela introdução de afluente com até 5 mgO₂.L⁻¹ e verificou que até 2,5 mgO₂.L⁻¹ a atividade anammox não foi afetada. O autor avaliou ainda formas de recuperar a atividade após inibição e concluiu que reduzir a concentração de OD borbulhando gás argônio ou nitrogênio logo após a inibição é suficiente.

Jung *et al.* (2007) analisaram a influência do OD no período de *start-up* de reatores UASB-Anammox. Durante os primeiros 83 dias, não foram realizados controle de OD. Porém, ao borbulhar argônio suficientemente até 0,2 mg.L⁻¹, notaram rápido aumento na remoção de amônia, de 10 para 30 gN.m⁻³.d⁻¹.

Semelhantemente, Guillén *et al.* (2015a) operando dois FBP em escala de bancada, perceberam instabilidade na atividade anammox e acúmulo de nitrato durante parte do *start-up*. Do dia 43 em diante, passaram a borbulhar gás nitrogênio (N₂) no afluente e instalaram sistemas de captura de oxigênio (*scavenger*) no *headspace* dos reservatórios do efluente sintético. Após estes procedimentos, os autores notaram aumento da atividade anammox, e concluíram que antes do dia 43 as bactérias estavam inibidas pelo OD, e atividade de BOA e BON predominavam nos reatores, já que as mesmas utilizam oxigênio em seus processos metabólicos.

3.5.4 Crescimento e retenção de biomassa anammox

O *start-up* do reator anammox é uma das limitações da aplicação do processo (IBRAHIM *et al.*, 2015; MAO *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2009). Como estas bactérias possuem crescimento lento, característica comum aos seres autotróficos, atingir uma boa quantidade de biomassa em um reator é um processo bastante delicado e demorado (ARAUJO *et al.*, 2010; NOZHEVNIKOVA *et al.*, 2012). Assim, como as anammox ainda não foram isoladas em cultura pura, diversos trabalhos de enriquecimento têm sido desenvolvidos, contribuindo para o estudo microbiológico e redução do *start-up* (ARAUJO *et al.*, 2010; BAE *et al.*, 2015; SHEN *et al.*, 2012; THIRD *et al.*, 2005; ZEKKER *et al.*, 2012).

Outro problema decorrente do lento crescimento dessas bactérias e que prejudica o acúmulo de biomassa no sistema, são as perdas por arraste das células do sistema e flotações por acúmulo de gás dentro dos grânulos (BATISTONE; KELLER, 2001; IBRAHIM *et al.*, 2015; NOZHEVNIKOVA *et al.*, 2012; MA *et al.*, 2016).

Nesse sentido, o crescimento em biofilmes (aderido) representa uma importante estratégia para o desenvolvimento das bactérias anammox (ZHANG, *et al.*, 2010a). O biofilme proporciona grande concentração de células, fixadas a um material suporte por meio da produção de substâncias poliméricas extracelulares (também conhecida como EPS, do inglês *extracellular polymeric substance*) (SHENG; YU; LI, 2010). Os substratos necessários ao crescimento das bactérias são transportados para as camadas mais internas do biofilme por difusão. Já os produtos finais do metabolismo são transportados no sentido oposto (para fora do biofilme), também por difusão (GONÇALVES, 2007; MORGENROTH, 2008a).

O crescimento aderido é vantajoso para bactérias de crescimento lento pois favorece o acúmulo de biomassa ativa, ou seja, contribui para elevar a idade do lodo (θ_c). Além disso, como as bactérias estão aderidas, é possível operar reatores com tempo de detenção hidráulica (TDH) menores do que o tempo de geração celular sem que as bactérias sejam lavadas do sistema (MORGENROTH, 2008a; VON SPERLING, 1996).

Outros pontos positivos do crescimento em biofilmes são: maior proteção contra substâncias tóxicas, resistência a forças físicas, evitando que sejam facilmente lavadas do sistema, e maior atividade com consequente aumento na taxa de remoção

de substrato, uma vez que as células aderidas são continuamente expostas a novos substratos. (MADIGAN *et al.*, 2016d; NOZHEVNIKOVA *et al.*, 2012; VON SPERLING, 1996; XIAO *et al.*, 2009). Gilbert *et al.* (2014, 2015) observaram, operando reator MBBR, que em biofilmes mais espessos (kaldnes K3, espessura igual a 10mm), as bactérias anammox tiveram uma melhor performance e obtiveram uma maior resistência à menores temperaturas.

Ao trabalhar com biofilmes, alguns cuidados devem ser tomados com relação à sua espessura. Espessuras muito finas proporcionam à todas as bactérias mesmas condições para seu crescimento, semelhantemente ao que ocorre no crescimento disperso. Se o biofilme for muito espesso, como no caso de sistemas que recebem elevadas cargas orgânicas, os substratos difundidos podem não atingir as camadas mais internas, diminuindo a atividade bacteriana nas mesmas, passando a predominar a respiração endógena. Nestes casos, a aderência entre o meio suporte e biofilme diminuirá, como consequência, partes de biomassa poderão sair junto com o efluente, sendo removidas no decantador secundário (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014c; VON SPERLING, 1996).

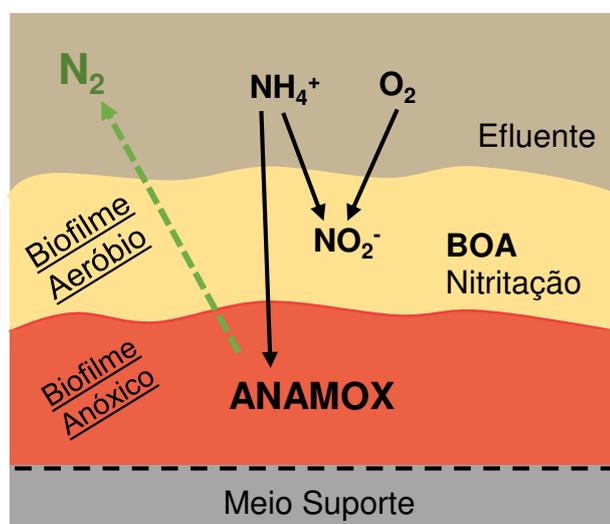
Diversos micro-organismos, com seus mais diversos metabolismos, são capazes de coexistir nas camadas do biofilme, cada um atuando no seu micro nicho (LU; CHANDRAN; STENSEL, 2014). Essa coexistência é de especial interesse no tratamento de efluentes por permitir a remoção simultânea de poluentes como nitrogênio e matéria orgânica (NOZHEVNIKOVA; BOTCHKOVA; PLAKUNOV, 2015).

Nos biofilmes, é possível estabelecer um gradiente de oxigênio, proporcionando coexistência de zonas aeróbias, e zonas anaeróbias/anóxicas. Normalmente as camadas mais internas do biofilme são anaeróbias, porém, dependendo da concentração de nitratos, podem se tornar anóxicas (WILSENACH *et al.*, 2014). Desse modo, os micro-organismos com mais afinidade ao oxigênio se estabelecem em partes mais externas do biofilme e, à medida que a concentração de oxigênio vai reduzindo nas camadas mais internas, é possível encontrar micro-organismos que possuem menor afinidade com o oxigênio, como é o caso das bactérias anammox (VON SPERLING, 1996).

A coexistência de BOA e anammox no biofilme é vantajosa e comum, uma vez que, as BOA fornecem nitrito para as anammox, favorecendo a NP/A (KALISTOVA

et al., 2015; LANGONE, *et al.*, 2014). Além disso, as BOA, por se localizarem nas camadas mais externas do biofilme (zona aeróbia), protegem as anammox, que estão localizadas nas partes mais internas (zona anóxica) de inibições por contato com oxigênio (KALISTOVA *et al.*, 2015; LIN *et al.*, 2014). Na Figura 4 está representado um biofilme com coexistência de BOA e anammox, bem como os respectivos substratos da NP/A.

Figura 4 - Coexistência de bactérias BOA e Anammox em biofilme e os respectivos substratos para realização do processo Anammox.



Fonte: Adaptado de von Sperling (1996) para o processo Anammox.

Xiao *et al.* (2009), operando reator de batelada sequencial com biofilme (RBSB), observou coexistência de micro-organismos nitrificantes (BOA e BON), desnitrificantes (aeróbias e anaeróbias) e anammox. O sistema apresentou alta eficiência de remoção de amônia (97%) e matéria orgânica (86%).

Mc Conell *et al.* (2015) operaram FBP preenchido com espumas de poliuretano em escala piloto, atuando como pós tratamento de UASB. Os autores reportaram coexistência de bactérias nitrificantes, desnitrificantes e anammox e boa remoção simultânea de carbono e nitrogênio do efluente.

Botchkova *et al.* (2014), cultivou anammox em reator híbrido anaeróbio de fluxo ascendente à 30°C, utilizando como meio suporte fios flexíveis de polímero. Os autores observaram coexistência entre diferentes espécies de anammox e outros micro-organismos, como bactérias heterotróficas. Os autores destacaram ainda, que as bactérias anammox possuem grande habilidade em formar biofilmes.

3.5.4.1 Meio suporte e o crescimento aderido de biomassa

O meio suporte é a estrutura que servirá de base para o desenvolvimento do biofilme e sua escolha é essencial para o bom e eficiente funcionamento do reator (GONÇALVES, 2007; FLORÊNCIO *et al.*, 2009; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014c). Dependendo da configuração, o biofilme poderá se desenvolver aderido à superfície do material ou ainda em seus interstícios (CHERNICHARO, 1997)

Há alguns requisitos que um bom meio suporte deverá atender: ser estruturalmente resistente, biologicamente inerte e quimicamente estável, apresentar leveza, ter grande área específica de modo a garantir a máxima aderência de sólidos, ser viável economicamente e ter em abundância no local que o reator será instalado (CHERNICHARO, 1997; GONÇALVES, 2007; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014c). Além disto, é importante que a porosidade do meio suporte permita boa difusão dos substratos, com o mínimo de entupimentos (FLORÊNCIO *et al.*, 2009).

Diversas pesquisas que aplicam o processo Anammox têm optado por utilizar meio suporte, dentre eles: Kaldnes ou anéis de plástico corrugado (GILBERT *et al.*, 2014; WINKLER *et al.*, 2012), *non-woven* (CHEN *et al.*, 2009; NI *et al.*, 2012; REN *et al.*, 2018), cordas de nylon (CHATTERJEE *et al.*, 2016) e espumas de poliuretano (CHUANG *et al.*, 2008; OKUBO *et al.*, 2015; GUILLÉN *et al.*, 2015a e 2015b; ZHANG *et al.*, 2010a).

Em particular, as espumas de poliuretano têm demonstrado boa eficiência como material suporte devido à elevada quantidade de espaços vazios (mais de 90%), o que resulta em uma grande área específica para formação de biofilme (TANDUKAR *et al.*, 2006). As espumas permitem ainda boa retenção de biomassa e baixa difusão de oxigênio, contribuindo para coexistência de zonas aeróbias e anóxicas/anaeróbias, favorecendo a diversidade metabólica no sistema (GUILLÉN *et al.*, 2015a).

Mesmo que esta tecnologia seja parcialmente aberta com o oxigênio circulando livremente, é possível estabelecer condições anóxicas no biofilme formado, proporcionando as condições ideais para desenvolvimento das anammox (WATARI *et al.*, 2016).

Tandukar *et al.* (2006) estudou um FBP preenchido com espumas, denominado *Downflow Hanging Sponge* (DHS) como pós tratamento de UASB. O sistema demonstrou boa eficiência na remoção de DBO, DQO e SS (sólidos suspensos): 95%, 80% e 70%, respectivamente.

No estudo de Almeida, Oliveira e Chernicharo (2011), foi operado um FBP pós-UASB dividido em 4 compartimentos preenchidos com diferentes materiais suportes: escória de alto forno, apara de conduíte corrugado, anéis de plástico e espumas de poliuretano. O FBP operado com espumas (DHS), obteve o melhor desempenho na remoção de DQO e sólidos suspensos totais (SST), o qual foi atribuído à maior retenção de sólidos na espuma e maior idade do lodo. O sistema DHS ainda se mostrou robusto em casos de limitação e sobrecarga de carga hidráulica e orgânica, fato atribuído à estabilidade do biofilme formado nos interstícios das espumas.

Em uma pesquisa posterior, Almeida *et al.* (2013) comparou o desempenho quanto à remoção de carbono e nitrogênio de dois FBP: um preenchido com meio suporte de plástico corrugado com seus interstícios preenchidos com espumas (Rotosponge) e apenas com de plástico corrugado (Rotopack). Os autores observaram melhor eficiência da Rotosponge na remoção de carbono e amônia (para este último, cerca de 80% em comparação a 40-50% utilizando Rotopack). Ainda, foi reportado a presença de bactérias anammox nas zonas anóxicas formadas no biofilme, contribuindo para a remoção de nitrogênio.

3.6 Filtro Biológico Percolador

Como mencionado, por serem micro-organismos de crescimento lento, é importante que as anammox sejam cultivadas em reatores que proporcionem retenção de biomassa. Assim, uma tecnologia viável é Filtro Biológico Percolador (FBP).

Este sistema consiste em um tanque aeróbio, normalmente circular, preenchido com meio suporte (comumente brita, escória de alto forno, materiais plásticos em formatos variados, pedaços de bambu ou madeira) sobre o qual a biomassa irá crescer aderida. O efluente é aplicado na parte superior, em gotas ou jatos, e percola de forma descendente permitindo o contato entre o substrato e o

biofilme formado (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014c; CHERNICHARO, 1997).

À medida que a biomassa cresce no reator, os espaços vazios por onde o líquido percola tendem a diminuir, aumentando, conseqüentemente, a velocidade de escoamento nos poros. Dessa forma, será gerada uma tensão de cisalhamento, a qual irá desgrudar parte da biomassa que sairá junto com o efluente, ocasionando, assim, um controle natural da espessura do biofilme (MORGENROTH, 2008b).

A entrada de oxigênio no sistema é importante para manter as condições aeróbias e prevenir maus odores, normalmente, é realizada de forma natural por convecção, baseada na diferença de temperatura entre o ambiente e o interior do filtro (JORDÃO; PESSÔA, 2011; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014d).

Como a ventilação pode ser feita naturalmente, à medida que o líquido percola pelo reator, a demanda de OD dos micro-organismos aeróbios (localizados nas regiões mais externas do biofilme) vai sendo suprida, reduzindo os gastos com energia elétrica, sendo esta uma vantagem dos FBP. (GONÇALVES, 2007; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014d; TANDUKAR *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 2013). Essa tecnologia é ainda atraente devido ao baixo custo construtivo e de operação, simplicidade operacional e pouca manutenção em equipamentos, em decorrência do baixo grau de mecanização (GONÇALVES, 2007; TANDUKAR *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2015). Almeida, Oliveira e Chernicharo (2011), apontam ainda como vantagem do FBP que, por trabalhar com biofilmes, é mais robusto, resistindo melhor à sobrecargas hidráulicas, orgânicas e tóxicas. Os autores afirmam ainda que os FBP são bons sistemas para serem aplicados em cidades cuja carga afluente é variável em algumas épocas do ano, como em cidades turísticas.

Em FBP pode haver recirculação do efluente final (Guillén *et al.*, 2015a), a qual é muitas vezes utilizada para molhar o sistema em situações de baixa vazão, diluir esgoto afluente, possibilitar que a matéria orgânica tenha mais um contato com a biomassa, auxiliar no controle da espessura do biofilme, além de minimizar odores e aparecimento de moscas (VON SPERLING, 2014; TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2014c). No entanto, a recirculação implica em um maior gasto com energia, sendo que este parâmetro já representa um dos maiores custos operacionais nas estações de tratamento de esgoto (ETE) no Brasil (JORDÃO, 2015). Além disso,

a compra e manutenção de bombas, bem como a construção e manutenção de estruturas de suporte ao processo de recirculação elevam os custos do tratamento, o que pode não ser viável principalmente em casos de limitação de recursos, como ocorre em muitos países em desenvolvimento (JORDÃO; PESSÔA, 2011).

3.6.1 FBP operado com bactérias anammox

Alguns trabalhos encontrados na literatura reportaram presença de atividade anammox no biofilme do FBP, mesmo que os mesmos não objetivassem a remoção de nitrogênio por essa rota metabólica. Lydmark *et al.* (2006) analisou o biofilme proveniente de 3 profundidades de um filtro percolador nitrificante operando em escala plena na Suécia e encontraram, ainda que em pequenas quantidades, bactérias anammox, mesmo o sistema sendo bem aerado. Almeida *et al.* (2013), operando FBP preenchido com *Rotosonge* percebeu atividade anammox, contribuindo na remoção de nitrogênio do reator que, a princípio, almejava remoção de nitrogênio pelos processos tradicionais. Ainda, Wilsenach *et al.* (2014) realizaram testes batelada utilizando meio suporte (pedras e britas) com biofilme proveniente de um FBP em escala plena na África do Sul. Os autores constataram que no biofilme, além da remoção de nitrogênio pelos processos tradicionais de nitrificação e desnitrificação, o Anammox também contribuiu para a remoção de nitrogênio. As principais espécies encontradas foram *Candidatus Brocadia anammoxidans* e *Candidatus Brocadia fulgida*. E, por último, Guillén *et al.* (2015b) inocularam com lodo ativado um FBP preenchido com placas de espumas de poliuretano posicionadas em camadas horizontais e, em menos de dois meses, bactérias anammox se desenvolveram devido à formação de zonas anóxicas em alguns pontos do reator, favoráveis a seu crescimento.

Ainda, alguns trabalhos desenvolveram o processo Anammox com sucesso em FBP. Wang *et al.* (2015) operaram FBP preenchido com espuma de poliuretano com diferentes taxas de aplicação superficial (1,0 a 3,0 m³/m².d). No biofilme, foram identificadas bactérias nitrificantes, desnitrificantes e anammox. A demanda química de oxigênio (DQO) e concentração de NH₄⁺-N foram mantidas fixas: 30 e 1,5 mg.L⁻¹, respectivamente. A eficiência de remoção de DQO foi de 97,7-99,3% e de NH₄⁺ foi igual a 67,3-92,7% nas diferentes etapas.

Em um outro estudo, Wang, Ji e Bae (2015) operaram FBP preenchido com espuma de poliuretano e rocha de lava variando a concentração afluyente de matéria orgânica (6 a 25 mg.L⁻¹) e NH₄⁺ (1,2 a 15 mg-N.L⁻¹) em cinco diferentes estágios. A eficiência de remoção foi elevada para ambos: 62-98% para matéria orgânica e 68-98% para NH₄⁺.

Zhang *et al.* (2010a) operando reator Anammox de fluxo ascendente, alcançaram boa remoção de nitrogênio (3,6 kg N/m³/d⁻¹ em 5 meses) em comparação a outros trabalhos citados pelos autores. Ainda foi reportado boa capacidade das espumas em reter a biomassa anammox, o que contribuiu para uma boa remoção de nitrogênio no período de *start-up* (1,0 kg N/m³/d⁻¹ em 56 dias).

Nesse sentido, é possível perceber que as bactérias anammox são capazes de se desenvolver em FBP e, devido às vantagens do uso de espumas como meio suporte, a combinação de ambos pode ser uma opção eficiente para remoção de nitrogênio via processo Anammox (GUILLÉN *et al.*, 2015a). Esta tecnologia foi escolhida, portanto, para desenvolvimento deste estudo e será abordada com mais detalhes no tópico a seguir.

3.6.2 DHS – Downflow Hanging Sponge

Reatores do tipo Filtro Biológico Percolador quando preenchidos com meio suporte de espumas são também chamados *Downflow Hanging Sponge* (UEMURA *et al.*, 2010; TANDUKAR *et al.*, 2006). O volume das espumas é composto, em grande parte por espaços vazios (cerca de 90%) e, devido a isso, disponibilizam uma maior área para crescimento dos micro-organismos. Além disso, como as espumas proporcionam uma maior idade do lodo, é possível trabalhar com TDH menores (muitas vezes algumas horas são suficientes, como mostra Watari *et al.* (2016)). Os maiores tempos de residência celular, proporcionam também uma baixa geração de lodo, reduzindo custos com seu tratamento e destinação final (Tandukar *et al.*, 2006).

Uma outra vantagem desta tecnologia, é o suprimento de OD aos micro-organismos aeróbios aderidos na superfície ou mais ao interior da espuma, ser realizado de forma natural à medida que o líquido percola pelo reator, reduzindo custos com energia elétrica e tornando-o mais sustentável (MACHDAR *et al.*, 2000; OKUBO *et al.*, 2015; GUILLÉN *et al.*, 2015b; TANDUKAR *et al.*, 2006; WATARI *et al.*, 2016).

Muitos estudos têm sido desenvolvidos propondo a aplicação do sistema DHS como pós tratamento de UASB, uma vez que, esta é uma associação eficiente para remover nutrientes não removidos no processo anaeróbio. Essa aplicação é também considerada uma opção viável de tratamento de efluentes em países em desenvolvimento, devido seu bom custo benefício (EL-KAMAH; MAHMOUD; TAWFIK, 2011; MACHDAR *et al.*, 2000; ONODERA *et al.*, 2016; GUILLÉN *et al.*, 2015b; MAHMOUD; TAWFIK; EL-GOHARY, 2011; TANDUKAR *et al.*, 2005, 2006). Almeida *et al.* (2011), obtiveram bons resultados utilizando a tecnologia de FBP sem a etapa de decantação secundária, a qual é uma simplificação operacional que contribui ainda mais para a aplicação desse sistema em países em desenvolvimento.

Onodera *et al.* (2015) avaliaram um sistema DHS em escala piloto (baseado em espumas envolvidas por anel plástico, semelhantes às utilizadas neste trabalho) quanto ao crescimento de macrofauna (caramujos), o qual é um recorrente problema em FBP. O crescimento desses organismos resulta em prejuízos para o sistema devido: degradar o biofilme atuante, problemas mecânicos devido suas conchas (entupimentos, problemas nas bombas), aumento no valor dos sólidos suspensos (presença de suas conchas e corpos), conchas podem proteger bactérias de desinfecção, dentre outros (BOLTZ *et al.*, 2008). Onodera *et al.* (2015) concluíram que o sistema DHS é eficaz na proteção da biomassa contra os caramujos, uma vez que, as espumas, por conterem poros bem pequenos, permitiram o crescimento dos caramujos apenas em sua superfície externa, preservando a biomassa nos interstícios. Ressaltaram ainda, que a degradação da biomassa na superfície externa pode ajudar a reduzir o excesso de lodo.

3.6.2.1 Sistema DHS e o processo Anammox

O sistema DHS também tem sido estudado com sucesso para remoção de nutrientes em conjunto com o processo Anammox. Sánchez-Guillén *et al.* (2015a), operaram dois FBP preenchidos com espuma de poliuretano (DHS), com recirculação e sem entrada de oxigênio. Um deles, operou simulando temperatura moderada, à 20°C e o outro, simulando temperatura tropical, a 30°C. A alimentação dos reatores foi feita com efluente sintético de concentrações iguais de NH_4^+ e NO_2^- (50 mg-N.L⁻¹ de cada), baseado no esgoto doméstico da Holanda (local de realização). O estudo foi dividido em duas fases: *start-up* e Fase I. Como resultados, os autores reportaram

que o reator operado a 30 °C obteve uma estabilização mais rápida, 66 dias, enquanto que o outro estabilizou a partir do dia 104. A taxa de conversão de nitrogênio após a estabilização foi maior no reator operado a 30°C do que no operado a 20°C, sendo elas 1,60 e 1,52 kg-N/m³esponja d, respectivamente. A eficiência total de remoção de nitrogênio também foi maior no reator operado a 30°C do que no a 20°C, sendo elas 78 ± 4% e 74 ± 5%, respectivamente. Os autores concluíram, portanto, que a tecnologia de FBP/Anammox é apropriada para a remoção de nitrogênio em efluentes *mainstream* proveniente de pós-tratamento anaeróbico e que a 30°C foram obtidos melhores resultados quanto ao menor tempo de estabilização e maior capacidade de remoção de nitrogênio.

Em um estudo posterior, Sánchez-Guillén *et al.* (2015b) avaliaram a viabilidade de obter nitrificação parcial com aeração natural em um sistema DHS. Os autores operaram dois reatores FBP a 30°C, preenchidos com camadas horizontais de espuma de poliuretano de diferentes espessuras (Reator1: 0,75 cm e Reator 2: 1,5 cm). A alimentação foi feita com efluente sintético com concentração de NH₄⁺ igual a 100 mg-N.L⁻¹ e a ventilação foi feita de forma natural. Em alguns pontos do reator onde a concentração de oxigênio era baixa, foram formadas zonas anóxicas que favoreceram o desenvolvimento de biomassa anammox, a qual contribuiu para remoção de nitrogênio. A remoção total de nitrogênio foi de 52,2% no reator 1 e 54% no reator 2. É possível perceber, a remoção foi bem menor do que a alcançada no trabalho anterior. Tal fato pode ser explicado devido não ter sido adicionado nitrito neste segundo trabalho e, assim, a atuação das anammox dependia da nitrificação parcial e da quantidade de oxigênio que adentrava no reator.

3.7 Start-up e estabilização do processo Anammox

Conforme comentado no tópico 3.5.4, o *start-up* e estabilização de reatores operando com o processo anammox, é ainda um desafio e pode demorar longos períodos de tempo. Isto por que além das bactérias anammox possuírem crescimento mais lento, também são extremamente sensíveis (pH, oxigênio dissolvido, substâncias inibidoras, temperatura) e, portanto, mais complexas de cultivar (ARAUJO *et al.*, 2010; AUGUSTO; CAMILOTI; SOUZA, 2018).

Conforme abordado no tópico 3.6.2.1, Sánchez-Guillén *et al.* (2015a), operaram dois FBP preenchidos com espuma de poliuretano (DHS), um deles a 20°C

e outro a 30°C. O efluente sintético continha 50 mg NH₄⁺-N.L⁻¹ e 50 mg NO₂⁻-N.L⁻¹. Como resultados, os autores reportaram que o reator operado a 30 °C obteve uma estabilização mais rápida, 66 dias, enquanto que o outro estabilizou a partir do dia 104. A taxa de conversão de nitrogênio após a estabilização foi maior no reator operado a 30°C do que no operado a 20°C, sendo elas 1,60 e 1,52 kg-N.m⁻³esponja.d⁻¹, respectivamente. A eficiência total de remoção de nitrogênio também foi maior no reator operado a 30°C do que no a 20°C, sendo elas 78 ± 4% e 74 ± 5%, respectivamente. Os autores concluíram, que o FBP operado a 30°C obteve melhores resultados quanto ao menor tempo de estabilização e maior capacidade de remoção de nitrogênio em comparação ao operado a 20°C.

Wang *et al.* (2016) operam um Reator de Leito Fixo (RLF) preenchido com meio suporte de polipropileno do tipo honeycomb-like (favo de mel), inoculado com lodos ativados. A temperatura do reator foi controlada em 35°C, o efluente sintético continha 70 mg NH₄⁺-N.L⁻¹ e 70 mg NO₂⁻-N.L⁻¹ e carga de nitrogênio igual a 0,07 kg-N.m⁻³.d⁻¹. Atividade anammox ocorreu no dia 45 aumentou até o dia 61, quando a eficiência de remoção de amônia e nitrito atingiram 91 e 100%, respectivamente. Desse modo, os autores concluíram que o *start-up* do RLF foi realizado com sucesso em 2 meses.

Augsto, Camiloti e Souza (2018) operaram um reator de biofilme aerado de membrana (MABR, do inglês *Membrane-Aerated Biofilm Reactor*), de forma a avaliar a o processo de nitrificação parcial e anammox em um único estágio (SNAP do inglês *Single-stage Nitrogen Removal using Anammox and Partial nitrification*). As bactérias anammox foram enriquecidas a partir de lodos ativados, a temperatura foi controlada em 31,3 ± 0,7°C e foi feita a recirculação do efluente final com vazão igual à de entrada. O reator foi operado em dois períodos, sendo que no primeiro (0-132 dias) a alimentação foi feita com efluente sintético com concentração de amônia igual a 50 mgNH₄⁺-N.L⁻¹ e carga de nitrogênio igual a 50 gN.m⁻³.d⁻¹. Os autores observaram que atividade anammox surgiu após o dia 48 e o processo SNAP se tornou estável após o dia 80. A eficiência média de remoção de nitrogênio total (NT) na fase estacionária do período 1 (dias 80 a 132) foi igual a 78 ± 6% (39 ± 3 gN.m⁻³.d⁻¹) e a máxima remoção igual a 80% (43 gN.m⁻³.d⁻¹), já no período 2 a eficiência média de remoção de NT na fase estacionária (dias 154 a 216) foi igual 61 ± 5% (62 ± 6 gN.m⁻³.d⁻¹) e máxima de 69% (73 gN.m⁻³.d⁻¹). A queda na eficiência do reator no período 2 foi atribuída às

maiores concentrações de OD no sistema, que podem ter causado um desequilíbrio nos micro-organismos (com proliferação de NOB). Os autores concluíram que o reator MABR foi eficiente para uma implementação mais rápida da configuração SNAP.

Na Tabela 5 estão sumarizadas informações dos estudos de *start-up* descritos neste tópico.

Tabela 5 - Estudos de *start-up* e estabilização de reatores anammox

Tipo de Reator	Meio suporte	Temperatura (° C)	Carga de nitrogênio aplicada (kgN.m ⁻³ .d ⁻¹)	Concentração de Amônia (mgNH ₄ ⁺ -N.L ⁻¹)	Concentração de Nitrito (mgNO ₂ ⁻ -N.L ⁻¹)	Taxa de Remoção de Nitrogênio (kgN.m ⁻³ .d ⁻¹)	Eficiência de remoção de Nitrogênio (%)	Estabilização (dias)	Referência
FBP- (fechado)	Cubos de espuma	30	2,09 ± 0,19	49 ± 4	50 ± 5	1,6 ^a	78 ± 4	após 66	Guillén <i>et al.</i> (2015a)
FBP- (fechado)	Cubos de espuma	20	2,15 ± 0,21	50 ± 6	52 ± 4	1,52 ^a	74 ± 5	após 104	Guillén <i>et al.</i> (2015a)
Reator de Leito Fixo	Peças Honeycomb-like	35	0,07	70	70	-	acima de 91	61 ^b	Wang <i>et al.</i> (2016)
MABR	-	31,3 ± 0,7	0,05	50	^c	39 ± 3	78 ± 6	após 80	Augusto, Cameloti e Souza (2018)

^aPor m³ de espuma^bPeríodo de *start-up*, não foi observado período de estabilização neste estudo^cNitrificação Parcial

3.8 Limitações e desafios do saneamento e remoção de nutrientes de efluentes no Brasil

No Brasil, apesar dos esforços para melhoria do sistema de esgoto sanitário, ainda existem diversos entraves para seu pleno desenvolvimento. Um deles, é a remoção de nutrientes, a qual muitas vezes não é realizada durante o tratamento, principalmente, pela ineficiência e lacunas existentes na legislação vigente, além dos baixos investimentos financeiros e sensibilização ambiental.

Usualmente, o tratamento de esgoto é classificado em quatro níveis de remoção: preliminar, primário, secundário e terciário, e a determinação do nível global de tratamento de uma ETE é feito de acordo com o maior nível existente (VON SPERLING, 2014). A escolha do nível de tratamento a ser empregado, depende substancialmente da característica do efluente a ser tratado e da qualidade requerida para o mesmo, a fim de atender à legislação vigente para seu lançamento (OLIVEIRA JÚNIOR, 2013).

Segundo von Sperling (2014), a remoção de nutrientes é alcançada principalmente no tratamento terciário. Em países desenvolvidos, onde os requisitos de qualidade dos efluentes são mais rigorosos, o tratamento terciário tem sido amplamente empregado nas ETE, enquanto que no Brasil esta etapa ainda é bastante limitada (DEZOTTI; SANT'ANNA JÚNIOR; BASSIN, 2011; VON SPERLING, 2002)

A evolução das metas de qualidade no tratamento de efluentes ocorreu, principalmente, em função das exigências das legislações vigentes. Durante muitos anos, a meta de qualidade para um efluente tratado era simplesmente a remoção de matéria orgânica e, devido a isto, grande parte das estações de tratamento de esgoto (ETE) são, até os dias de hoje, projetadas primordialmente para esta finalidade. Com o passar dos anos e com a evolução, mesmo que lenta, das exigências legais no país, tecnologias para remoção de nutrientes têm sido incorporadas nas linhas de tratamento das ETE (DEZOTTI; SANT'ANNA JÚNIOR; BASSIN, 2011; MOTA; VON SPERLING, 2009).

O último levantamento nacional sobre saneamento básico no Brasil, realizado em 2008 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) demonstrou que apenas cerca de 10% do volume de esgoto tratado no país passa por

tratamento terciário. Ainda, do total de municípios do país, somente cerca de 2,7% possui tratamento a nível terciário (IBGE, 2010).

Ainda de acordo com o mesmo levantamento, especificamente para São Paulo, um dos estados mais desenvolvidos do país, do total de esgoto tratado, apenas cerca de 3,6% possuem tratamento terciário. Ainda com relação ao estado de São Paulo, embora quase 80% dos municípios já possuam tratamento de esgoto sanitário, apenas aproximadamente 5,5% realizam tratamento a nível terciário, evidenciando a grande limitação existente no setor (IBGE, 2010).

Uma grande limitação da remoção de nutrientes de efluentes tem origem na própria legislação vigente no país. A Resolução CONAMA nº 430/2011, a qual dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes e, ainda, complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357/2005, estabelece o valor máximo de 20 mg.L⁻¹ de nitrogênio amoniacal para o lançamento de efluentes oriundos de qualquer fonte poluidora. No entanto, a restrição de 20 mg.L⁻¹ de nitrogênio amoniacal para o lançamento de efluentes oriundos de tratamento de esgotos sanitários, foi revogada na Resolução 430/2011. Portanto, a legislação vigente não mais restringe o lançamento de nitrogênio amoniacal de ETE, apenas de fontes poluidoras (como uma indústria) cabendo, portanto, a reflexão de que as ETE são também uma fonte de poluição. Observa-se ainda que nestas resoluções não há qualquer limitação quanto ao lançamento de fósforo, nitrito e nitrato, restando apenas observação destes parâmetros nos padrões de qualidade das águas dos corpos receptores.

Segundo Mota e Von Sperling (2009), no Brasil, os sistemas de tratamento convencionais resultam em efluentes com boa remoção de carbono, porém, muitas vezes com concentrações de fósforo e nitrogênio próximas às do esgoto bruto, o que demonstra a necessidade de incorporação do nível terciário nas linhas de tratamento.

Nesse sentido, é importante que o tratamento terciário seja introduzido nos projetos de novas ETEs ou como complementação na estrutura já existente. Para isso, pode ser necessário o emprego de tecnologias mais avançadas e de maior complexidade, resultando em custos de instalação, operação e manutenção, além de mão de obra especializada (OLIVEIRA JÚNIOR, 2013; POÇAS, 2015). Van Haandel *et al.* (2009) destaca, que o tratamento a nível terciário de efluentes pode ser custoso, principalmente no que se refere à instalação, operação e manutenção, e aponta ainda,

que mesmo com o peso deste fator, é sim possível alcançar bons resultados utilizando tratamento terciário.

No que se refere aos investimentos e financiamentos no setor de saneamento no Brasil, nota-se ainda uma carência e grandes desafios a serem vencidos, os quais inevitavelmente, influenciam negativamente a expansão do tratamento de esgoto no país. Leoneti, Prado e Oliveira (2011), descrevem historicamente como foram realizados os investimentos no setor de saneamento básico no Brasil, e destacam para a necessidade de que os mesmos sejam aplicados de forma eficiente e sustentável, abrangendo os requisitos técnicos, ambientais, sociais e econômicos. Miceli (2008) aborda a atuação do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDS) no financiamento de investimentos em saneamento básico e pontua que a falta de recursos e financiamentos não são os únicos responsáveis por atrasar o desenvolvimento do setor, também deve-se levar em conta a falta de fiscalização da forma como recursos são empregados, principalmente por não considerar a sustentabilidade dos mesmos nos processos de tomada de decisões.

Assim como vários setores no Brasil, o saneamento também possui limitações e dificuldades em consequência da corrupção, desvios de verba, interesse político, fragmentação das políticas públicas e gestão ineficiente (GALVÃO JÚNIOR, 2009; LEONETI; PRADO, OLIVEIRA, 2011; SODRÉ, 2014). Tais fatores culminam para a exclusão social, uma vez que impedem o acesso de grande parte da população aos recursos mais básicos (OLIVEIRA JÚNIOR, 2013). Corroborando estes argumentos, dados disponíveis no Atlas do esgoto (ANA, 2017), mostram que, apenas 43% da população do país possui acesso a coleta e tratamento de esgoto, sendo que 27% é totalmente desprovida.

Uma problemática abordada pelo Conselho de Direitos Humanos das Nações Unidas (2016), refere-se à violência e discriminação sofridas por mulheres, meninas, lésbicas, gays, bissexuais, transexuais, intersexuais e pessoas não binárias, quando há falta de instalações sanitárias adequadas, conferindo-lhes insegurança, e indignidade. Ao procurar por locais para fazerem suas necessidades ou locais para coleta de água ou banho, tais grupos ficam mais vulneráveis a estupro e outros tipos de violência (NAÇÕES UNIDAS, 2016).

De acordo com a pesquisa de Sodré (2014), a qual levou em conta os dados da Advocacia Geral da União (AGU), cerca de 60 a 70% de casos de corrupção no país, ocorrem nas áreas de saúde, educação e saneamento. O estudo aponta, ainda, a relação existente entre corrupção governamental e indicadores socioeconômicos, demonstrando que o aumento no número de irregularidades impacta negativamente o índice de desenvolvimento humano (IDH) em pelo menos 4,5% e aumenta, em cerca de 5%, a proporção de cidadãos pobres nos municípios do Brasil.

Conforme exposto, o tratamento terciário é fundamental para preservação do meio ambiente e saúde pública, porém sua implementação no Brasil possui ainda muitos desafios e limitações que precisam ser vencidos. Melhorias na gestão e gerenciamento do tratamento de efluentes não são implementadas de forma rápida e necessitam de investimentos substanciais, principalmente em países “em desenvolvimento”, como é o caso do Brasil (ANDERSSON *et al.*, 2016). Dessa forma, a compreensão da importância da remoção de nutrientes dos efluentes e as formas como a presença destes compostos influenciam o desenvolvimento econômico, social e ambiental, é o primeiro passo para mudança de hábitos e sensibilização de sua real necessidade, a qual vai muito além das restrições legais.

3.9 Análise crítica da literatura e contribuição do presente trabalho

Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos demonstrando os efeitos nocivos ao meio ambiente e seres humanos gerados pela presença excessiva de compostos nitrogenados no meio líquido, o que justifica a crescente preocupação de remoção dos mesmos. Também é possível notar, uma busca por alternativas mais sustentáveis e mais simplificadas para tal remoção, que seja ao mesmo tempo viável economicamente para quem a financia, e benéfica para o meio ambiente.

O Processo anammox tem sido alvo de diversas pesquisas, inclusive no Brasil, por ser considerado um processo mais sustentável e com bom custo benefício em relação aos processos tradicionais: nitrificação e desnitrificação. Muitos resultados positivos têm sido obtidos na atuação das bactérias anammox para remoção de compostos nitrogenados, algum deles até surpreendentes, como sobreviverem em menores temperaturas ou ainda sua capacidade de realizar novas rotas metabólicas. No entanto, estas bactérias são extremamente sensíveis, o que demanda bastante

cuidado e dedicação em seu cultivo. Além disso, as bactérias anammox apresentam crescimento mais lento e, portanto, tecnologias que permitam uma melhor aderência são bastante adequadas para desenvolvimento do processo.

A maioria dos estudos encontrados na literatura sobre o processo anammox, são desenvolvidos em reatores do tipo RBS (ARAÚJO *et al.*, 2010; FERNANDES *et al.*, 2018; GUILLÉN *et al.*, 2014, 2016; LEAL *et al.*, 2016; LILE *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2016). E, poucos investigaram a alimentação por efluentes sintéticos com menores concentrações de compostos nitrogenados, retratando o tratamento de esgoto sanitário (CHUANG *et al.* 2008; GILBERT *et al.*, 2014; GUILLÉN *et al.*, 2015a; WANG *et al.*, 2015). Desse modo, são relevantes pesquisas que investiguem outras tecnologias viáveis ao desenvolvimento do processo Anammox, aplicando-se efluentes, ainda que sintéticos, com concentrações mais próximas da encontrada no esgoto sanitário do nosso país.

A tecnologia de Filtros Biológicos Percoladores preenchido com material sintético de espumas (DHS) tem sido amplamente estudado em todo o mundo, e apresentado boa aplicabilidade para uso como pós-tratamento países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil. A aplicação desta tecnologia juntamente com o processo Anammox é vantajosa devido, principalmente, à presença de meio suporte, o qual possibilita a retenção das bactérias anammox, de forma a aumentar o tempo de residência celular e reduzir perdas por lavagem do sistema. O aumento do tempo de residência celular proporciona, ainda, uma baixa geração de lodo, reduzindo custos com seu tratamento e destinação final.

Além disto, do ponto de vista da escolha de espumas de poliuretano como meio suporte, observa-se diversas vantagens: (i) a elevada quantidade de espaços vazios deste material, resulta em uma grande área específica para colonização das bactérias anammox em forma de biofilmes, o qual é um modo de crescimento ideal para micro-organismos de crescimento mais lento, (ii) as espumas proporcionam uma baixa difusão de oxigênio, propiciando em suas camadas mais internas a formação de zonas anóxicas, as quais são ideais para o crescimento e desenvolvimento das anammox. Assim, o uso de espumas permite a coexistência de diversos micro-organismos, de diferentes metabolismos, inclusive dos responsáveis pela nitrificação e desnitrificação, permitindo um aumento da eficiência da remoção de nitrogênio.

Na busca de um sistema com maior grau de simplificação operacional e melhor aplicabilidade à realidade dos países em desenvolvimento, como o Brasil, esta pesquisa propõe a operação do sistema de DHS sem recirculação do efluente final. Isto representa um ganho para o sistema em termos de economia energética, redução dos gastos com compra e manutenção de bombas, bem como com construção e manutenção de estruturas de suporte ao processo de recirculação. Em um estudo similar a este, Guillén *et al.* (2015a) operaram o sistema DHS com recirculação do efluente final a fim de potencializar a eficiência de remoção de nitrogênio. Essa pesquisa foi desenvolvida de modo semelhante, no entanto, foi verificada se simplificação do sistema seria possível sem perda significativa na eficiência.

Muitas pesquisas têm sido realizadas desenvolvendo o processo Anammox em FBP (CHUANG *et al.*, 2008; GUILLÉN *et al.*, 2015a, 2015b; WANG; JI; BAE, 2015, ZHANG *et al.*, 2010a). No entanto, é importante observar, que os referidos estudos foram desenvolvidos por grupos de pesquisas de instituições internacionais, não havendo, até o presente momento, pesquisas brasileiras operando FBP majoritariamente com bactérias anammox.

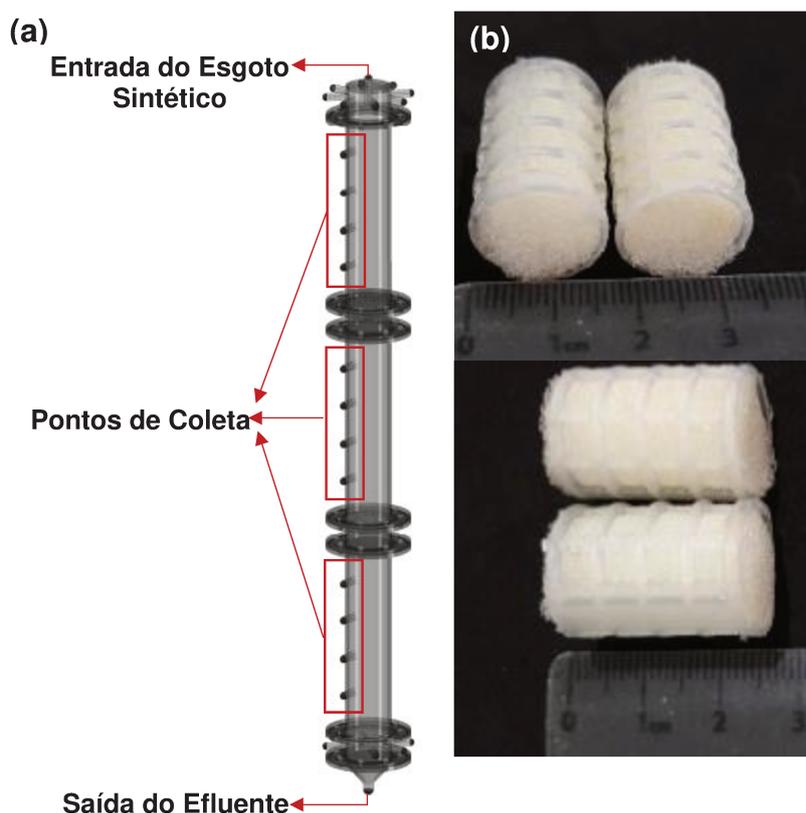
Desse modo, espera-se, com este estudo, obter diretrizes que possibilitem a simplificação desta tecnologia, além da produção de informações que auxiliem outros pesquisadores desse assunto.

4 METODOLOGIA

4.1 Aspectos construtivos do reator

Foi construído um reator do tipo filtro biológico percolador (FBP) em acrílico transparente de volume útil (volume de meio suporte) igual a 1,33 L. A entrada do efluente foi realizada pela parte superior do reator e saída pela parte inferior, conforme ilustrado na Figura 5a. Na Tabela 6 são mostrados outros parâmetros sobre a configuração do reator e o meio suporte.

Figura 5 - (a) Esquema do FBP demonstrando pontos de entrada e saída do esgoto sintético, além dos pontos de coleta; (b) mini-BioBob® utilizado como meio suporte.



O reator foi construído com separação em 3 compartimentos de modo a facilitar o manuseio e eventuais manutenções (Guillén 2015a), conforme ilustrado na Figura 5a. Em cada compartimento, foram inseridas aleatoriamente 100 mini-BioBobs® (espumas de poliuretano envolvidas por um anel cilíndrico de polipropileno) de 15 mm de diâmetro x 25 mm de altura, fornecidas pela empresa Bioproj Tecnologia

Ambiental, os quais serviram de material suporte para crescimento da biomassa (Figura 5b). O anel plástico que compunha o meio suporte, foi importante para impedir que as espumas sofram compressão, reduzindo, com isto, a área específica para crescimento da biomassa (ONODERA *et al.* 2015).

Durante todo o período de operação, o reator foi mantido vedado, de modo a evitar a entrada de oxigênio. Para assegurar a vedação, foi realizado o teste de estanqueidade em cada compartimento do reator, preenchendo-o com água e deixando por um período de 24 horas.

Tabela 6 - Configuração do FBP e do meio suporte

Parâmetros		
Reator	Diâmetro interno (m)	0,064
	Área Superficial (m ²)	0,0032
	Altura total (m)	1,14
	Altura efetiva (preenchido por espumas) (m)	0,9
	Volume total (L)	3,55
	Ocupação por meio suporte (%)	46
	Volume útil (volume de mini-BioBobs®) (L)	1,33
	Índice de vazios (%)	95,2
Mini-BioBob®	Unidades por compartimento	100
	Unidades por reator	300
	Dimensões (diâmetro x altura) (mm)	15 x 25
	Massa por unidade (g)	0,614
	Densidade da espuma (kg/m ³)	28
	Área superficial específica (m ² .m ⁻³)	94.000

A área superficial específica da espuma do mini-BioBob® foi obtida através do método BET (Brunauer–Emmett–Teller) realizado em dois equipamentos distintos: Micromeritics Flow Sorb 2300 e Micromeritics ASAP 2010. Como resultado, foram obtidos os valores 94.011,5 e 93.486,7 m².m⁻³, respectivamente (DUARTE *et al.*, 2019).

4.2 Caracterização do meio suporte

Alguns experimentos foram realizados a fim de caracterizar os mini-BioBobs® (DUARTE *et al.*, 2019), sendo eles: umidade residual, índice de acomodação volumétrica e índice de vazios, os quais serão detalhados a seguir.

4.2.1 Umidade Residual

Trinta cápsulas de porcelana foram identificadas e levadas à estufa a 105 °C por 1 hora e, posteriormente, resfriadas no dessecador. Feito isso, pesou-se as cápsulas vazias e, posteriormente, com um mini-BioBob® em cada. Os conjuntos cápsula e mini-BioBob® foram secos em estufa a 105 °C por 1 hora, resfriados em dessecador e novamente pesados. Descontando-se a massa da cápsula, foi possível obter as massas úmidas (M_u) e secas (M_s) do material (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

A umidade residual foi obtida pela razão entre a massa de água e a massa do material seco, segundo a Equação 7. Este teste foi realizado para verificar se a umidade residual inerente ao mini-BioBob® poderia interferir em sua massa. Deste modo, futuramente para quantificação da biomassa, seria conhecida a influência da umidade do material na massa total do mini-BioBob® com o biofilme. Além disso, este teste objetivou verificar se quando submetido à estufa, o mini-BioBob® se danificaria ou se fragilizaria.

$$U (\%) = \frac{\text{massa de água}}{\text{massa do material seco}} = \frac{M_u - M_s}{M_s} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

4.2.2 Índice de Acomodação Volumétrica

Foi utilizada uma proveta de volume igual a 1000 mL, devido a mesma possuir diâmetro semelhante ao do reator (aproximadamente 6,4 cm). Foram inseridos 100 mini-BioBobs® (valor igual ao utilizado em um compartimento) e mediu-se o volume que os mesmos atingiram ($V_{\text{sem acomodação}}$). Posteriormente, realizou-se movimentos bruscos com a proveta a fim de que o material se acomodasse o máximo possível e, em seguida, realizou-se a medição do novo volume ($V_{\text{acomodação}}$). Objetivando-se uma maior representatividade dos dados, foram feitas três repetições do teste.

O índice de acomodação volumétrica é dado em percentual e foi obtido pela razão entre a diferença do volume sem e com acomodação (volume da diferença), e o volume sem acomodação, conforme representado na Equação 8. Este teste foi realizado com o intuito de verificar a potencialidade dos mini-BioBobs® de acomodarem-se dentro do reator. Este dado é importante para auxiliar o cálculo de dimensionamento do reator, uma vez que após a acomodação do meio suporte, uma parte do reator ficaria inutilizado.

$$\text{Acomodação Volumétrica (\%)} = \frac{V_{\text{sem acomodação}} - V_{\text{acomodação}}}{V_{\text{sem acomodação}}} \times 100$$

Equação 8

4.2.3 Índice de vazios

Em uma proveta de 1000 mL foi adicionado um determinado volume de água, de modo que todo material ficasse submerso ($V_{\text{água adicionado}}$), inseridas 100 unidades do meio suporte e, após um período de descanso para hidratação de 24 horas, realizada leitura do novo volume (V_{final}). Este teste foi realizado para o mini-Biobob® completo (anel + espuma), apenas o anel e apenas a espuma, sendo que para este último, foi aplicada compressão a fim de forçar a saída do máximo de bolhas de oxigênio possível, possibilitando a entrada da água.

O índice de vazios foi obtido por meio da razão entre o volume de água adicionado e o volume final após a inserção dos materiais, conforme a Equação 9.

$$\text{Índice de Vazios (\%)} = \frac{V_{\text{água adicionado}}}{V_{\text{final}}} * 100$$

Equação 9

Além do índice de vazios foi possível calcular o volume unitário ocupado por cada um dos materiais, por meio da razão entre o volume de água deslocado e o número total de unidades inseridas.

4.3 Teste hidrodinâmico

O teste hidrodinâmico auxilia a avaliação do quão próximo ou distante o escoamento de um reator se encontra dos modelos ideais (mistura completa e fluxo pistão). Além disto, também é possível obter informações sobre o Tempo Médio de

Residência ($TDH_{\text{observado}}$) e, assim, avaliar sua proximidade com o adotado para o funcionamento do reator ($TDH_{\text{teórico}}$) (LEVENSPIEL, 2000).

A partir do estudo hidrodinâmico é possível, ainda, a identificação de zonas mortas e caminhos preferenciais, os quais podem reduzir a eficiência do tratamento biológico por interferirem na distribuição do efluente ao longo do reator, bem como no tempo de contato entre a biomassa e o efluente (LEVENSPIEL, 2000).

O experimento para obtenção das características hidrodinâmicas do FBP foi realizado pelo método de pulso, baseando-se em Levenspiel (2000). O teste foi realizado com o reator preenchido com os mini-BioBobs® sem a biomassa, e o traçador utilizado foi o cloreto de sódio (NaCl).

Neste experimento, um reservatório de água potável foi conectado ao reator e deixou-se por 3 horas para umedecer as espumas. Feito isso, com auxílio de uma seringa, foi injetada na mangueira próximo entrada do reator, 1 mL de uma solução de concentração igual a 100 gNaCl.L^{-1} . A partir deste momento, iniciou-se a coleta de amostras na saída do reator.

O ensaio teve duração de 3 horas, ou seja, 3 vezes o $TDH_{\text{teórico}}$ (KREUTZ *et al.*, 2018). As amostras foram coletadas a cada 2 minutos e analisadas imediatamente por meio de um condutivímetro da marca Digimed modelo DM-3P. Os respectivos valores de concentração de NaCl, foram obtidos por meio da equação resultante de um gráfico que relaciona as concentrações de soluções padrões (0,001; 0,002; 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 e 10 gNaCl.L^{-1}) e as respectivas condutividades.

A partir dessas concentrações, foi possível gerar o gráfico desses valores em relação ao tempo de amostragem. Estes resultados, foram utilizados para determinar a curva de distribuição do tempo de residência (E), ou seja, quanto tempo as moléculas do fluido permaneceram dentro do reator. De acordo com Levenspiel (2000), o valor de E pode ser determinado pela Equação 10. O demais cálculos do comportamento hidrodinâmico do FBP, apresentados a seguir, foram baseados em Levenspiel (2000).

$$E = \frac{Ci}{Q} \quad \text{Equação 10}$$

Onde: C_i = concentração do traçador na i ésima medição (g.L^{-1});

Q = Área sob a curva $C \times t$ (g.min.L^{-1}).

A área sob a curva foi determinada a partir da Equação 11. É importante ressaltar que esta área deve ser unitária, ou seja, na determinação de E , cada valor de concentração na i ésima medição, deverá ser dividida pela área total. O tempo médio de residência (TDH_{real}) foi calculado utilizando-se a Equação 12.

$$Q = \sum C_i \Delta t_i \quad \text{Equação 11}$$

$$\bar{t} = \frac{\sum t_i C_i}{\sum C_i} \quad \text{Equação 12}$$

A curva do percentual acumulativo $F(t)$, indica a quantidade do traçador que saiu do reator durante um certo período de tempo. O valor de F foi determinado a partir da Equação 13.

$$F = \int_0^t E dt \quad \text{Equação 13}$$

Para complementar a análise do comportamento hidrodinâmico, também foi construída a curva de E adimensional (E_θ), parâmetro obtido de acordo com a Equação 14, versus o tempo adimensional (θ), obtido de acordo com a Equação 15.

$$E_\theta = E \bar{t} \quad \text{Equação 14}$$

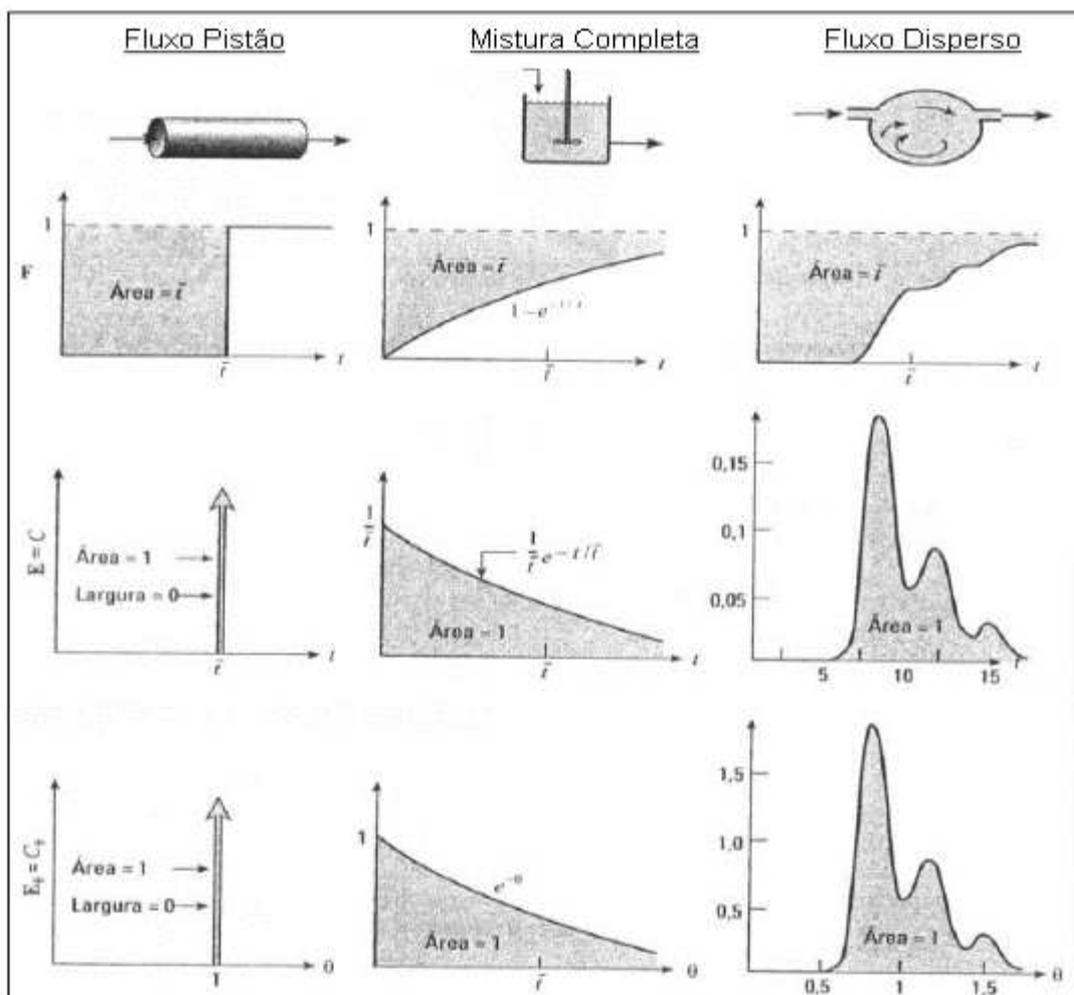
$$\theta = \frac{t_i}{\bar{t}} \quad \text{Equação 15}$$

Onde: t_i = tempo na i ésima medição.

A partir da construção das curvas $E \times t$, $F \times t$ e $E_\theta \times \theta$, foi possível determinar a proximidade com os tipos de escoamentos (fluxo pistão, mistura completa e fluxo

disperso), por meio de análise comparativa com as curvas ilustradas na Figura 6, propostas por Levenspiel (2000).

Figura 6 - Propriedade das curvas E, F e $E\theta$, para fluxo pistão, mistura completa e fluxo disperso.



Fonte: Adaptado de Levenspiel (2000).

A fim de realizar uma análise mais minuciosa sobre o comportamento hidrodinâmico do FBP, foram calculados os parâmetros, apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros para avaliação da performance hidráulica do reator.

Parâmetro	Equação	Interpretação do resultado
Eficiência volumétrica (λ)	$\frac{TDH_{real}}{TDH_{teórico}}$	<u>Igual a 1</u> : indica que o volume do reator está sendo integralmente utilizado para o tratamento <u>Menor que 1</u> : indica presença de curtos-circuitos e zonas mortas
Índice de curtos-circuitos (ψ)	$\frac{t_{traçador}}{TDH_{teórico}}$	<u>Valores muito inferiores a 1</u> : curtos-circuitos e zonas mortas
Recuperação do traçador (%)	$\frac{\sum i C_i v \Delta t_i}{V_{inj} C_{inj}} \times 100$	Quanto mais próximo de 100%, maior a recuperação
Índice de dispersão de Morril (IDM)	$\frac{t_{90\%}}{t_{10\%}}$	<u>Mais próximo a 1</u> : comportamento assecha-se mais a fluxo pistão <u>Mais próximo a 21,9</u> : comportamento assemelha-se mais a mistura completa

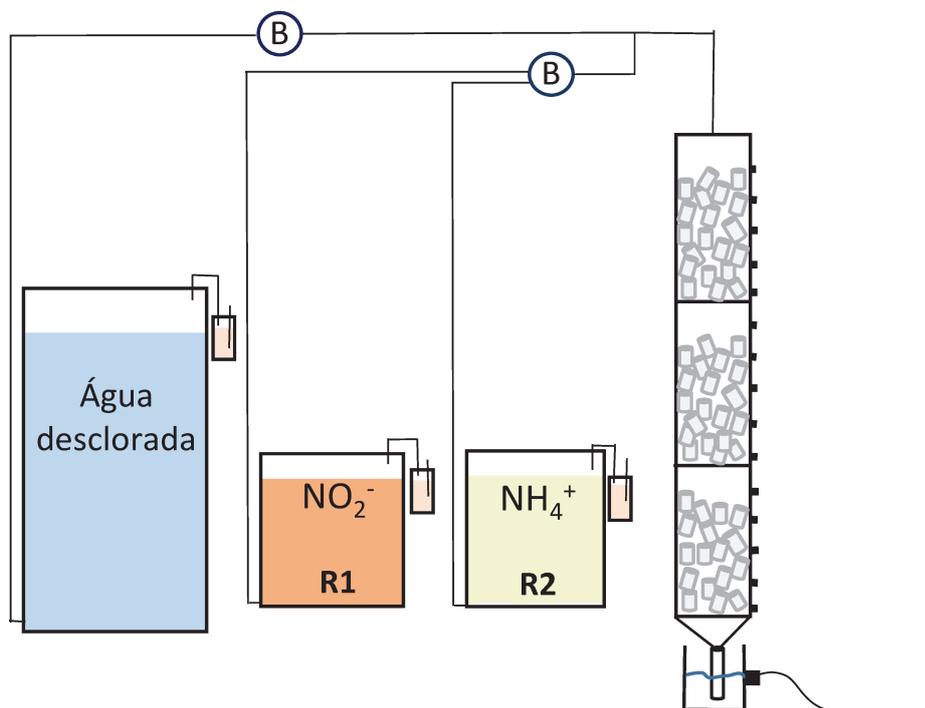
Fonte: Duarte (2018), Fia *et al.* (2016) Kreutz *et al.* (2018).

$t_{traçador}$: tempo decorrido até a primeira detecção do traçador; C_i : concentração na i ésima medição ($g.L^{-1}$); v : vazão de operação ($L.h^{-1}$); Δt_i : intervalo decorrido desde a coleta i e a coleta $i-1$ (h); V_{inj} : Volume injetado de solução concentrada de traçador (L); C_{inj} : concentração do traçador na solução injetada ($g.L^{-1}$); $t_{90\%}$: tempo em que 90% do traçador foi coletado; $t_{10\%}$: tempo em que 10% do traçador foi coletado.

4.4 Configuração do aparato experimental

O aparato experimental era composto, além do FBP, por dois reservatórios de substrato (R1 e R2) de capacidade igual a 20 L cada, um reservatório de água desclorada de capacidade igual a 100 L e duas bombas peristálticas modelo MPS-380 da marca KNF, conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 7 – Aparato experimental



Ainda, para auxiliar a manutenção das baixas concentrações de OD nos reservatórios, foram instalados sistemas de captura de oxigênio (*scavenger*) no *headspace* dos mesmos. A solução dos *scavengers* era preparada em um recipiente de 1L adicionando-se sulfito de sódio (Na_2SO_3) e cloreto de cobalto (CoCl_2) (GUILLÉN *et al.*, 2015a). Além disso, na saída do reator, foi instalado um sistema de selo hídrico a fim de não permitir a entrada de oxigênio por esta extremidade.

4.5 Aspectos e fases operacionais

O reator foi operado durante 306 dias. Neste período, alterações em relação à biomassa presente no reator, demarcaram o período operacional total em 3 fases: Fase I, Fase II e Fase III.

Na Fase I o reator foi inoculado com um lodo anammox doado pela empresa Paques Brasil Sistemas para Tratamento de Efluentes Ltda e o reator foi operado dessa forma por 59 dias. A Fase II foi demarcada por uma remoção do lodo excedente (que não se encontrava aderido ao meio suporte) e teve duração de 164 dias. A Fase III teve duração de 81 dias e foi demarcada pela adição ao FBP de inóculo de anammox já em atividade, também doado pela empresa Paques Brasil Sistemas para Tratamento de Efluentes Ltda.

Os respectivos procedimentos de inoculação e características da biomassa utilizada nas Fases I e III serão abordados no tópico 4.6, adiante.

Durante a operação, em alguns momentos foram realizadas alterações na vazão, a fim de favorecer a aderência da biomassa e a remoção de nitrogênio por via Anammox. Essas alterações, serão melhores discutidas no tópico 4.5. Na Tabela 8, podem ser visualizados os principais parâmetros operacionais em cada uma das 3 fases.

Tabela 8 – Parâmetros operacionais do FBP.

Parâmetro	Fase I	Fase II		Fase III		
Tempo (dias)	1 - 59	60 - 113	114 - 224	225 - 245	246 - 266	267-306
Vazão (L.d ⁻¹)	33,1	33,1	22,1	22,1	33,1	22,1
CVN (kgN.m ⁻³ .d ⁻¹)	1,5	1,5	1,0	1,0	1,5	1,0
TAS (m ³ .m ⁻² .d ⁻¹)	10,4	10,4	6,9	6,9	10,4	6,9
TDH teórico (h)	1	1	1,4	1,4	1	1,4

É importante ressaltar que em nenhum momento a concentração de amônia e a nitrito foram alteradas, permanecendo durante todo o período de operação iguais a 30 mgN-NH₄⁺.L⁻¹ e 30 N-NO₂⁻.L⁻¹. Essa concentração de NT foi escolhida, por ser mais próxima à encontrada no esgoto doméstico (SACHETTO *et al.*, 2019).

O reator foi operado em temperatura ambiente, a qual foi monitorada com auxílio de um termômetro digital da marca testo e modelo 174H, e registrada a cada 15 minutos. O pH foi monitorado na entrada e na saída do reator, sendo o valor desejável de modo a favorecer as bactérias Anammox, aproximadamente 7,5. Quanto à alcalinidade, procurou-se reproduzir a encontrada nos esgotos domésticos, próximo a 140 mgCaCO₃.L⁻¹.

O oxigênio dissolvido (OD) foi monitorado no afluente e efluente do reator com auxílio de um oxímetro da marca YSI e modelo 95/25 FT. intentando-se manter este parâmetro abaixo de 1 mgO₂.L⁻¹, era inserido gás nitrogênio na fase líquida e no *head space* dos reservatórios R1, R2 e de água desclorada a cada troca de substrato e/ou manutenção.

O reator foi mantido coberto por um plástico escuro a fim de evitar a incidência de luz e o crescimento de seres fotossintetizantes. Além disso foram

instaladas válvulas unidirecionais no início de cada compartimento, afim de promover a liberação dos gases produzidos no interior do reator (GUILLÉN *et al.*, 2015a; ZHANG *et al.*, 2010a).

O reservatório R1 continha solução concentrada de nitrito ($230 \text{ mgNO}_2^- \cdot \text{NL}^{-1}$) e o reservatório R2 continha solução concentrada de amônia ($230 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{NL}^{-1}$). De cada reservatório, eram bombeados com auxílio de uma bomba peristáltica de dois cabeçotes, 35% da vazão total e do reservatório de água desclorada eram bombeados 65% da vazão, sendo que a mistura era realiza na própria tubulação e então direcionada ao reator. O afluente continha $30 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{NL}^{-1}$ e $30 \text{ mgNO}_2^- \cdot \text{NL}^{-1}$

É importante ressaltar, que a água desclorada era preparada com auxílio de um ebulidor (1000W – 127V) submergido em um reservatório com cerca de 18L por um período de 50 minutos. Para assegurar que este tempo era suficiente para remover todo o cloro da água, a metodologia foi validada a partir de análise para avaliação do cloro residual baseado em APHA *et al.* (2012).

4.6 Inoculação do Reator

Durante a operação, houveram duas inoculações. Os inóculos foram doados pela empresa Paques Brasil Sistemas para Tratamento de Efluentes Ltda.

4.6.1 Fase I

O FBP foi inoculado com lodo proveniente de reator anammox, cujos sólidos suspensos totais (SST) eram iguais a 21.000 mg.L^{-1} , os sólidos suspensos voláteis (SSV) igual a 18.400 mg.L^{-1} e a fração de SSV em relação aos SST (SSV/SST), igual a 88%. O lodo foi mantido refrigerado a 4°C por cerca de 11 meses até a data da inoculação, quando a construção do reator foi finalizada. O procedimento para inoculação foi realizado baseando-se no estudo de Guillén *et al.* (2015a).

Cada compartimento foi inoculado utilizando-se 100 mini-BioBobs®. Destes, 60 foram saturados com o efluente sintético e, posteriormente, despejou-se 120 mL de lodo sobre os mesmos. Foi aspergido gás nitrogênio no *headspace* do recipiente, o qual foi posteriormente vedado. Esse recipiente foi mantido em repouso por cerca de 24 horas. Após esse período, os 40 mini-Biobobs® restantes, foram também saturados com o efluente sintético. Na Figura 8, pode-se visualizar o

procedimento de inoculação, em que são mostrados os recipientes com os 60 mini-BioBobs® submergidos no lodo e os 20 mini-BioBobs® saturados em o efluente sintético.

Figura 8 - Inoculação do FBP na Fase I.



A inoculação foi realizada do fundo para o topo de cada um dos três compartimentos, inserindo-se primeiramente os 40 mini-BioBobs® saturados com o efluente sintético e, em seguida os outros 60 contendo o lodo. Ao final da inoculação, o lodo (formado principalmente de grânulos) que não se aderiram à espuma foram adicionados à parte superior do compartimento correspondente. Esse procedimento levou a algumas dificuldades operacionais, que serão melhor discutidos no tópico 5.4.5.2.

4.6.2 Fase II

Esta fase foi delimitada por uma remoção da biomassa que não se encontrava aderida aos mini-BioBobs®. Nenhum inóculo foi adicionado.

4.6.3 Fase III

Nesta fase foi adicionando um lodo mais ativo ao reator, como o reator estava em funcionamento, o procedimento de inoculação limitou-se a adicionar 200 mL deste lodo na parte superior do primeiro compartimento.

Este lodo continha $76.000 \text{ mgSST.L}^{-1}$ e $69.800 \text{ mgSSV.L}^{-1}$, sendo a fração dos voláteis (mgSSV/mgSST) igual a 91%. No entanto, a atividade microbológica do lodo era desconhecida.

As considerações sobre este procedimento de inoculação serão discutidas no tópico 5.4.5

4.7 Efluente sintético

Como no presente estudo objetivou-se a estabilização das bactérias anammox, foi importante o fornecimento de condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Desse modo, amônia e nitrito, compostos percussores do metabolismo celular dessas bactérias, foram fornecidos artificialmente.

O efluente sintético foi preparado com composição baseada em Guillén *et al.* (2015a). Em um reservatório (R1), preparava-se o substrato concentrado de nitrito ($230 \text{ mgNO}_2^- \cdot \text{NL}^{-1}$) e, em um outro reservatório (R2), preparava-se o substrato concentrado de amônia ($230 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{NL}^{-1}$). Posteriormente, este substrato era diluído na própria tubulação que o conduzia ao reator, conforme abordado no tópico 4.5. A composição do efluente sintético concentrado de amônia e nitrito está demonstrada na Tabela 9.

Tabela 9 – Composição e concentração do efluente sintético nos reservatórios R1 e R2 antes da mistura na tubulação.

Substrato concentrado de Nitrito (R1)				Substrato concentrado de Amônia (R2)	
Composto	Conc. (g/L)	Elementos Traço**	Conc. (g/L)	Composto	Conc. (g/L)
EDTA Na salt	0,087	EDTA Mg salt	15,000	NH ₄ Cl	0,88
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,029	ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,430	KH ₂ PO ₄	0,19
Elementos Traço**	9,77 mL/L	CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,240	CaCl ₂ . 2H ₂ O	2,30
NaHCO ₃	1,09	MnCl ₂ . 4 H ₂ O	0,990	MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,37
NaNO ₂	1,13	CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,250		
		Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	0,220		
		NiCl ₂ . 6 H ₂ O	0,190		
		Na ₂ SeO ₄	0,108		
		H ₃ BO ₃	0,014		
		Na ₂ WO ₄ . 2 H ₂ O	0,050		

As soluções foram preparadas utilizando como solvente água desclorada. É importante ressaltar, que os compostos eram adicionados na ordem descrita na

Tabela 9, e o composto seguinte só era adicionado quando o anterior estivesse totalmente dissolvido.

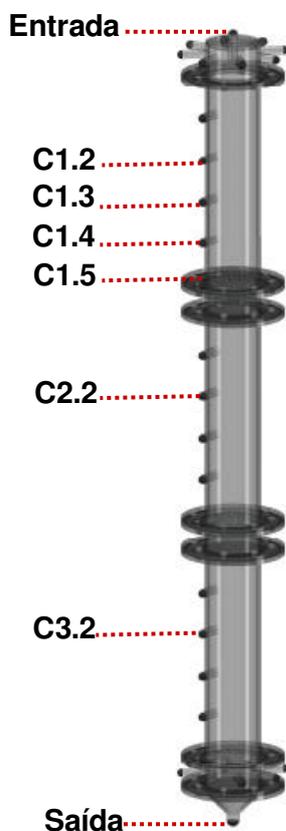
Para facilitar o preparo dos efluentes sintéticos, eram preparados 10 L dos substratos ricos em amônia e nitrito, concentrados 8 vezes ($1840 \text{ mgNO}_2^- \cdot \text{NL}^{-1}$ e $1840 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{NL}^{-1}$) e, quando era necessário abastecer os reservatórios R1 e R2, esta solução era então diluída com água desclorada (para o preparo de 20L eram diluídos 2,5 L do substrato concentrado em 17,5 L de água). O substrato concentrado era armazenado em frascos de vidro devidamente tampados e mantidos à temperatura ambiente.

4.8 Coleta de amostras e análises laboratoriais

As análises laboratoriais do afluente e efluente eram feitas, no mínimo, uma vez por semana. Durante a Fase III, além das amostragens do afluente e fluente, foram também coletadas amostras nos pontos C1.2, C1.3, C1.4, C1.5, C2.2 e C3.2, ilustrados na Figura 9. No primeiro compartimento foram escolhidos mais pontos de amostragem, pois já era esperado que ali ocorresse a maior parte dos processos metabólicos do reator, conforme demonstrado em Guillén *et al* (2015a). Os pontos C2.2 e C3.2 foram escolhidos para compor o perfil e retratar a os processos metabólicos no início destes compartimentos, onde também era esperado que ocorresse maior remoção ou produção de nitrogênio do que no final dos respectivos compartimentos. As amostras do efluente quando comparada com os valores do C3.2, proporcionavam uma previsão sobre o nível de atividade no 3º compartimento

As amostras do perfil foram coletadas utilizando uma seringa com uma agulha comprida e, como a quantidade de amostra coleta era muito pequena, a filtração dessas amostras foram feitas com filtros para seringa de porosidade igual a $0.45 \mu\text{m}$ (marca Chromafil Xtra Ca).

Figura 9 - Pontos de amostragem ao longo do FBP.



Para as amostras do afluente e efluente, foram realizadas as seguintes análises: nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), nitrito ($\text{NO}_2^-\text{-N}$), nitrato ($\text{NO}_3^-\text{-N}$), alcalinidade, pH e OD. Quanto as amostras do perfil do reator, foram analisados: nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), nitrito ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) e nitrato ($\text{NO}_3^-\text{-N}$). As amostras do afluente e efluente também foram filtradas com filtro de porosidade igual a $0.45\ \mu\text{m}$ a fim de remover possíveis interferentes suspensos na massa líquida, visto que a maior parte das metodologias de análises são colorimétricas.

As análises foram realizadas, imediatamente após a coleta, no Laboratório de Saneamento (LABSAN) da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC) da Unicamp, e as metodologias foram, quase em sua totalidade, baseadas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2012).

Para a análise de nitrato, foi desenvolvido e avaliado um procedimento analítico, uma vez que as concentrações de nitrito nas amostras do reator geravam interferência na quantificação do íon nitrato quando utilizada a metodologia 4500 –

NO_3^- E (APHA *et al.*, 2012). As concentrações de nitrito encontradas nas amostras do reator eram elevadas, cerca de $30 \text{ mg NO}_2\text{-N.L}^{-1}$, sendo duas ordens de grandeza maior que as faixas de concentração utilizadas na metodologia de detecção deste íon baseada em APHA *et al.* (2012).

O procedimento desenvolvido utiliza a reação de nitratação do ácido salicílico a 6% em meio ácido e, para minimizar a interferência do nitrito nesta reação, utilizou-se ureia (10%) em meio ácido (pH entre 4,5 e 5) e aquecimento a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ no bloco digestor por 20 minutos.

Foram realizados testes com soluções padrão de diferentes concentrações de nitrato e nitrito para desenvolvimento das curvas analíticas. Este procedimento mostrou-se adequado para a quantificação do nitrato na presença de elevadas concentrações de nitrito. A validação analítica do procedimento desenvolvido foi realizada por meio de calibração cruzada com a técnica de cromatografia iônica (técnica de referência) e pela recuperação analítica de concentrações de nitrato em amostras de água e efluentes sintéticos.

Na Tabela 10, estão apresentados os parâmetros analisados e os respectivos métodos empregados.

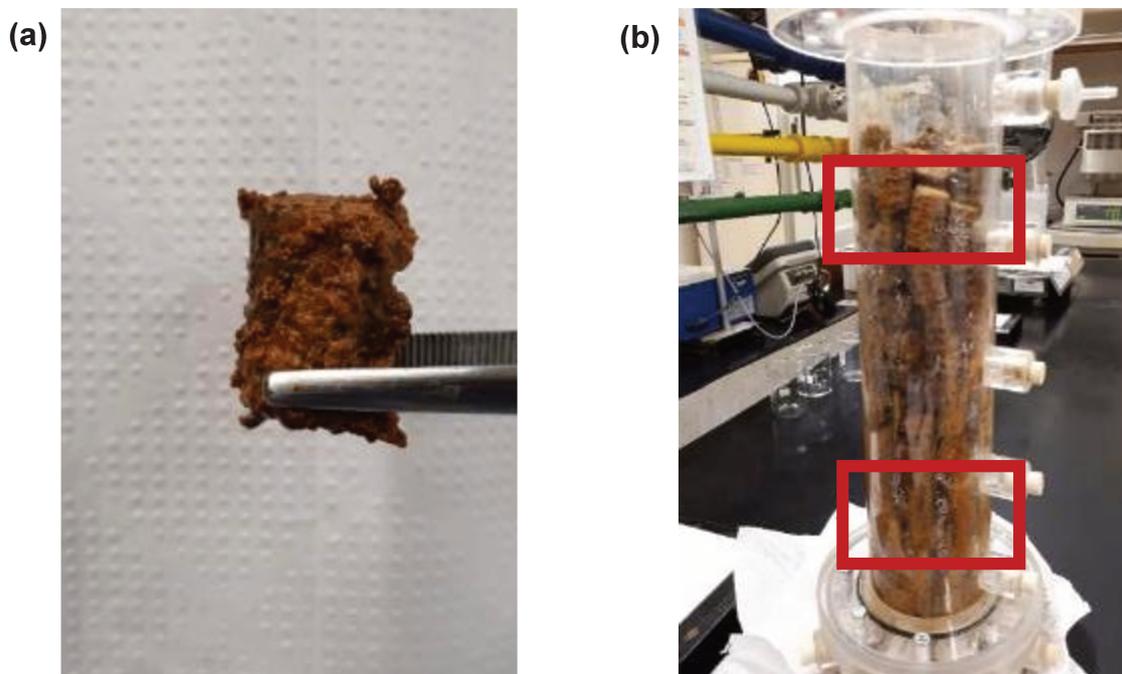
Tabela 10 – Análises laboratoriais e os respectivos métodos empregados.

Análise	Metodologia
Alcalinidade	2320 B
Nitrato	Cataldo <i>et al.</i> (1975); Robarge Edwards e Johnson (1983); 4500 – NO_3^- E
Nitrito	SM 4500 NO_2^- B
Nitrogênio Amoniacal	SM 4500 NH_3 F
Oxigênio Dissolvido	4500 – O G
pH	SM 4500 H^+ B

4.9 Atividade específica das bactérias

Para a obtenção deste dado, foi necessário fazer uma estimativa da biomassa contida no reator no final da Fase III. Para isso foi necessária a realização dos procedimentos descritos a seguir.

Figura 10 – (a) Remoção dos mini-BioBobs® ao final do período de operação, (b) regiões de amostragem mini-BioBobs® em cada compartimento.



Ao final do período de operação, o reator foi aberto e foram removidos 10 mini-BioBobs® (Figura 10a) em duas alturas de cada um dos três compartimentos do reator, totalizando a remoção de 60 mini-BioBobs®. A remoção do meio suporte foi realizada mais próximo às extremidades de cada compartimento, como ilustrado na Figura 10b, a fim de amostrar de forma mais representativa todo o perfil do reator.

Figura 11 - (a) Mini-BioBobs® antes e (b) após secagem na estufa, dos 3 compartimentos e nas duas alturas de amostragem em cada um deles.



Os mini-BioBobs® amostrados foram inseridos em cápsulas de porcelana, devidamente submetidas à estufa a 100 °C para remoção da umidade residual e posteriormente pesadas. As cápsulas de porcelana com os mini-BioBobs® foram levadas à estufa a 100 °C e, para remoção de toda umidade das espumas, foram necessárias cerca de 24 horas. As cápsulas foram esfriadas em dessecador e posteriormente pesadas. A Figura 11 ilustra os mini-BioBobs® nas capsulas separadas por compartimento, antes e após serem inseridos na estufa para remoção da umidade.

Descontando-se a massa das cápsulas e dividindo pelo número de mini-BioBobs® por cápsula, foi possível obter a massa unitária do mini-BioBobs® mais a quantidade de sólidos secos. Descontando-se a massa unitária do mini-BioBobs® seco, igual a 0,614 g e fazendo a média entre massas obtidas para as duas alturas amostradas por compartimento, foi possível obter uma estimativa da quantidade de sólidos por mini-BioBobs® em cada compartimento. E, multiplicando-se esses valores obtidos pelo número de mini-BioBobs® contidos em cada compartimento (igual a 100), obteve-se a massa média total de sólidos por compartimento e, conseqüentemente, em todo o reator.

A fração biológica, foi calculada baseada no percentual de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) do lodo utilizado para a inoculação na Fase III, obtendo-se assim a quantidade de biomassa em gSSV no reator. A demonstração deste cálculo encontra-se no item 5.4.4.

O cálculo da atividade específica das bactérias no fim da Fase III, foi realizado de acordo com a Equação 16.

$$Atividade\ específica = \frac{NT \times Q}{Biomassa\ reator}$$

Equação 16

Onde: NT = remoção média de nitrogênio total (mg.L⁻¹)

Q = vazão (L.d⁻¹)

Biomassa reator = massa de sólidos voláteis presentes no reator (gSSV)

4.10 Análise estatística

Os resultados de nitrogênio total no afluente e no efluente de cada uma das 3 fases operacionais foram submetidos a um tratamento estatístico a fim avaliar se eram realmente diferentes e, portanto, se a eficiência de remoção era representativa.

Para isso, como os dados seguiram a distribuição normal, foi utilizado o teste paramétrico *t-Student* para amostras pareadas para comparação das médias um nível de significância igual a 5% ($p < 0,05$). Os testes foram desenvolvidos utilizando o programa R Core Team (2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do meio suporte

5.1.1 Umidade Residual

O valor de umidade residual média encontrado foi muito baixo (próxima a zero) e, portanto, pôde ser considerado insignificante. Assim, descartou-se a possibilidade de o material já conter traços de umidade que pudessem interferir em sua massa, ou ainda danificar-se ou fragilizar-se quando submetido à estufa, como é necessário em alguns testes ambientais.

5.1.2 Índice de Acomodação Volumétrica

Na Tabela 11 estão representados os volumes sem acomodação ($V_{\text{sem acomodação}}$), o volume após a acomodação ($V_{\text{acomodação}}$), a diferença entre os volumes ($V_{\text{diferença}}$) e o resultado de acomodação para cada repetição.

Tabela 11 – Resultados do teste de acomodação volumétrica.

Repetição	$V_{\text{sem acomodação}}$ (mL)	$V_{\text{acomodação}}$ (mL)	$V_{\text{diferença}}$ (mL)	Acomodação Volumétrica	
				(mL/L)	(%)
1	875	770	105	120	12
2	910	790	120	132	13,2
3	900	790	110	122	12,2
Média	895 ± 18	783 ± 12	112 ± 8	125 ± 6	$12,5 \pm 0,6$

É possível perceber, portanto, que após a acomodação do material, $12,5 \pm 0,6$ % do volume ocupado a princípio, ficaria livre. O volume ocupado pelo meio suporte sem acomodação em um compartimento, era aproximadamente 100 m^3 e, após a acomodação, esse volume passou a $87,5 \text{ m}^3$. Esse dado é importante para auxiliar o cálculo de dimensionamento do reator, uma vez que ciente desta possibilidade de acomodação dos mini-BioBobs®, o volume de reator calculado poderá ser menor ou o volume de meio suporte poderá ser maior.

5.1.3 Índice de Vazios

O volume de água adicionado na proveta, o volume final após inserir o material, o volume de água deslocado, o índice de vazios e o volume unitário de cada um dos materiais são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12 - Índice de vazios e volume unitário.

Material	Vol água adicionado (mL)	Vol água final (mL)	Vol água deslocado (mL)	Índice de vazios (%)	Volume unitário (mL/unidade)
mini-BioBob® completo**	700	825	125	84,8	1,25
Anéis	750	795	45	94,3	0,45
Espuma	750	775	25	96,8	0,25

**Com ar residual

É importante destacar que o volume de água deslocado no teste realizado para os mini-BioBobs® completos, sofreu interferência da incapacidade de remover eficientemente o ar residual contido dentro da espuma, devido à incompressibilidade do material como um todo, uma vez que o anel plástico poderia romper. Assim, considerando o volume unitário do mini-Biobob® completo igual a 0,70 (soma referente ao dos anéis e das espumas), foi possível determinar indiretamente o índice de vazios, sendo o mesmo igual a 95,2%.

Conforme apresentado na Tabela 6, a ocupação volumétrica de cada compartimento por meio suporte é igual a 46%. No entanto, como 95,2% do compartimento é constituído de vazios, é possível concluir que os mini-BioBobs® só ocupam, de fato, cerca de 2,3 % do volume de cada compartimento. Este resultado demonstra a elevada porosidade do material do suporte e, portanto, a elevada área específica na parte interna das espumas para o desenvolvimento do biofilme.

Este dado é muito utilizado para determinação no nível de compactação e porosidade de solos (OTHMAN; MARTO, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2007). No entanto, foi utilizado de forma análoga para os compartimentos do reator preenchidos com os mini-BioBobs®.

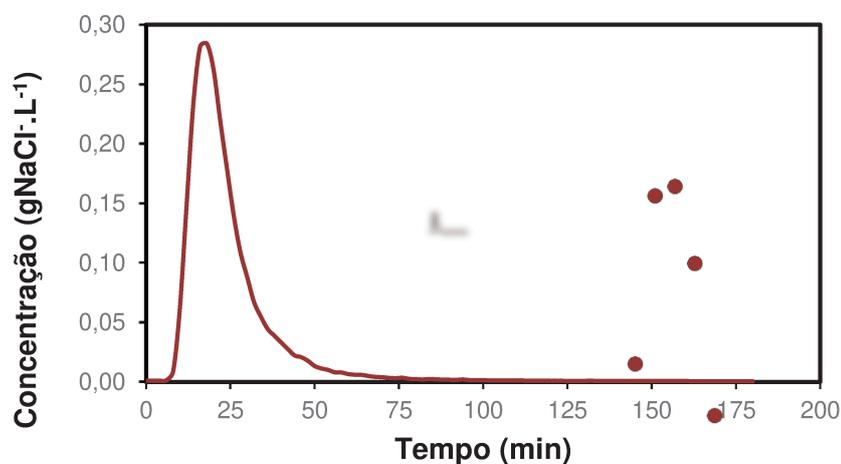
Machdar (2016) realizou o teste de índice de vazios para um reator de biofilme de leito móvel (conhecido como MBBR, do inglês *moving bed biofilm reactor*), de volume útil igual a 10 L, sendo que deste, 40% foi preenchido por plástico

corrugado em formato cilíndrico (vazado) de diâmetro e altura iguais a 14 e 10 mm, respectivamente. Não foi especificado quantas unidades do meio suporte foi inserido no reator. De acordo com o autor, o reator preenchido com este material apresenta índice de vazios igual a 92,18%. No entanto, mesmo que índice de vazios tenha sido próximo ao determinado nesta pesquisa, devido ao material ser vazio em seu interior, a área superficial específica disponível para crescimento do biofilme é menor do que a das espumas.

5.2 Comportamento hidrodinâmico

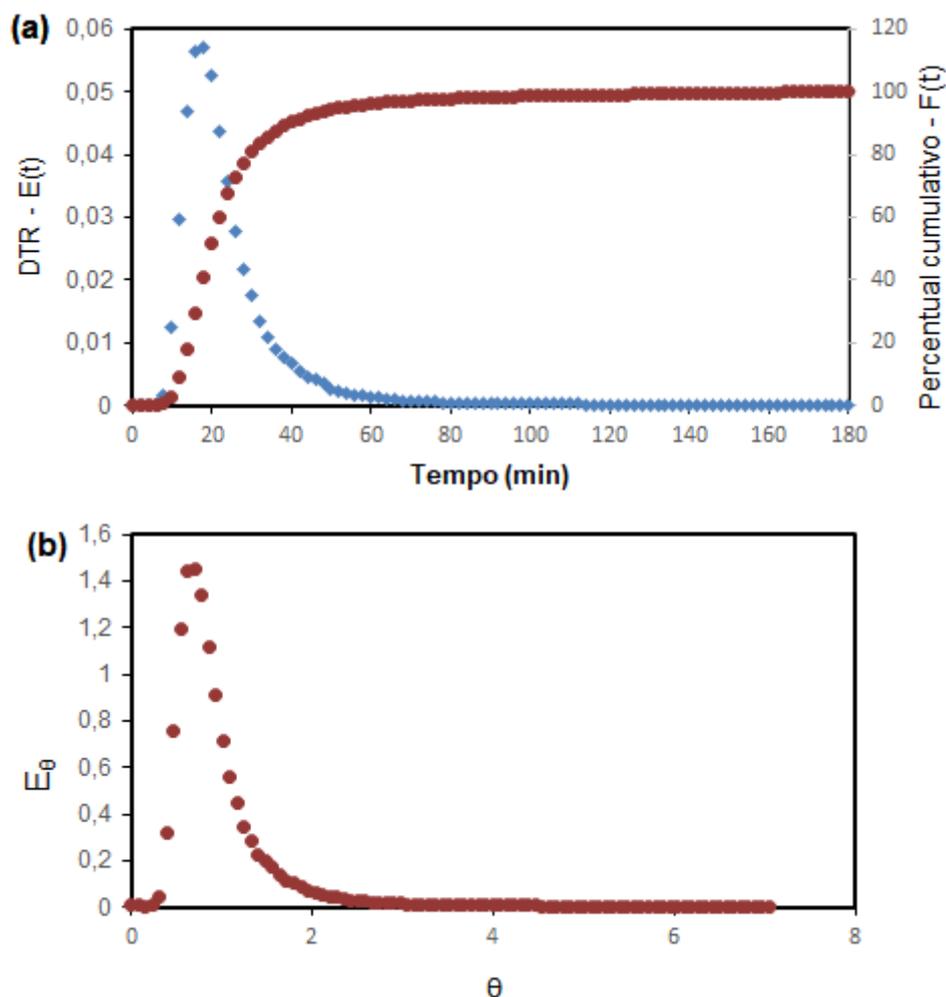
A partir das curvas dos padrões, foi possível obter os valores de concentração de NaCl das amostras coletadas durante o ensaio. A variação dessa concentração em relação ao tempo está representada na Figura 12. Estes valores serviram de base para determinação do $TDH_{\text{observado}}$, o qual resultou em 25,6 minutos.

Figura 12 – Relação entre as concentrações de cloreto de sódio e o tempo de coleta.



A Figura 13 (a) ilustra a DTR e percentual cumulativo em relação ao tempo de coleta e (b) os valores de E e tempo adimensionais.

Figura 13 – (a) Curva de Distribuição do Tempo de Residência e Percentual cumulativo; (b) Curva de E e tempo adimensionais.



É possível perceber nas curvas das Figuras 10 e 11 o efeito de cauda alongada após a formação do pico, devido a um lento decaimento do traçador em função do tempo. Este efeito pode ter ocorrido devido a difusão do NaCl em zonas mortas formadas ao longo do reator (a detecção de zonas mortas no FBP será melhor discutida adiante), culminando na lenta liberação do traçador.

Fia *et al.* (2016), realizaram o ensaio em dois reatores UASB e em um Filtro Biológico Aerado Submerso, utilizando cloreto de lítio (LiCl) como traçador, e também observaram o efeito de cauda. Os autores atribuíram este efeito à difusão do traçador em zonas mortas.

O efeito de cauda alongada observado para o FBP pode ter ocorrido ainda, devido à difusão do traçador para dentro das espumas. Kreutz *et al.* (2018), também observaram este fenômeno ao realizar o teste em um Reator Anaeróbico de Leito Fixo, utilizando argila expandida como meio suporte. Os autores ressaltaram que, antes da introdução do traçador, o meio suporte poroso encontra-se encharcado de água. À

medida que a solução com o traçador entra em contato com a superfície do material, é estabelecido um gradiente de fora para dentro do mesmo. Após a passagem do pulso, a concentração do traçador na corrente de água tende a ficar menor do que dentro dos poros, estabelecendo-se o gradiente agora no sentido oposto. Dessa forma, há a liberação mais lenta do restante do traçador, representado graficamente por esta cauda alongada após o pico.

Com relação ao tipo de escoamento, ao realizar a análise gráfica comparativa entre as curvas das Figura 13a e 11b, obtidas para o FBP, e a Figura 6, sugerida por Levenspiel (2000), pode-se perceber que o comportamento hidrodinâmico assemelhou-se mais ao fluxo pistonado. De forma mais detalhada, observou-se que na curva F (Figura 13a) a recuperação do traçador foi relativamente baixa até próximo ao $TDH_{\text{observado}}$, quando aumentou abruptamente com a passagem do pulso e, posteriormente, tornou-se relativamente constante, devido à saída mais lenta do traçador (conforme comentado acima). Já nas curvas E (Figura 13a) e E_0 (Figura 13b), observou-se a formação de um pico, com máximos no $TDH_{\text{observado}}$ e em 1, respectivamente, assemelhando-se bastante às representações gráficas do fluxo pistonado (Figura 6).

Alguns outros parâmetros importantes para auxiliar a análise do comportamento hidrodinâmico do FBP, são mostrados na Tabela 13. As equações para o cálculo e as possíveis interpretações para os resultados estão na Tabela 7.

Tabela 13 - Parâmetros para avaliação da performance hidráulica do reator.

Parâmetro	
Eficiência volumétrica (λ)	0,43
Índice de curtos-circuitos (ψ)	0,1
Recuperação do traçador (%)	114,8
Índice de dispersão de Morril (IDM)	3,2

De acordo com os resultados da Tabela 13, foi possível observar a partir da eficiência volumétrica (λ) que nem todo volume útil do reator está sendo de fato utilizado para o tratamento devido a formação de zonas mortas e curtos-circuitos. Estes resultados foram corroborados pelo índice de curto-circuito (Angeloudis *et al.* (2015) explicam que a presença de curtos-circuitos faz com que o efluente passe mais rapidamente do que o previsto ($TDH_{teórico}$) pelo reator, influenciando, assim na eficiência de degradação do mesmo. Já as zonas mortas podem ser responsáveis pelos curtos-circuitos, uma vez que são formadas zonas de estagnação que ocupam parte do volume do reator. Além disto, nestes locais de estagnação, podem ficar retidas partículas, patógenos e substâncias por um período maior que o $THD_{teórico}$.

O cálculo do índice de curtos-circuitos (ψ) corroborou a existência de zonas mortas e curtos-circuitos no FBP, uma vez que seu valor distanciou bastante de 1. A presença desde fatores no reator, podem ter sido responsáveis pelo adiantamento do pico, como pode ser observado na Figura 12 e, conseqüentemente, pelo menor $TDH_{observado}$. Como já referenciado acima, Fia *et al.* (2016) além da formação de cauda alongada, semelhantemente a esta pesquisa, também observaram o adiantamento do pico, e, conseqüentemente, reportaram $TDH_{observado}$ menor que o $TDH_{teórico}$. Os autores atribuíram este fato à presença de zonas mortas e curtos-circuitos.

Toda a massa de traçador injetado no reator foi recuperada, no entanto, o valor encontrado foi superior a 100%. Costa *et al.* (2019) realizaram o ensaio hidrodinâmico usando LiCl como traçador em três sistemas alagados construídos de escoamento horizontal subsuperficial (SACs-EHSS) em escala piloto, com volumes iguais a 0,40 m³ e $THD_{teórico}$ igual a 2,8 dias. Os autores também observaram em alguns ensaios a recuperação do traçador maior do que 100% e atribuíram isto ao fato de que, como as amostras são coletadas de tempos em tempos e não de forma contínua, é assumido que não há variação do traçador durante os intervalos de coleta. No entanto, eventuais picos de concentração que duram menos que o intervalo entre as coletas, são extrapolados para todo o período, resultando em superestimativa da concentração do traçador no tempo. Dessa forma, suspeita-se que isto possa ter ocorrido no ensaio do FBP, uma vez que as amostragens foram feitas de 2 em 2 minutos, porém o tempo de coleta foi de cerca de 1:20 min.

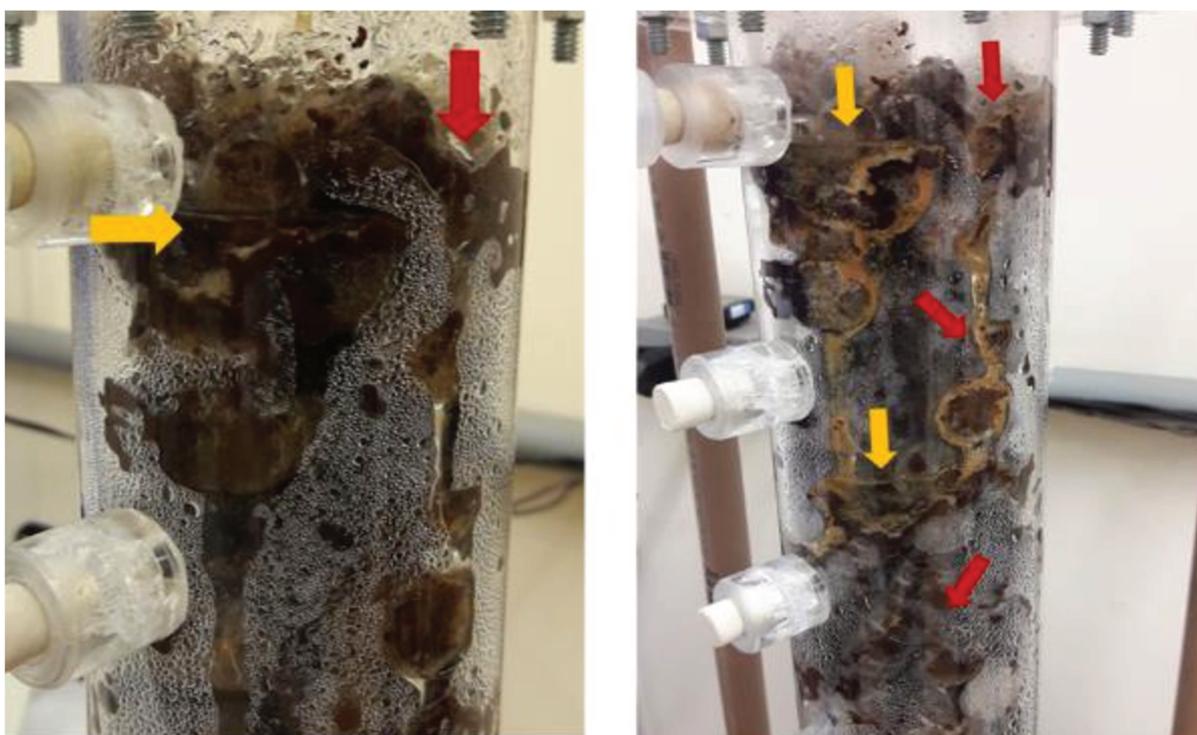
Com relação ao Índice de Dispersão de Morril, é possível observar pelo resultado mais próximo a 1, uma maior semelhança do escoamento com o fluxo

pistonado, corroborando os resultados da análise gráfica comparativa, abordada acima.

Embora o teste hidrodinâmico tenha sido realizado sem a presença da biomassa, os parâmetros hidrodinâmicos demonstraram a presença marcante de zonas mortas e caminhos preferenciais no FBP. Conforme destacado por Lourenço e Campos (2008), após a inoculação a proliferação de biomassa pode também contribuir para a formação ou potencialização para a formação desses fatores em reatores. Desse modo é possível concluir que após a inoculação do FBP, a presença da biomassa pode ter contribuído ainda mais para a redução do $TDH_{\text{observado}}$.

Durante a operação do reator, foi de fato observado a presença de zonas mortas, principalmente, pelo acúmulo de biomassa. Além disto, um fenômeno observado durante a operação, foi o chamado “efeito de parede” em que parte do efluente tendia a escorrer pelas paredes do FBP ao invés de percolar dentre os mini-BioBobs®. A Figura 14 ilustra a ocorrência de zonas mortas principalmente por acúmulo da biomassa e curtos-circuitos formando o “efeito de parede”.

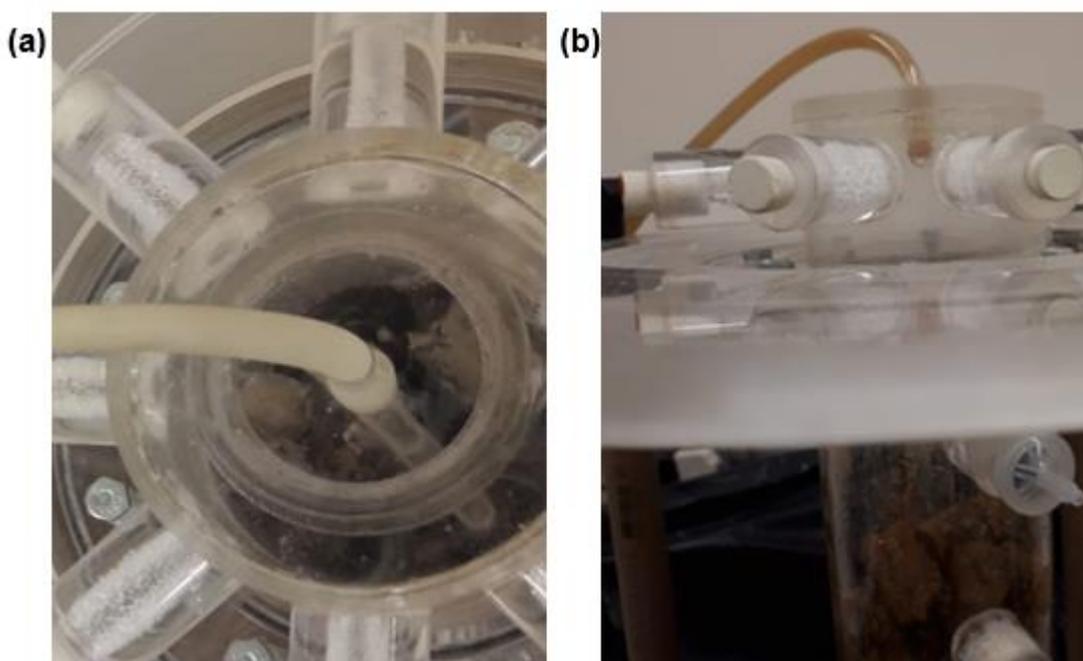
Figura 14 – Zonas mortas e curtos-circuitos no primeiro compartimento do FBP.



— Zonas mortas
— Curtos-circuitos

A partir destes resultados, foi possível concluir que a presença de zonas mortas e curtos-circuitos influenciaram a detecção do $TDH_{\text{observado}}$, o qual foi cerca de 57% menor que o $TDH_{\text{teórico}}$. Acredita-se, que parte deste resultado esteja associado à forma de distribuição do afluente no FBP, a qual foi realizada de forma pontual a partir do tudo de entrada, como ilustrado na Figura 15. Outras formas de distribuição foram avaliadas para serem empregadas no FBP, no entanto, nenhuma delas haviam se demonstrado viáveis e, por esse motivo, optou-se por operar o reator com esta forma de distribuição.

Figura 15 - Distribuição do afluente no FBP com vista (a) em planta e (b) e frontal.



Machdar (2016) realizou o teste hidrodinâmico em um FBP testando duas configurações de espumas envolvidas por material plástico cilíndrico, bastante semelhantes ao mini-BioBob® utilizado nesta pesquisa. O reator possuía 200 cm de altura e diâmetro interno igual a 10 cm. Ambos os meios suportes avaliados possuíam 30 mm de diâmetro e 30 mm de altura. O teste foi realizado sem a presença de biomassa, utilizando NaCl como traçador e avaliando 3 $TDH_{\text{teórico}}$ diferentes: 30, 60 e 90 minutos. Os resultados foram muito semelhantes ao desta pesquisa, foi observado adiantamento do pico, e $TDH_{\text{observado}}$ variando entre 36 a 69% menores do que o $TDH_{\text{teórico}}$, para os dois meios suportes e para os diferentes $TDH_{\text{teórico}}$ avaliados. Também foram identificadas as presenças de curtos-circuitos e zonas mortas. Os autores atribuíram estes resultados à forma inadequada de distribuição do afluente (apesar de não terem especificado qual foi utilizada).

É importante observar que os resultados obtidos como, efeito de parede, $TDH_{\text{observado}}$ distante do TDH_{real} , formação de zonas mortas e curtos-circuitos também são frequentemente observados em escalas piloto e real. Além disso, as dimensões do FBP operado neste estudo (como o pequeno diâmetro e altura mais alongada), certamente contribuiriam para a potencialização dos efeitos mencionados.

5.3 Variáveis monitoradas durante a operação

5.3.1 pH

A

Figura 16 ilustra os valores de pH monitorados nas amostras afluente e efluente ao reator durante todo o período de operação. É possível observar que os valores de pH afluente e efluente ao FBP, mantiveram-se relativamente estáveis e bem próximos do valor desejado para a pesquisa (7,5). Estes resultados são corroborados pelos cálculos ilustrados na Tabela 14, na qual é possível observar que, em média, a variação do pH foi muito pequena tanto entre as 3 fases de estudo, quanto entre o afluente e efluente.

Mesmo o maior (8,2) e o menor (6,9) valor de pH detectado, estão dentro da faixa ideal de trabalho das bactérias Anammox (6,7 a 8,3) sugerida por Tchobanoglous, Burton e Stensel (2014b).

Figura 16 – pH monitorado no afluente e efluente do FBP.

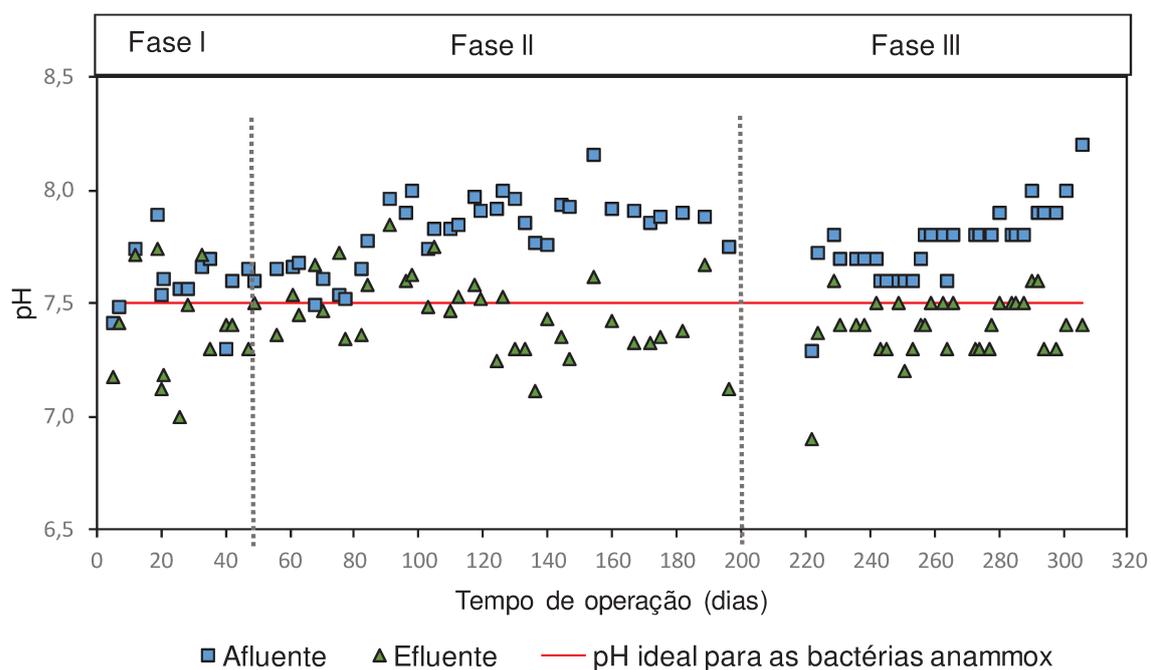


Tabela 14 - pH médio afluente e efluente ao FBP.

	pH Entrada	pH Saída
Fase I	7,6 ± 0,1	7,4 ± 0,2
Fase II	7,8 ± 0,2	7,4 ± 0,2
Fase III	7,8 ± 0,1	7,4 ± 0,1
Média	7,8 ± 0,2	7,4 ± 0,2

5.3.2 Alcalinidade

Os valores da alcalinidade monitorada no afluente e efluente ao reator estão representados na Figura 17 – Alcalinidade monitorada no afluente e efluente do FBP. As médias de cada uma das 3 etapas e do período total de operação, podem ser observadas na

Tabela 15. Conforme observado no tópico 4.5, buscou-se reproduzir nesta pesquisa a faixa de alcalinidade mais próxima à encontrada no esgoto doméstico, a qual, segundo Von Sperling (2002), varia de 110-170 mgCaCO₃.L⁻¹, com valor médio igual a 140 mgCaCO₃.L⁻¹.

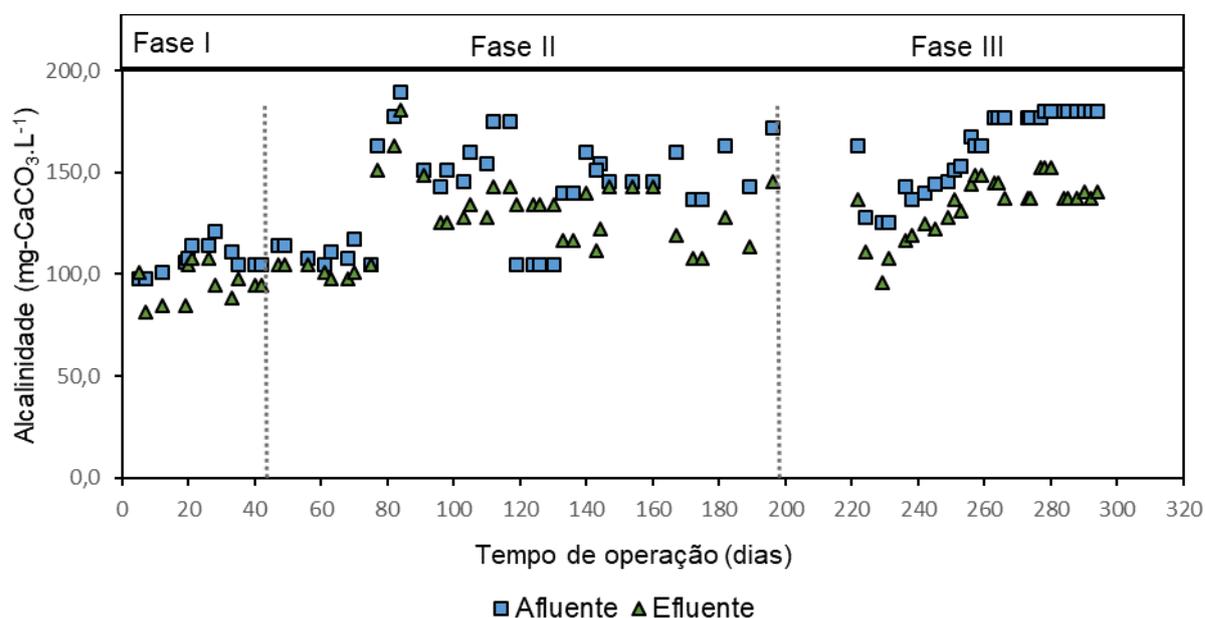
Figura 17 – Alcalinidade monitorada no afluente e efluente do FBP.

Tabela 15 - Alcalinidade média afluente e efluente ao reator.

	Alcalinidade Afluente (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade Efluente (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)
Fase I	106,0 ± 7,5	94,3 ± 9,1
Fase II	146,7 ± 24,6	126,3 ± 19,9
Fase II*	157,6 ± 15,0	133,5 ± 16,3
Fase III	162,5 ± 18,9	134,0 ± 14,5
Média	146,0 ± 27,9	123,9 ± 21,3

*Fase II a partir do aumento da alcalinidade após o 85º dia de operação

É possível observar que durante toda a Fase I e parte da Fase II (até o dia 84 de operação) o valor da alcalinidade manteve-se abaixo da faixa de trabalho desejada (110 a 170 mgCaCO₃.L⁻¹), com média igual a 107,5 ± 6,8 mgCaCO₃.L⁻¹ para o afluente e 97,2 ± 8,2 mgCaCO₃.L⁻¹ para o efluente. A partir do 85º dia de operação, a dosagem de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), composto utilizado para conferir alcalinidade ao substrato sintético, foi ajustada a fim de elevar a alcalinidade para a faixa de trabalho desejada. Conforme é possível observar pelo gráfico da Figura 17, e valores médios mostrados na

Tabela 15, o valor da alcalinidade permaneceu dentro da faixa de trabalho desejada, próximo a 140 mgCaCO₃.L⁻¹.

No entanto, é importante ressaltar, que durante todo o tempo de operação, a alcalinidade apresentou bastante variação, como pode ser observados pelos elevados desvios padrões (

Tabela 15). Uma possível explicação para este fato, seria que em alguns preparos do efluente sintético ocorriam um pouco de precipitação. Além disso, em alguns preparos, também acontecia de uma pequena parte do bicarbonato não se dissolver completamente.

Ainda, é possível observar na

Tabela 15, que a alcalinidade efluente foi menor do que a afluenta. Este fato pode ser atribuído ao fato das bactérias anammox, utilizarem a alcalinidade como acceptor de elétrons, conforme mostrado na Equação 10. Além disso, como comentado no tópico 3.3.1.1, no processo de nitrificação (BOA) também há consumo de alcalinidade ($7,1 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ para cada mol de N-NH_4^+ oxidado). Pelo balanço de massa apresentado na Tabela 18, é possível perceber que mesmo em menores proporções, esta rota metabólica também esteve presente durante a operação do FBP.

5.3.3 Oxigênio dissolvido (OD)

O gráfico representado na

Figura 18 e as médias apresentadas na Tabela 13, são referentes às medições realizadas no efluente antes e após sua percolação no reator. A coleta do substrato afluenta foi realizada desconectando-se uma parte da tubulação anterior ao reator e, utilizando-se um béquer coletava-se por gotejamento aproximadamente 50 mL do substrato afluenta ao reator para então inserir o eletrodo do oxímetro e fazer a leitura. O mesmo procedimento foi realizado para a coleta do substrato na saída do reator. No entanto, esta forma de coleta e análise vai de encontro às recomendadas na metodologia 4500-O G em APHA *et al.* (2012), na qual é especificada que a coleta deve conferir ao líquido o mínimo de turbulência e exposição ao ar possível, a fim de não alterar a concentração de OD na amostra. Dessa forma, estes valores foram monitorados apenas como um auxílio sobre a presença da maior ou menor presença de OD no reator.

Figura 18 – Concentrações de oxigênio dissolvido monitoradas no afluenta e efluente do FBP.

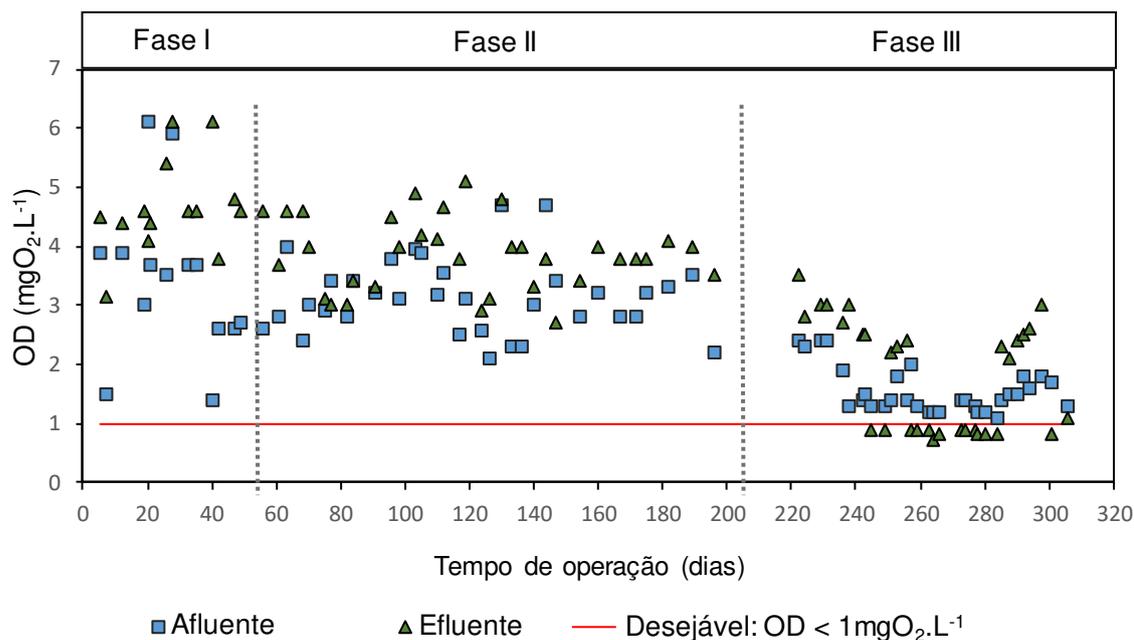


Tabela 16 - Oxigênio dissolvido médio do substrato afluente e efluente ao FBP.

	OD Afluente (mgO ₂ .L ⁻¹)	OD Efluente (mgO ₂ .L ⁻¹)
Fase I	3,4 ± 1,3	4,7 ± 0,8
Fase II	3,1 ± 0,6	3,8 ± 0,6
Fase III	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,9
Média	2,6 ± 1,1	3,2 ± 1,4

Embora, nos dados apresentados acima estejam embutidos erros analíticos, é possível perceber de um modo geral, que na Fase I houve um controle menos efetivo do OD. No entanto, com o tempo de operação o OD foi sendo melhor controlado, como é possível observar pela diminuição dos valores médios a cada fase operacional (Tabela 17). Na Fase III é possível perceber uma redução na concentração de OD e os valores ficaram mais próximos a 1,0.

Uma forma utilizada para monitorar a entrada de OD no reator, foi por meio da medição diretamente nos reservatórios R1 e R2 e no reservatório de água desclorada. Ao abrir estes reservatórios para reposição, era realizada a leitura do OD no líquido remanescente. Após o preenchimento e redução da concentração de OD

com auxílio do gás nitrogênio, uma nova medição era realizada. Foi possível observar pelos dados obtidos que quanto maior o tempo entre as reposições, maiores eram as concentrações de OD nos reservatórios antes de preenchê-los.

Este monitoramento foi muito importante para nortear sobre a concentração de OD que de fato ia para o reator. Nos primeiros 3 meses de operação, mesmo que nos dias de reposição de substrato nos reservatórios, o OD fosse reduzido para valores menores ou bem próximos a $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, notava-se quem em cerca de dois ou três dias o OD, principalmente no reservatório de água desclorada, o qual contribuía com a maior parte da vazão, assumia valores entre 3 e $5 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Estes valores são considerados altos quando se trabalha com bactérias anammox, podendo levar à inibição do processo (JIN *et al.* 2012), além de favorecer o desenvolvimento de bactérias nitrificantes (MIAO *et al.* 2016). O elevado aporte de OD de fato resultou no acúmulo de nitrato no FBP e será melhor discutido no tópico 5.4.

Afim de buscar melhor controle do OD no sistema, a partir do 112º dia de operação, foi conectado no *headspace* de todos os reservatórios, uma vazão baixa de gás nitrogênio. Essa estratégia, proporcionou a manutenção da concentração de OD abaixo de aproximadamente $0,5 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no reservatório de 100 L água desclorada e abaixo de $0,3 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ nos reservatórios de 20L de substratos. A partir do gráfico da

Figura **18**, é possível observar a redução na concentração de OD próximo ao 110º dia de operação. Com exceção dos dias em que ocorreram problemas operacionais por falta de gás nitrogênio, acredita-se que a partir do 112º dia de operação, o oxigênio dissolvido foi, de modo geral, bem controlado no sistema.

Ainda, na Fase III, houve uma adequação no equipamento de medição de OD e as leituras ficaram mais precisas e resultaram em valores menores do que antes desse procedimento. O que pode ser observado no gráfico da

Figura **18**, pela redução nas concentrações de OD.

5.3.4 Temperatura

A temperatura ambiente foi monitorada durante a operação do reator, e os valores médios referentes às 3 fases são mostrados na Tabela 17. Observa-se, portanto, que as temperaturas ambientes médias nas 3 fases foram próximas. Além disso, durante todo o período de operação o FBP trabalhou em temperatura ambiente média igual a aproximadamente 26°C.

As menores temperaturas ambientes foram observadas na Fase I em julho (referente ao 23º ao 54º dia de operação), mês de inverno no Brasil, em que o reator trabalhou, em média, a 23,9°C. Já as maiores temperaturas registradas ocorreram durante a Fase III no mês de fevereiro (referente ao 239º ao 266º dia de operação), estação de verão no Brasil, em que o reator trabalhou, em média, a 28,2°C. No entanto, a amplitude térmica entre esses meses foi de apenas 5º C e tiveram uma curta duração e, devido a isto, podem não ter afetado significativamente o desempenho do FBP.

Tabela 17 – Média da temperatura ambiente em cada fase de operação.

	Temperatura (°C)
Fase I	24,1 ± 1,9
Fase II	26,2 ± 2,5
Fase III	26,8 ± 1,8
Média	25,9 ± 2,4

Embora o bom desempenho das bactérias anammox seja frequentemente associado a temperaturas mais elevadas (normalmente entre 30-38°C), optou-se por operar o FBP em temperatura ambiente, a qual em média, foi um pouco mais baixa que a faixa considerada ideal para as bactérias anammox (Tabela 17). A operação de reatores sem controle de temperatura tem como vantagem a redução dos gastos com energia e equipamentos, o que é relevante principalmente para pesquisas realizadas em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil (Wang *et al.*, 2019).

Fernandes *et al.* (2018), estudaram a influência de temperaturas moderadas, típicas de países tropicais, na remoção de nitrogênio pelo processo Anammox em um RBS de volume igual a 2 L, tratando efluente real doméstico anaeróbio pré-tratado, o qual possuía, em média, 109 mgDQO.L⁻¹, 38,4 mgN-NH₄⁺.L⁻¹

e $170 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ (*mainstream*). Além disso, foi realizada suplementação de nitrito (cerca de $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ em média). As bactérias anammox foram enriquecidas com efluente sintético ($32 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e $47 \text{ N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$), sem adição de carbono orgânico, em temperatura igual a 35°C , por um período de 160 dias. Após esse período o RBS foi alimentado com o efluente real e a atividade anammox avaliada em temperaturas iguais a 35°C , 25° e 20°C . Os resultados demonstraram que em todas as temperaturas avaliadas (inclusive a 20°C), a eficiência de remoção de nitrogênio foi acima de 89%. No entanto, operando a 25°C , foram obtidas as maiores eficiências de remoção de nitrito e amônia, demonstrando viabilidade de utilizar o processo Anammox no tratamento de efluentes *mainstream* em temperaturas mais baixas do que a faixa considerada ótima para as bactérias anammox ($30\text{-}38^\circ\text{C}$).

Wang *et al.* (2019) também obtiveram boa eficiência de remoção de nitrogênio tratando efluente sintético com característica *mainstream* pelo processo Anammox à $20 \pm 1^\circ\text{C}$. No estudo, foi operado um reator anaeróbio com biofilme (denominado em inglês *Anaerobic Baffled Biofilm Reactor* – ABBR) de volume útil igual a 6 L, inoculado com lodo ativado, alimentado com $50 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e $50 \text{ N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ e carga de nitrogênio igual a $0,10 \text{ kg-N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. O processo Anammox foi estabilizado após 47 dias com taxa de remoção de nitrogênio entre $0,072$ a $0,076 \text{ kg-N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ e eficiência de remoção de nitrogênio igual a cerca de 70%. Os autores observaram ainda que o período de start-up foi menor do que em estudos similares.

No presente estudo, buscou-se seguir a linha de pesquisa *mainstream* utilizando o processo Anammox. Para isto, embora nesta primeira etapa de partida do FBP-Anammox, não tenha sido adicionada nenhuma fonte de carbono, procurou-se reproduzir as condições de temperatura moderada (26 ± 2 ; Tabela 17) e não controlada, além de concentrações de amônia mais semelhantes às encontradas em efluentes domésticos no Brasil (encontrados em tratamento de esgoto em *mainstream*) (SACHETTO *et al.*, 2019).

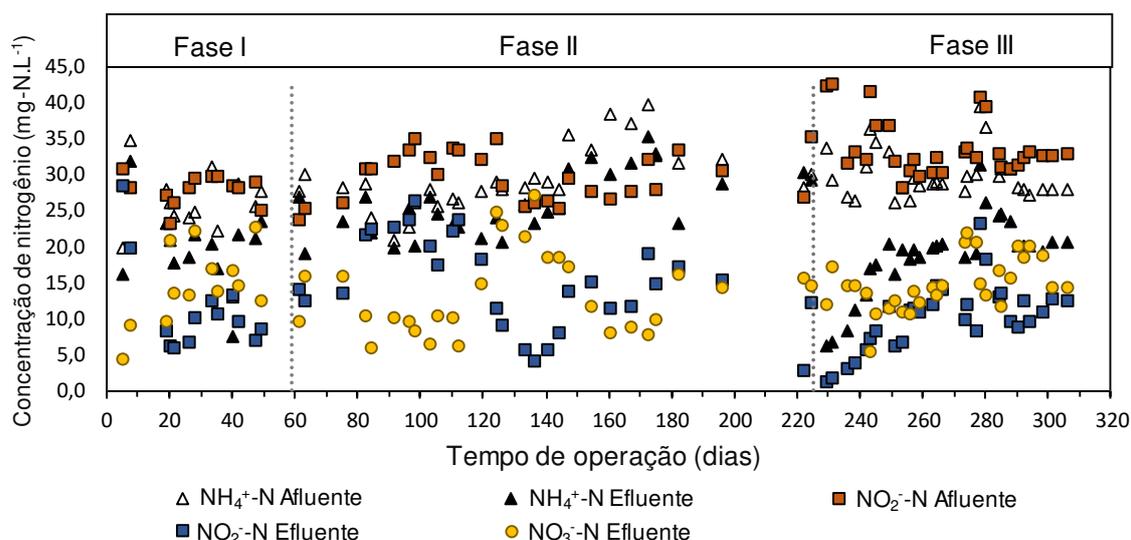
5.4 Remoção de nitrogênio

Para avaliar se a não recirculação do efluente final influenciava a remoção de nitrogênio via Anammox, foram monitorados no afluente e no efluente do FBP as concentrações de nitrogênio nas formas de amônia (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), conforme ilustrado no gráfico da Figura 19a.

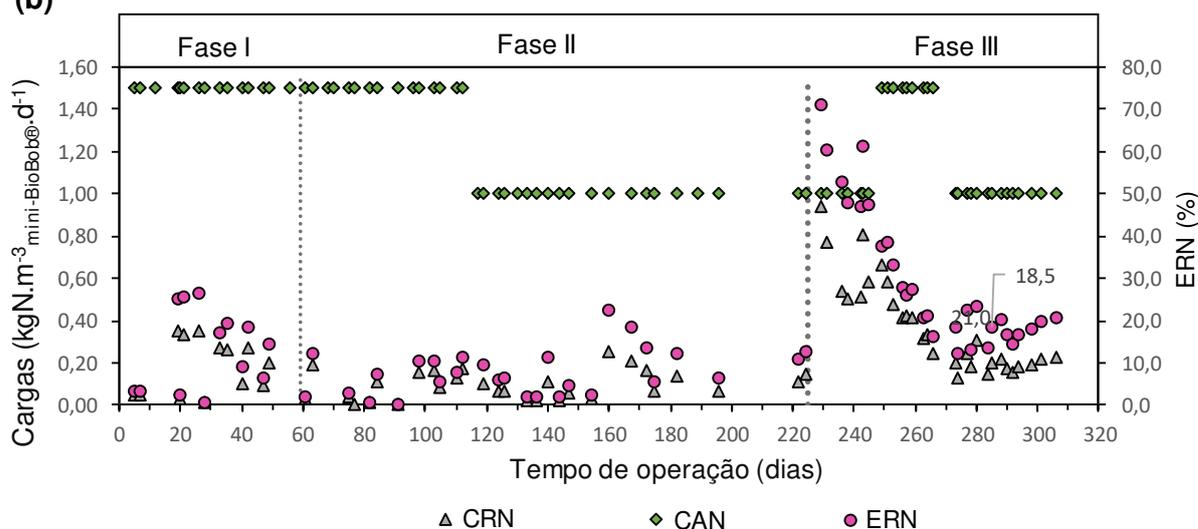
No gráfico da Figura 19b são mostradas as Cargas de Remoção de Nitrogênio (CRN), e de aplicação de Nitrogênio (CAN) e as Eficiências de Remoção de Nitrogênio (ERN) obtidas durante todo o período de operação. É interessante observar que, no gráfico da Figura 19a, os valores encontram-se muito instáveis conferindo um certo desconforto visual e dificuldade de interpretação. Nos gráficos em que o processo Anammox atinge uma estabilidade, os pontos seguem uma certa linearidade, deixando a figura com um aspecto menos “poluído”, o que auxilia a interpretação do mesmo (AUGUSTO; CAMILOTI; SOUZA, 2018).

Figura 19 – (a) Concentrações nitrogênio afluentes e efluentes ao FBP; (b) TRN, CVN e ERN, para as 3 fases de operação do FBP.

(a)



(b)



O balanço de massa, apresentado na Tabela 18, foi calculado atribuindo-se toda a remoção de nitrogênio total do reator ao processo Anammox, uma vez que como não havia o aporte de carbono orgânico, não poderia haver remoção significativa por desnitrificação. Também não foi considerado no cálculo, a produção de nitrito pelas BOAs. A partir do cálculo do balanço de massa foi possível ter uma perspectiva dos principais processos envolvidos no FBP. Para os cálculos foram consideradas as equações 2, 3 e 10.

Tabela 18 - Balanço de massa com os valores de remoção médios das 3 fases operacionais.

	NH_4^+			NO_2^-			NO_3^-		
	ΔNH_4^{+*} (mgN.L ⁻¹)	Anammox (mgN.L ⁻¹)	BOA (mgN.L ⁻¹)	ΔNO_2^{-*} (mgN.L ⁻¹)	Anammox (mgN.L ⁻¹)	BON (mgN.L ⁻¹)	Produção (mgN.L ⁻¹)	Anammox (mgN.L ⁻¹)	BON (mgN.L ⁻¹)
Fase I	5,3 ± 2,0	3,1 ± 2,3	2,1 ± 2,0	16,7 ± 5,5	4,1 ± 3,0	12,5 ± 4,8	14,6 ± 5,3	0,8 ± 0,6	13,8 ± 5,5
Fase II	4,0 ± 2,8	2,1 ± 1,6	1,8 ± 2,5	14,6 ± 4,5	2,8 ± 2,1	11,8 ± 4,8	13,6 ± 5,9	0,6 ± 0,4	13,0 ± 6,0
Fase III	11,2 ± 5,3	8,6 ± 5,5	2,6 ± 1,5	23,6 ± 6,3	11,4 ± 7,3	12,2 ± 2,8	14,8 ± 3,7	2,2 ± 1,4	12,6 ± 4,6

* (Concentração afluente - Concentração efluente)

O tempo total de operação do FBP foi de 306 dias. Neste período, alterações em relação à biomassa presente no reator, demarcaram o período operacional total em 3 fases: Fase I (dia 1 ao 59), Fase II (dia 60 ao 224) e Fase III (dia 225 ao 306). Além disso, foram realizadas algumas alterações hidráulicas ao longo do período operacional, as quais são mostradas na Tabela 8 (tópico 4.5). A seguir serão discutidas separadamente os principais resultados de cada uma das 3 fases.

5.4.1 Fase I

Logo após a inoculação do reator, foi observado consumo de amônia (3,2 ± 0,6) e nitrito (5,4 ± 4,2), além de produção de nitrato (6,8 ± 3,5). No entanto, foi possível perceber pelo cálculo do balanço de massa, que já nos primeiros dias, havia a presença do processo de nitratação, uma vez que houve um consumo maior de nitrito e maior produção de nitrato do que a proporção estequiométrica do processo Anammox estabelecida por Strous *et al.*, (1998) ($\text{NH}_4^+ : \text{NO}_2^- : \text{NO}_3^-$; 1:1,32:0,26). Além disso, destaca-se, que no efluente sintético não havia presença de carbono orgânico e, portanto, a diminuição do nitrito não poderia ser atribuída à desnitrificação.

Com relação à remoção de nitrogênio pelo processo Anammox na Fase I, é possível observar pelo gráfico da Figura 19b, uma grande variação na eficiência do reator. Até o 7º dia de operação, o reator apresentou eficiência de remoção pelo processo Anammox de aproximadamente 3%, sendo que no 19º a eficiência já havia aumentado para 25%, evidenciando o potencial de desenvolvimento das bactérias anammox neste período. No entanto, neste mesmo dia após preenchimento dos

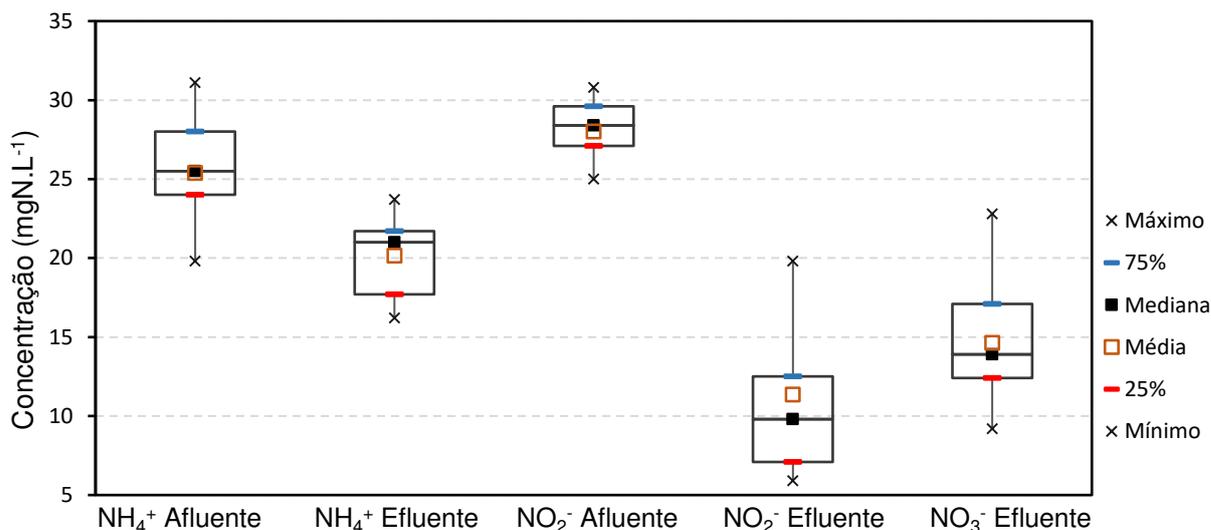
reservatórios, um problema técnico impossibilitou a redução do OD no sistema e, devido a isto, no 20º dia de operação a eficiência caiu para 2,3%.

Já no 21º dia, embora o OD ainda estivesse em concentrações mais elevadas do que a faixa ideal de trabalho das bactérias anammox, a eficiência aumentou rapidamente para cerca de 27% e permaneceu assim até o 26º dia de operação, quando voltou a cair bruscamente para 0,8%, devido a uma nova sobrecarga de OD. No 33º dia de operação, o OD já encontrava-se mais reduzido e a eficiência aumentou para cerca de 17%, como pode ser observado pela Figura 19b.

Até o fim da Fase I (59º dia de operação), a eficiência continuou variando bastante, no entanto, de forma menos abrupta e sem relação à sobrecargas de OD. Apesar do controle, após os problemas operacionais mencionados, o reator não recuperou a eficiência obtida nos primeiros dias de operação. Se considerado o período pós problemas operacionais até o fim da Fase I (do 33º ao 59º dia) a eficiência média de remoção de nitrogênio no FBP foi igual a $14,1 \pm 5,3\%$ o que corresponde a uma taxa de remoção de nitrogênio igual a $0,20 \pm 0,08 \text{ kgN.m}^{-3}_{\text{mini-BioBob}} \cdot \text{d}^{-1}$.

Além da perda de eficiência atribuída aos problemas operacionais, acredita-se, ainda, que a instabilidade e perda de eficiência observada no fim da Fase I, também esteja associada à inibição das bactérias anammox pela elevada concentração de OD presente no afluente neste período (conforme comentado no tópico 5.3.3) (MAO *et al.*, 2017). Além disto, a intensificação da concentração de nitrato neste período, evidenciou a nitratação como rota metabólica dominante no reator. Consequentemente, a abundância de BON no reator, pode também ter contribuído para a inibição das bactérias anammox pela competição por nitrito (WANG *et al.*, 2015).

A partir do gráfico Box-Plot da Figura 20, é possível observar o estabelecimento do processo de nitratação no reator na Fase I. Durante esta fase, as concentrações de nitrito e nitrato variaram bastante no efluente, aproximadamente de 6 a 20 $\text{mgN-NO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ e de 9 a 23 $\text{mgN-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. Esta intensa variação pode estar associada à própria instabilidade no estabelecimento do processo de nitratação, o qual tentava-se suprimir durante a operação. No entanto, as BON se estabeleceram no FBP o que foi corroborado pelo balanço de massa apresentado na Tabela 18, na qual é possível observar que dos 14,6 $\text{mgN-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ produzidos, em média, na Fase I, apenas 0,8 $\text{mgN-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ foi realizado por via Anammox.

Figura 20 - Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase I.

Guillén *et al.* (2015a), reportaram resultados semelhantes nos primeiros meses de operação de dois FBP preenchidos com espuma de poliuretano. Ambos os reatores possuíam volume útil igual a 1,28 L e foram inoculados com lodo anammox ativo e uma pequena quantidade de lodos ativados, sendo que um foi operado a 20°C (reator 1) e o outro a 30°C (reator 2). Os reatores foram alimentados com efluente sintético contendo aproximadamente 50 mgN-NH₄⁺.L⁻¹, 50 N-NO₂⁻.L⁻¹ e CVN de aproximadamente 1,1 kgN.m⁻³.d⁻¹. Semelhantemente a esta pesquisa, o aparato experimental era composto por 2 reservatórios menores de substrato (um rico em amônia e outro rico em nitrito), e um reservatório maior de água destilada que contribuía em maior proporção para a diluição do afluente. Os autores reportaram que a remoção de nitrogênio pelas bactérias anammox se mostrou instável até o 49º dia de operação, e atribuíram este fato à inibição pela presença de OD, uma vez que, do início da operação até esta data, OD não estava sendo reduzido eficientemente. Associado a isto, os autores também observaram predominância do processo de nitratação nos reatores, devido às elevadas concentrações de nitrato no efluente dos reatores 1 e 2, as quais atingiram neste período valores iguais a 46 ± 3 mgN-NO₃⁻.L⁻¹ e 43 ± 2 mgN-NO₃⁻.L⁻¹, respectivamente. Desse modo, foram acoplados aos reservatórios de substratos e água destilada sistemas de captura de oxigênio (*scavenger*) e também começaram a aspergir N₂ no reservatório de água destilada. Após essas medidas, a concentração média de OD no efluente foi estabilizada em 1,1

$\pm 0,2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e a atividade anammox começou a aumentar proporcionando bons resultados ao estudo.

Embora nesta pesquisa, o sistema *scavenger* tenha sido instalado desde o início da operação, sua presença não foi suficiente para reduzir os níveis de OD durante a Fase I, quanto na referida pesquisa de Guillén *et al.* (2015a). Além disso, a solução de sulfeto de sódio e cloreto de cobalto, oxidava-se rapidamente, devido às maiores concentrações de OD nos reservatórios nesse período. Na pesquisa de Guillén *et al.* (2015a), o sucesso na redução das concentrações de OD, foi decorrente da associação entre a efetiva redução de OD no afluente e o sistema *scavenger*, sendo este último utilizado mais como uma ferramenta de auxílio à manutenção dos menores níveis de OD.

Alguns estudos reportaram estabelecimento do processo de nitrificação durante operação de reatores que almejavam o desenvolvimento da biomassa anammox e remoção de nitrogênio principalmente por esta via metabólica. Nestes estudos, podem ser observadas diferentes estratégias para supressão das BON e conseqüentemente redução da concentração de nitrato no efluente final, como: adição de diferentes doses de hidroxilamina ao afluente e controle da idade do lodo (WANG *et al.*, 2015), aeração intermitente (MIAO *et al.*, 2016), reinoculação do reator com biomassa desprovida de BON (JOSS *et al.*, 2011); controle do oxigênio dissolvido no sistema (AUGUSTO; CAMILOTI; SOUZA, 2018; MIAO *et al.*, 2016).

5.4.2 Fase II

Esta fase teve início no 60º dia de operação e foi demarcado por uma abertura do reator para remoção da biomassa granular excedente que não se encontrava aderida aos mini-BioBobs®. Na inoculação realizada no início da Fase I, foi utilizado um lodo bastante granular (Figura 21a). Após o molhamento das espumas (procedimento abordado no tópico 4.6), a parte do lodo remanescente que era formado principalmente por grânulos, foi despejado por cima de cada um dos três compartimentos. No entanto, grande parte destes grânulos não se aderiram às espumas do meio suporte e ficaram presos entre os mini-BioBobs® ou aderidos na parede do reator (Figura 21b).

Com a alimentação do reator, a biomassa excedente aumentou seu volume, potencializando a formação de zonas de estagnação (abordadas no tópico

5.2) e acumulação de precipitados do afluente, principalmente no primeiro compartimento (Figura 21c). Além disso, uma das propostas da pesquisa era a avaliação do mini-BioBob® como meio suporte para o desenvolvimento da biomassa aderida, principalmente em seus interstícios. Embora no fim da Fase I a eficiência de remoção de nitrogênio estivesse mais baixa, suspeitava-se que a maior parte da mesma estivesse vindo dos grânulos excedentes e não da biomassa aderida à espuma. Assim, a partir dessas considerações, optou-se por remover a biomassa excedente (Figura 21d).

Após a remoção da biomassa excedente, o reator apresentou uma queda brusca na eficiência de remoção de nitrogênio, de cerca de 14 para 2% no 61º de operação (Figura 19b). Essa queda já era esperada, uma vez que o reator precisou ser aberto, a alimentação precisou ser interrompida e, além disso, foi removida uma quantidade considerável de biomassa.

No decorrer desta fase, foi observada uma queda de eficiência em relação a Fase I, confirmando a suspeita de que boa parte da remoção era proveniente dos grânulos excedentes. Do 60º ao 113º dia de operação a eficiência de remoção de nitrogênio variou bastante, sendo em média, igual a $6,4 \pm 4,5$ %. Devido a essa queda na eficiência, no dia 114º foi realizada uma redução da vazão do reator e, conseqüentemente, da carga de nitrogênio aplicada, como é possível observar na Figura 19b. Esta decisão foi tomada baseando-se em Guillén, *et al.* (2015a), na qual os autores trabalharam com uma menor vazão e carga de nitrogênio no *start-up*, a fim de favorecer o processo Anammox, em relação às BON. Esse baixo regime de alimentação, também foi adotado por Wang *et al.* (2019) durante a operação de um ABBR, a fim de favorecer às bactérias anammox na competição por nitrito com as BON durante o período de *start-up*. As demais condições operacionais após a mudança da vazão, podem ser visualizadas na Tabela 8 no tópico 4.5.

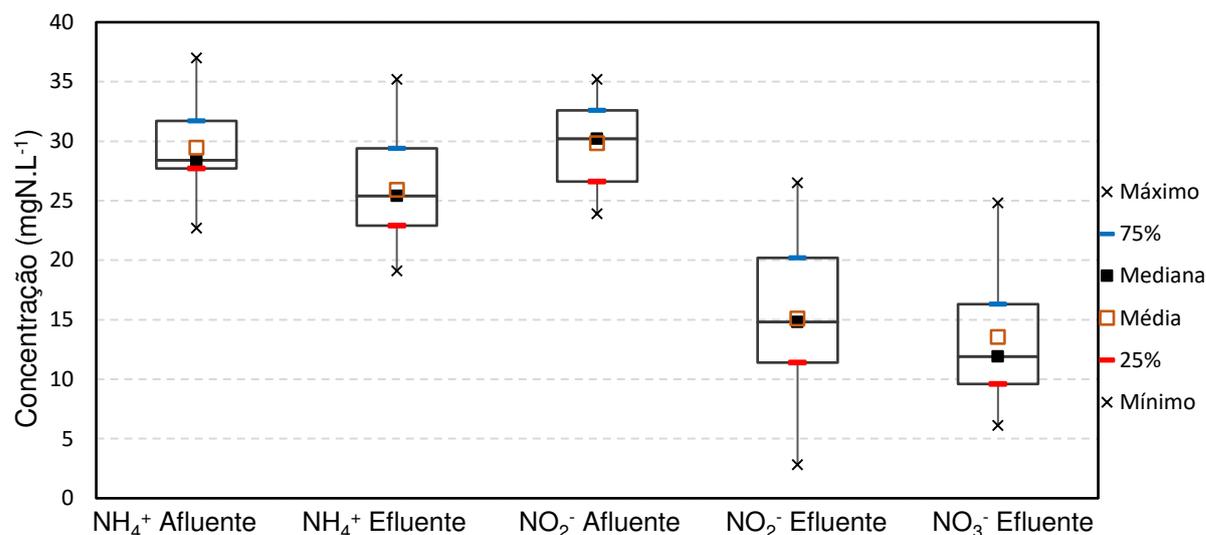
Figura 21 – (a) Lodo utilizado na inoculação do reator na Fase I; (b) FBP inoculado antes da remoção dos grânulos; (c) FBP antes de remover os grânulos, com formação de zonas mortas e acúmulo de precipitados; (d) FBP após a remoção dos grânulos.



Conforme comentado no tópico 5.3.3, a partir do 112° dia de operação foi deixada uma vazão bem baixa de gás nitrogênio no *headspace* dos três reservatórios, o que contribuiu bastante para a manutenção da concentração de OD no afluente abaixo de $0,5 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Até o final da Fase II no 224° dia de operação, o reator foi operado nas condições descritas. No entanto, não foi observada uma melhora significativa na eficiência após as alterações, a qual continuou bastante instável (Figura 19b) e igual, em média, a $8,7 \pm 6,0 \%$. A taxa de remoção de nitrogênio média deste período até o fim da Fase II, foi igual a $0,10 \pm 0,07 \text{ kgN} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{mini-BioBob}} \cdot \text{d}^{-1}$.

Quanto à atividade das bactérias BON, antes da presença do gás nitrogênio no *headspace*, a concentração média de nitrato no efluente final foi igual a $10,0 \pm 3,2 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ (do início da Fase II até o 112° dia de operação). No entanto, após esse procedimento, a concentração de nitrato aumentou, em média, para $20,7 \pm 4,2 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ até o 147° dia de operação. Esse aumento não era esperado, visto que neste período houve um melhor controle do OD afluente. Deste dia até o fim da Fase II, a produção de nitrato reduziu um pouco apresentando concentração média, igual a $12,0 \pm 3,4 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$.

Na figura Figura 22, está representado o gráfico Box-Plot referente a Fase II. Semelhantemente à Fase I, é possível perceber a presença marcante do processo de nitratação por meio da elevada redução da concentração de nitrito e produção de nitrato, desproporcional ao consumo de amônia e, conseqüentemente, à estequiometria Anammox (Equação 10). A atividade das BON também foi constatada a partir do balanço de massa apresentado na Tabela 18, na qual é possível observar que dos $13,6 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ produzidos, em média, na Fase II, apenas $0,6 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ foi por via Anammox.

Figura 22 – Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase II.

5.4.3 Fase III

O início desta fase (225º dia de operação) foi demarcado pela adição no FBP de inóculo anammox já ativo (Figura 23a). Conforme comentado no tópico 4.6.3, uma vez que o reator encontrava-se em operação, o inóculo foi adicionado apenas na parte superior do primeiro compartimento. Já nos primeiros dias de operação, o reator deu uma resposta positiva pelo lodo adicionado, sendo a eficiência no 229º dia de operação igual a 71% correspondente a uma taxa de remoção de nitrogênio igual a $0,94 \text{ kgN.m}^{-3}_{\text{mini-BioBob}} \cdot \text{d}^{-1}$, sendo estes os valores de remoção observados desde o início da operação.

No entanto, como pode ser observado pelo gráfico da Figura 19b, com o decorrer da operação, a eficiência de remoção de nitrogênio foi reduzindo gradualmente. Conforme mostrado na Tabela 8 (tópico 4.5), do 246º ao 266º dia de operação, a vazão foi aumentada para $33,1 \text{ L.d}^{-1}$, que era a vazão de trabalho inicial proposta para o funcionamento do FBP. Essa decisão foi tomada para retirar o reator do período de baixa alimentação iniciado na Fase II, e disponibilizar uma maior carga de nitrogênio para as bactérias. Contudo, foi observado que o reator apresentou uma perda maior e mais rápida de eficiência neste período. Nesses 20 dias de operação com a vazão aumentada, o reator teve uma queda de eficiência na remoção de nitrogênio de, aproximadamente, 46 para 16%. Devido a isso, decidiu-se reduzir novamente a vazão para $22,1 \text{ L.d}^{-1}$ no 266º dia de operação.

Acredita-se que essa perda de eficiência gradual observada na Fase III, esteja associada à forma da nova inoculação em conjunto com o aumento da vazão. Conforme é possível observar na Figura 23b, parte da biomassa se encontrava na parede do reator e sobre o meio suporte.

Com o decorrer da operação e o aumento da vazão (entre o 246º ao 266º dia de operação), parte das bactérias foram arrastadas ao segundo e ao terceiro compartimento, como ilustrado na Figura 23a e Figura 23b e, provavelmente também, para fora do sistema. Deste modo, é possível que este fato tenha contribuído para a queda de eficiência de remoção do sistema ainda que, não tenha sido possível observar a perda de biomassa no recipiente de saída do reator a olho nu e que o FBP tenha alta idade do lodo.

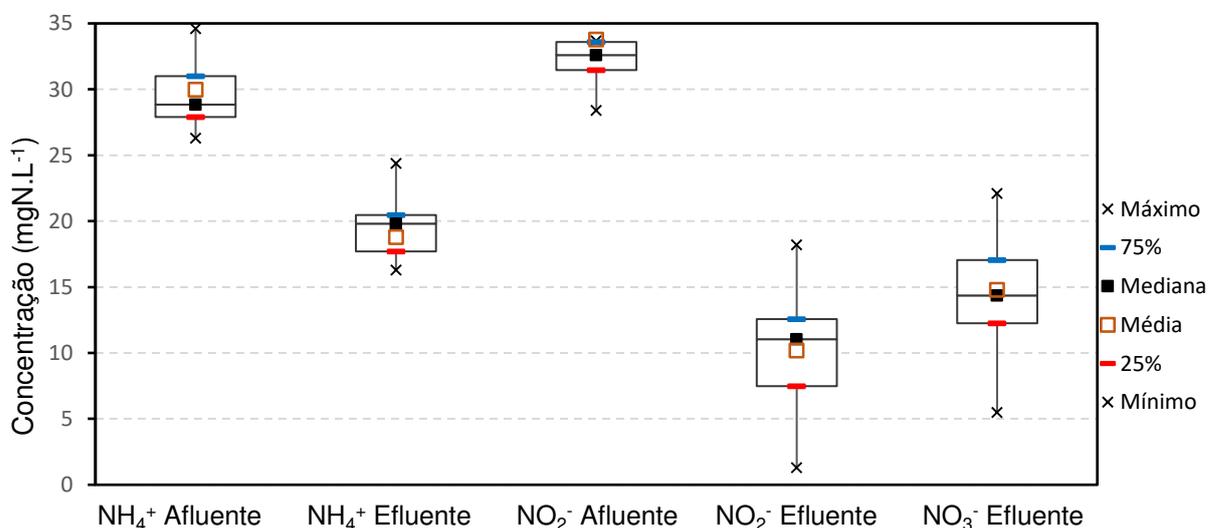
A partir do 263º dia de operação foi observada estabilização do processo Anammox no FBP. Deste dia até o final do período de operação (306º dia), a eficiência de remoção de nitrogênio foi igual a $18,0 \pm 3,4\%$, correspondendo a uma taxa média de remoção de nitrogênio igual a $0,21 \pm 0,06 \text{ kgN.m}^{-3}_{\text{mini-BioBob}^{\circledR}}.\text{d}^{-1}$.

Figura 23 - Lodo usado para inoculação na Fase III; (b) FBP logo após a inoculação; (c) e (d) Perda gradual de biomassa no FBP.



Assim como nas Fases I e II, também foi observada na Fase III a presença do processo de nitratação, como é possível visualizar no gráfico da Figura 24 pela acentuada produção de nitrato, muito além da quantidade inerente à estequiometria Anammox (Equação 10). Além disso, a partir do balanço de massa apresentado na Tabela 18, é possível observar que na Fase III foi produzido, em média, 14,8 mgN-NO₃⁻.L⁻¹, sendo que destes, 2,2 mgN-NO₃⁻.L⁻¹ foi por via Anammox. A maior produção de nitrato nesta fase em comparação às Fases I e II, está relacionada à maior atividade das bactérias anammox presentes no lodo adicionado no início da Fase III.

Figura 24 - Box-Plot das concentrações de nitrogênio monitoradas durante a Fase II.



Ainda é possível perceber pelo balanço de massa (Tabela 18), a proximidade entre as concentrações médias de nitrato produzidas pelas BON nas três fases operacionais, o que demonstra que, embora o OD fosse melhor controlado no decorrer da operação (principalmente próximo ao início da Fase II e durante a Fase III), as concentrações atingidas não foram suficientes para inibir o processo de nitrificação no FBP, o qual já encontrava-se estabelecido desde a Fase I.

Foi realizada a análise estatística dos resultados de nitrogênio total do afluente e do efluente para as Fases I, II, e III. Em todas elas os testes indicaram a existência de diferenças significativas ($p < 0,005$), confirmando assim, a existência de remoção de nitrogênio pelas bactérias anammox no FBP.

De modo geral, considerando as três fases operacionais, foi possível perceber que na Fase I houveram muitas dificuldades operacionais que influenciaram negativamente o desenvolvimento das bactérias anammox, além, de não terem favorecido a competição entre das mesmas e as BON. E o final da Fase I, a eficiência média de remoção pelas anammox muito pequena, igual a $14,1 \pm 5,3\%$.

Na Fase II acredita-se que a remoção dos grânulos foi necessária, no entanto, contribuiu para reduzir ainda mais a biomassa anammox no reator e, por mais que, em boa parte deste período as condições operacionais já estivessem mais favoráveis ao desenvolvimento das anammox, o mesmo já se encontrava altamente inibido. Se considerado todo o período de operação nesta fase, 164 dias, a remoção média de nitrogênio foi de apenas $7,8 \pm 5,5\%$.

Na Fase III os resultados foram melhores no início, no entanto, aos poucos, as bactérias foram sendo arrastadas do reator reduzindo gradualmente a eficiência estabilizando em $18,0 \pm 3,4\%$. No entanto, acredita-se que se adequada a forma de inoculação e operação (principalmente aplicando recirculação em um primeiro momento da operação), é possível obter bons resultados de eficiência inoculando com o mesmo lodo desta fase.

5.4.4 Atividade específica das bactérias anammox

Esse dado foi determinado para o período de estabilização do reator na Fase III, após o 263º dia de operação. A partir do experimento descrito no tópico 4.9, foi possível estimar a quantidade de sólidos contidos no reator, que foi igual a 18,84 g. Este dado em relação ao volume de mini-BioBobs® no reator (1,3253 L), é igual a $14,22 \text{ g.L}^{-1}$.

Como o lodo utilizado para a inoculação do reator continha um percentual de SSV igual a 91%, foi realizada uma aproximação para a quantidade de biomassa contida no reator, assim, o valor da concentração de biomassa no reator foi de $12,94 \text{ gSSV.L}^{-1}$.

A vazão utilizada para o cálculo foi igual a $22,1 \text{ L.d}^{-1}$ e a remoção média de nitrogênio total foi igual a $11,8 \text{ mgN.L}^{-1}$. Desse modo, aplicando a Equação 16, foi obtida uma atividade específica para as bactérias anammox igual a $20,2 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Kowalski, Devilm e Oleszkiewicz (2018) operaram um reator de biofilme de leito móvel (MBBR), de volume útil igual a 16 L, preenchido (40% do volume) por AnoxKaldnes K3, inoculado com lodo proveniente de reator DEMON em escala real. O reator estava sendo operado com carga volumétrica de nitrogênio igual a 530 mg L⁻¹ d⁻¹ e alimentado com 560 mgN.L⁻¹. O teste da atividade específica foi realizado em batelada, utilizando 10 unidades do meio suporte e com efluente sintético contendo 32 ± 1 mgN-NH₄⁺.L⁻¹ e 40 ± 1 mg.N-NO₂⁻.L⁻¹ sendo que a quantidade de biomassa presente no reator igual a 41 gSSV. Foi obtida uma atividade específica igual a 530 gN.gSSV⁻¹.d⁻¹. Os autores concluíram que os testes demonstraram uma excelente performance das bactérias anammox. Como é possível perceber, o resultado encontrado por Kowalski, Devilm e Oleszkiewicz (2018) é cerca de 26 vezes maior do que o encontrado neste estudo, evidenciando a baixa atividade das bactérias durante o período de estabilização.

5.4.5 Características operacionais importantes à eficiência de remoção de nitrogênio no FBP

No tópico 5.3, foram abordados alguns aspectos operacionais que podem ter influenciado nos valores de eficiência de remoção de nitrogênio obtidos durante as três fases operacionais do FBP. No entanto, acredita-se que a ativação do lodo, a forma de inoculação e a ausência da recirculação, tenham impactado significativamente nos resultados obtidos e, devido a isto, serão discutidos separadamente e de forma mais detalhada nos tópicos a seguir.

5.4.5.1 Inóculo

Conforme é possível observar pelas Figura 21a e Figura 23a, a biomassa utilizada como inóculo na Fase I era mais escura do que a utilizada na Fase III, que por sua vez era mais avermelhada indicando uma maior atividade anammox. O lodo utilizado na inoculação do FBP na Fase I passou por um período de refrigeração a 4°C (cerca de 11 meses). Neste período, a concentração de nitrato no lodo foi monitorada e mantida entre 50 a 200 mgN-NO₃⁻.L⁻¹, conforme recomendado por van Loosdrecht *et al.* (2016), a fim de evitar condições anaeróbias e a produção de sulfetos tóxicos às bactérias anammox.

Para a inoculação do reator na Fase I, o lodo foi retirado da refrigeração e utilizado em seguida no procedimento descrito no tópico 4.6. Acredita-se que o choque por diferença de condições ambientais (da refrigeração para o reator), juntamente aos problemas operacionais encontrados nos primeiros meses de operação e a não recirculação do efluente final, a qual será discutida adiante, tenham desfavorecido a competição e o desenvolvimento das bactérias anammox.

Seria importante, antes da inoculação, o lodo ter passado por um processo de aclimação, com condições controladas e mais favoráveis ao desenvolvimento das bactérias anammox (WANG *et al.* 2016). Este procedimento chegou a ser realizado com uma parte do lodo, no entanto, para a efetiva ativação, seria necessário um período superior ao possível pelo cronograma, e dessa forma, optou-se por realizar a aclimação diretamente no FBP.

Diversos autores (CHEN *et al.*, 2016; CHINI *et al.*, 2016) ressaltaram em suas pesquisas a influência do lodo utilizado na inoculação nos resultados de eficiência do reator e no tempo de estabilização, para os diferentes objetivos intrínsecos a cada estudo. Augsto, Camiloti e Souza (2018) operaram um reator de biofilme aerado de membrana (MABR) de volume útil igual a 2,7 L. O reator foi inoculado a partir de lodos ativados e operado a $31,3 \pm 0,7$ °C, objetivando-se o *start-up* pelo processo SNAP. Atividade anammox foi observada após 48 dias e a estabilização do processo SNAP ocorreu após 80 dias, com remoção média de nitrogênio total igual a $78 \pm 6\%$. Os autores ressaltaram que a seleção do lodo utilizado como inóculo foi fundamental para o *start-up* do processo SNAP e os demais resultados da pesquisa.

5.4.5.2 Forma de inoculação

Apesar do lodo utilizado na Fase III estar mais ativo, visivelmente perceptível por sua coloração mais alaranjada/avermelhada (WANG *et al.*, 2019), a forma de inoculação e o aumento da vazão não favoreceram sua aderência aos mini-BioBobs®.

O reator estava em funcionamento e grande parte do meio suporte já continha a biomassa resultante da primeira inoculação, o que pode também ter contribuído para uma menor aderência da biomassa inserida posteriormente.

Sugere-se, portanto, que a inoculação seja realizada sempre com uma biomassa já ativa e com o mesmo procedimento da Fase I baseado em Guillén *et al.* 2015a.

5.4.5.3 Tempo de detenção hidráulica

Conforme mostrado no tópico 5.2, o TDH_{observado} foi de apenas 25,6 minutos, ou seja, cerca de 57% menor do que o TDH teórico, calculado para o FBP. Esse resultado demonstrou que o afluente teve menor tempo de contato com as bactérias do que o previsto, o que possivelmente contribuiu para os menores valores de remoção de nitrogênio observados.

5.4.5.4 Recirculação do efluente final

A pesquisa teve como objetivo a verificação da interferência da não recirculação do efluente final na remoção de compostos nitrogenados durante o período de partida de um FBP.

Com os resultados obtidos, verificou-se que a presença da recirculação é importante para a manutenção das bactérias anammox no FBP. Principalmente neste primeiro momento em que se objetivava a aderência efetiva da biomassa, a recirculação do efluente final pode auxiliar este processo por retornar ao reator parte da biomassa possivelmente arrastada, proporcionando à mesma uma nova oportunidade de se aderir ao meio suporte.

Além disso, a recirculação do efluente final também proporciona um segundo contato do substrato com a biomassa, o que poderia ter contribuído para o aumento da eficiência de remoção de nitrogênio durante a operação do FBP. Desse modo, foi possível concluir que, a recirculação exerce grande influência no período de partida do FBP.

Conforme comentado, a presente pesquisa baseou-se e é continuidade do estudo desenvolvido por Guillén *et al.* (2015a). Os autores avaliaram o cultivo de bactérias anammox em dois FBP (Reator 1 e Reator 2), utilizando espumas de poliuretano como meio suporte. Os reatores também foram operados fechados, porém foi utilizada recirculação do efluente final com a mesma vazão do afluente (27 L.d⁻¹).

Na Tabela 19, é mostrada a comparação entre os resultados obtidos na Fase III do presente estudo e os resultados do período após o 104^º dia de operação

da pesquisa de Guillén *et al.* (2015a), quando foi obtida a estabilização para o Reator 1 e o Reator 2.

Tabela 19 - Comparação entre os resultados da Fase III desta pesquisa, realizada sem recirculação e outro estudo semelhante que utilizou a recirculação do efluente final.

Referência	Temperatura (°C)	Período de operação (dias)	NT (mgN.L ⁻¹)	CVN (kgN.m ⁻³ .d ⁻¹)	ERN (%)	TRN (kgN.m ⁻³ .d ⁻¹)
Este estudo	25,9 ± 2,4	81	60	1,00 ^{a,b}	18,0 ± 3,4	0,21 ± 0,06 ^b
Guillén <i>et al.</i> (2015a) Reator 1	20	301	100	2,15 ± 0,21 ^b	74 ± 5	1,52 ^b
Guillén <i>et al.</i> (2015a) Reator 2	30	301	100	2,09 ± 0,19 ^b	78 ± 4	1,6 ^b

^a Carga volumétrica de nitrogênio utilizada em 75% da Fase III; ^b Baseado no volume de meio suporte (espuma/mini-BioBob®).

De acordo com os resultados ilustrados na Tabela 19, é possível perceber o melhor desempenho do FBP quando operado com a recirculação final. Não que apenas este fator seja responsável pelos melhores resultados da pesquisa, a qual também apresentou um controle mais efetivo do OD, além de uma forma mais adequada de inoculação. No entanto, acredita-se que a recirculação possa ter contribuído para a melhor aderência da biomassa anammox e maior remoção de nitrogênio no efluente final e, assim, influenciado positivamente a eficiência de remoção de nitrogênio no reator.

5.5 Perfil de compostos nitrogenados

O monitoramento das concentrações de nitrogênio nas formas de amônia, nitrito e nitrato ao longo do perfil do reator foi realizado entre o 251º e o 284º dias operacionais do reator, durante a Fase III.

Os pontos iniciais de cada compartimento (C.1.1, C1.2, C.1.3) não foram amostrados, uma vez que após a acomodação dos mini-BioBobs® (tópico 5.1.2), o espaço inicial de cada compartimento ficou sem meio suporte. As alturas consideradas para cada ponto amostral são mostradas na Tabela 20, sendo que a entrada era o primeiro ponto amostrado e, portanto, o valor inicial de altura.

Tabela 20 - Pontos amostrais do perfil e as respectivas alturas no FBP.

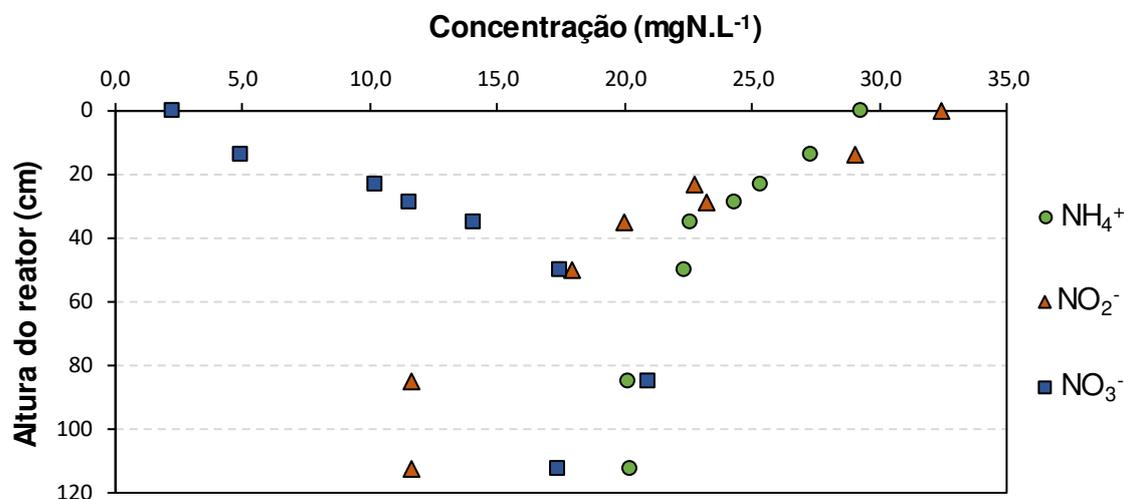
Altura (cm)	Pontos Amostrais
0	Entrada.....
14	C1.2.....
23	C1.3.....
29	C1.4.....
35	C1.5.....
50	C2.2.....
85	C3.2.....
113	Saída.....

C: compartimento; C.1: primeiro compartimento; C.1.2: segundo ponto de amostragem do primeiro compartimento.

Na Figura 25, está ilustrado o gráfico resultante do perfil ao longo do FBP, no qual foram considerados os valores médios de cada composto nitrogenado avaliado. Conforme esperado, é possível perceber o decréscimo das concentrações afluentes de amônia e nitrito, enquanto que há um aumento na concentração de nitrato. A presença do processo de nitratação como rota metabólica predominante no FBP, abordada nos tópicos anteriores, também é perceptível pelo elevado consumo de nitrito simultaneamente a uma maior produção de nitrato.

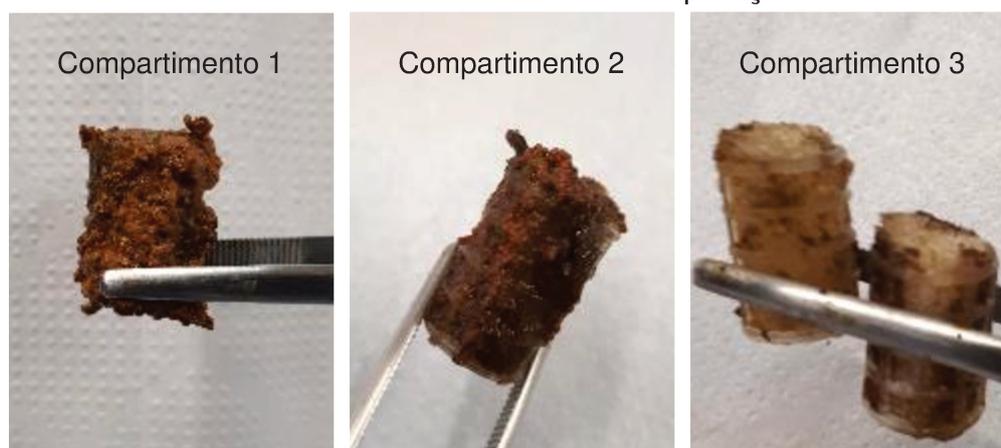
É possível observar ainda, que até a altura de 50 cm (ponto C2.2), correspondente ao início do segundo compartimento, ocorreu a maior parte dos processos metabólicos envolvidos no reator, indicados pela redução mais acentuada de amônia e nitrito, além da maior produção de nitrato até esta altura. Esse resultado está associado à maior quantidade de biomassa presente nas partes mais próximas à entrada do afluente, principalmente no primeiro compartimento, onde a disponibilidade de substrato é maior. Além disso, o decaimento da concentração de nitrito em relação ao da amônia, é muito maior do que a estequiometria do processo Anammox (1:1,32), reafirmando a presença de outras rotas metabólicas no reator.

Figura 25 – Perfil das concentrações médias dos compostos nitrogenados ao longo do FBP.



Durante a operação, foi possível observar o maior crescimento da biomassa no primeiro compartimento, o que, conforme comentado no tópico 5.2, potencializou a formação de zonas mortas e curtos-circuitos no reator. Além disso, a maior concentração da biomassa no primeiro e início do segundo compartimento foi visivelmente observada quando o reator precisou ser aberto no final do período de operação para retirada dos mini-BioBobs® (tópico 4.9). Os mini-BioBobs® removidos no primeiro e no segundo compartimento, possuíam uma maior quantidade de biomassa aderida do que nos retirados no terceiro compartimento. Os mini-BioBobs® mostrados na Figura 26, foram retirados do início do primeiro e segundo compartimento e no final do terceiro. É possível observar, que o meio suporte do primeiro compartimento, tinha uma maior quantidade de biomassa aderida (0,0938 g/mini-BioBobs® em média) do que o do segundo (0,0495 g/mini-BioBobs® em média) e, que por sua vez, tinha mais biomassa aderida do que o do terceiro compartimento (0,0451 g/mini-BioBobs® em média).

Figura 26 – Mini-BioBobs® retirados do FBP ao final da operação.



Resultados semelhantes foram reportados por Guillén *et al.* (2015b). Na pesquisa foram operados dois FBP, em escala de bancada, utilizando placas horizontais de espumas de poliuretano como meio suporte. Os reatores foram inoculados com lodo ativado um FBP, operados com efluente sintético e em temperatura ambiente controlada em 30°C. A pesquisa tinha como objetivo o estabelecimento de nitrificação parcial com convecção natural de ar, no entanto identificaram também o estabelecimento do processo anammox. Os autores reportaram que durante a operação dos FBP houve um maior desenvolvimento das bactérias nas primeiras camadas de esponjas e atribuíram esse fato à maior disponibilidade de substrato nessa região.

Wang *et al.* (2019) também reportaram resultados interessantes acerca do desenvolvimento das bactérias anammox no reator. No estudo, foi operado um reator anaeróbico com biofilme, de volume útil igual a 6 L e inoculado com lodo ativado. O reator também era dividido em 3 compartimentos. Foi observado que quanto mais próximo à entrada do afluente, a biomassa possuía uma coloração avermelhada mais forte e o biofilme era mais denso e apresentada uma melhor estrutura. Além disso quanto à quantidade de biomassa, os autores também reportaram que no compartimento mais próximo a entrada haviam uma maior quantidade de bactérias aderidas ao biofilme.

6 CONCLUSÕES

- A recirculação do efluente final influencia a eficiência de remoção de compostos nitrogenados durante o período de partida de um Filtro Biológico Percolador inoculado com bactérias anammox. Durante o período de partida a recirculação é importante por retornar ao reator parte das bactérias anammox arrastadas do reator, além de proporcionar um segundo contato entre a biomassa e efluente.
- A forma de inoculação e as características do inóculo influenciam a eficiência de remoção ou produção de compostos nitrogenados em um FBP-Anammox.
- A profundidade do leito em um FBP-Anammox influencia a eficiência de remoção ou produção de compostos nitrogenados.

7 RECOMENDAÇÕES

- Dar continuidade aos estudos com o FBP preenchido com mini-BioBobs®, inoculando adequadamente (de forma que a biomassa fique aderida ao meio suporte) com lodo anammox já em atividade e aplicando a recirculação do efluente final. É importante avaliar se a recirculação é realmente necessária por todo o período de partida. Além disso, é essencial que OD esteja bem controlado no sistema, a fim evitar a inibição anammox.

8 REFERÊNCIAS

AHN, Y. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*, v.41, p. 1709–1721, 2006. Doi: 10.1016/j.procbio.2006.03.033

ALI, M.; OSHIKI, M.; AWATA, T.; ISOBE, K.; KIMURA, Z.; YOSHIKAWA, H.; HIRA, D.; KINDAICHI, T.; SATOH, H.; FUJII, T.; OKABE, S. Physiological characterization of anaerobic ammonium oxidizing bacterium 'Candidatus Jettenia caeni'. *Environmental Microbiology*, v. 17, p. 2172–2189, 2015. Doi: 10.1111/1462-2920.12674

ALI, M.; RATHNAYAKE, R. M.; ZHANG, L.; ISHII, S.; KINDAICHI, T.; SATOH, H.; TOYODA, S.; YOSHIDA, N.; OKABE, S. Source identification of nitrous oxide emission pathways from a single-stage nitrification-anammox granular reactor. *Water Research*, v. 102, p. 147-157, 2016. Doi: 10.1016/j.watres.2016.06.034

ALI, M.; OKABE, S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. *Chemosphere*, v. 141, p. 144-153, 2015. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.06.094

ALMEIDA, P. G. S., MARCUS, A. K., RITTMANN, B. E., CHERNICHARO, C. A. L., 2013. Performance of plastic – and sponge – based trickling filters treating effluents from an UASB reactor. *Water Sci. Technol.*, v. 67, n.5, p. 1034–1042, 2013. Doi: 10.2166/wst.2013.658

ALMEIDA, P. G. S.; OLIVEIRA, S. C.; CHERNICHARO, C. A. L. Operação de filtros biológicos percoladores pós- reatores UASB sem a etapa de decantação secundária. *Eng. Sanit. Ambiental*, v.16 n. 3, p. 271-280, 2011. Doi: 10.1590/S1413-41522011000300010

ANDERSSON, K.; ROSEMARIN, A.; LAMIZANA, B.; KVAMSTRÖM, E.; McCONVILLE, J.; SEIDU, R.; DICKIN, S.; TRIMMER, C. *Sanitation, Wastewater Management and Sustainability: from Waste Disposal to Resource Recovery*. Nairobi and Stockholm: United Nations Environment Programme and Stockholm Environment Institute. 2016.

ANTONIOU, P.; HAMILTON, J.; KOOPMAN, B.; JAIN, R.; HOLLOWAY, B.; LYBERATOS, G.; SVORONOS, S. A. Effect os temperature and pH on de effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Research*, v. 24, n. 1, p. 97-101, 1990. Doi: 10.1016/0043-1354(90)90070-M

APHA/AWWA/WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22. ed. Washington: *American Public Health Association*. 1082 p., 2012.

ARAKI, N.; OHASHI, A.; MACHDAR, I.; HARADA, H. Behaviors of nitrifiers in a novel biofilm reactor employing hanging sponge cubes as attachment site. *Wat. Sci. Technol.*, v. 39, n. 7, p. 23–31, 1999. Doi: 10.1016/S0273-1223(99)00146-8

ARAUJO, J. C.; CAMPOS, A. C.; CORREA, M. M.; SILVA, E. C.; MATTÉ, M. H.; MATTÉ, G. R.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Anammox

bactéria enrichment and characterization from municipal activated sludge. *Water Science and Technology*, v. 64, p. 1428-1434, 2011. Doi: 10.2166/wst.2011.632

ARAUJO, J. C.; CAMPOS, A. P.; CORREA, M. M. S.; SILVA, E. C.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. Enriquecimento de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia – Anammox. *Eng. Sanit. Ambient.*, v. 15, n. 2, p. 205-212, 2010. Doi: 10.1590/S1413-41522010000200013.

AUGUSTO, M. R.; CAMILOTI, P. R.; SOUZA, T. S O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. *Bioresource Technology*, v. 266, p. 151-157, 2018. Doi: 10.1016/j.biortech.2018.06.068

AZARI, M.; WALTER, U.; REKERS, V.; GU, J.; DENECKE, M. More than a decade of experience of landfill leachate treatment with a full-scale anammox plant combining activated sludge and activated carbon biofilm. *Chemosphere*, v. 174, p. 117-126, 2017. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.01.123

BAE, H.; CHOI, M.; LEE, C.; CHUANG, Y.-C.; YOO, Y. J.; LEE, S. Enrichment of ANAMMOX bacteria from conventional activated sludge entrapped in poly(vinyl alcohol)/sodium alginate gel. *Chemical Engineering Journal*, v. 281, p. 531–540, 2015. Doi: 10.1016/j.cej.2015.06.111

BASSIN, J. P. Novos Processos de Remoção Biológica de Nitrogênio. In: DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JÚNIOR, G. L.; BASSIN, J. P. *Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana*. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. Cap. 5, p. 172-243.

BATISTONE, D. J.; KELLER, K. Variation of bulk properties of anaerobic granules with wastewater type. *Water Research*, v. 35, n. 7, p. 1723-1729, 2001. Doi: 10.1016/S0043-1354(00)00446-2

BOLTZ, J. P.; GOODWIN, S. J.; RIPPON, D.; DAIGGER, G. T. A Review of Operational control strategies for snail and other macrofauna infestations in trickling filters. *Water Practice*, v. 2, n. 4, p. 1-16, 2008. Doi: 10.2175/193317708X335181

BONASSA, G.; DEPRA, M. C. ; GOLDSCHMIDT, F.; BOLSAN, A.; KUNZ, A. Quick start-up o desamonification process using Nltramnox reactor. In: VI Sigera, 2019, Florianópolis. *Anais... VI Sigera*. Concordia: Sbera, 2019. p. 222-225.

BOTCHKOVA, E. A.; LITTI, Y. V.; KUZNETSOV, B. B.; NOZHEVNIKOVA, A. N. Microbial Biofilms Formed in a Laboratory-Scale Anammox Bioreactor with Flexible Brush Carrier. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v. 5, p. 76-82, 2014. Doi: 10.4236/jbnb.2014.52010

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; MIERZWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. Introdução à engenharia ambiental. 2. ed. São Paulo: *Pearson Prentice Hall*, 2005. 313 p.

BRODA, E. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Z. Allg. Mikrobiol*, v. 17, p. 491-493, 1977. Doi: 10.1002/jobm.19770170611.

CAO, Y.; VAN LOOSDRECHT, M.; DAIGGER, G. Mainstream partial nitrification–anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 101, p. 1365-1383, 2017. Doi: DOI 10.1007/s00253-016-8058-7

CASAGRANDE, C. G.; KUNZ, A.; DE PRÁ, M. C.; BRESSAN, C. R.; SOARES, H. M. High nitrogen removal rate using ANAMMOX process at short hydraulic retention time. *Water Science & Technology*, v. 67, n.5, p. 968-975, 2013. Doi: 10.2166/wst.2013.641

CASTRO-BARROS, C.; JIA, M.; VAN LOOSDRECHT, M.; VOLCK, E. I. P.; WINKLER, M. K. H. Evaluating the potential for dissimilatory nitrate reduction by anammox bacteria for municipal wastewater treatment. *Biosource Technology*, v. 233, p. 363-372, 2017. Doi: 10.1016/j.biortech.2017.02.063

CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Comm. In Soil Science and Pant Analysis*, v. 6, n.1, p 71-80, 1975.

CHATTERJEE, P.; GHANGREKAR, M. M.; RAO, S. Development of anammox process for removal of nitrogen from wastewater in a novel self-sustainable biofilm reactor. *Bioresource Technology*, v. 218, p. 723–730, 2016. Doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.002

CHEN, H.; LIU, S.; YANG, F.; XUE, Y.; WANG, T. The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. *Bioresour. Technol.*, v. 100, p. 1548-1554, 2009. 10.1016/j.biortech.2008.09.003

CHERNICHARO, C. A. L. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. In: _____. Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte: UFMG, 1997. Cap. 7, p. 317-379.

CHERNICHARO, C. A. L. Post-treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 5, p. 73–92, 2006. Doi: 10.1007/s11157-005-5683-5

CHINI, A.; KUNZ, A.; VIANCELLI, A.; SCUSSIATO, L.A.; DIAS, J. R.; JACINTO, I. C. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. *Water Air Soil Pollut*, v. 227, n. 67, 2016. DOI 10.1007/s11270-016-2765-7

CHO, K. H.; KIM, J.; KANG, S.; PARK, H.; KIM, S.; KIM, Y. Achieving enhanced nitrification in communities of nitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants via optimal temperature na pH. *Separation and Purification Technology*, v. 132, p. 697-603, 2014. Doi: 10.1016/j.seppur.2014.06.027

CHO, S.; TAKAHASHI, Y.; FUJII, N.; YAMADA, Y.; SATOH, H. OKABE, S. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. *Chemosphere*, v. 78, p. 1129 – 1135, 2010. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.12.034

CHRISTENSSON, M.; EKSTRÖM, S.; CHAN, A.; LE VAILLANT, E. Experience from start-ups of the first ANITA Mox Plants. *Water Science & Technology*, v. 67, n. 12, p. 2677 – 2684, 2013. Doi: 10.2166/wst.2013.156

CHUANG, A-P.; OHASHI, A.; IMACHI, H.; TANDUKAR, M.; HARADA, H. Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition. *Water Research*, v. 41, p. 295-302, 2007. Doi: 10.1016/j.watres.2006.10.019

CHUANG, H.P., YAMAGUCHI, T., HARADA, H., OHASHI, A. Anoxic ammonium oxidation by application of a down-flow hanging sponge (DHS) reactor. *J. Environ. Manage.* v. 18, n.6, p. 409–417. 2008. Doi: CHUANG, H.P., YAMAGUCHI, T., HARADA, H., OHASHI, A. Anoxic ammonium oxidation by application of a down-flow hanging sponge (DHS) reactor. *J. Environ. Manage.*, v. 18, n.6, pp. 409–417, 2008. Doi: 10.1016/j.watres.2006.10.019

CONLEY, D. J.; PEARL, H. W.; HOWARTH, R. W.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S.; HAVENS, K.; LANCELOT, C.; LIKENS, G. E. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. *Science*, v. 323, p. 1014-1015, 2009. Doi: 10.1126/science.1167755

COSTA, E.; PÉREZ, J.; KREFT, J. U. Why is metabolic labour divided in nitrification? *Trends in Microbiology*, v. 14, n. 5, p. 213–219, 2006. Doi: 10.1016/j.tim.2006.03.006

DAIMS, H.; LABEDEVA, E. V.; PJEVAC, P.; HAN, P.; HERBOLD, C.; ALBERTSEN, M.; JEHMLICH, N.; PALATINSZKY, M.; VIERHEILIG, J.; BULAEV, A.; KIRKEGAARD, R. H.; VON BERGEN, M.; RATTEI, T.; BENDINGER, B.; NIELSEN, P. H.; WAGNER, M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, v. 528, n. 7583, p. 504-509, 2015. Doi: 10.1038/nature16461

DAPENA-MORA, A.; FERNANDÉZ, I.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R.; JETTEN, M. S. M. Evaluation of activity and inhibition effects on anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, p. 859-865, 2007. Doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.06.018

DAVEREY, A.; SU, S.; HUANG, Y.; CHEN, S.; SUNG, S.; LIN, J. Partial nitrification and anammox process: A method for high strength optoelectronic industrial wastewater treatment. *Water Research*, v. 47, p. 2929-2937, 2013. Doi: 10.1016/j.watres.2013.01.028

DESLOOVER, J.; DE CLIPPELEIR, H.; BOECKX, P.; LAING, g.; COLSEN, J.; VERStraete, W.; VLAEMINCK, S. Floc-based sequential partial nitritation and anammox at full scale with contrasting N₂O emissions. *Water Research*, v. 45, 2011. Doi: 10.1016/j.watres.2011.02.028

DOSTA, J.; FERNANDEZ, I.; VAZQUEZ-PAD, J. R.; MOSQUERA-CORRAL, A. CAMPOS, J. L.; MATA-ALVAREZ, J.; MENDEZ, R. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *Journal of Hazardous Materials*, v.154, p. 688–693, 2008. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.10.082

EDLUND, D. Methanol as a Fuel. In:_____. Methanol Fuel Cell Systems: Advancing Towards Commercialization. USA: *Pan Stanford*, 2011. Cap. 2, p. 29-50.

EGLI, K.; FANGER, U.; ALVAREZ, P. J. J.; SIEGRIST, H.; VAN DER MEER, J. R.; ZEHNDER, A. J. B. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Arch Microbiol*, v. 175, p. 198– 207, 2001. Doi: 10.1007/s002030100255

EKAMA, G. A; WENTZEL, M. C. Nitrogen Removal. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. London: *IWA Publishing*, 2008. Cap. 5, p. 87-138.

EL-KAMAH, H.; MAHMOUD, M.; TAWFIK, A. Performance of down-flow hanging sponge (DHS) reactor coupled with up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor for treatment of onion dehydration wastewater. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 7029-7035, 2011. Doi: 10.1016/j.biortech.2011.04.017

FERNANDES, L.; PEREIRA, A.; LEAL, C.; DAVENPORT, R.; WERNER, D.; MOTA FILHO, C.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; CHERNICHARO, C.; ARAUJO, J. 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. Doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.083

FIA, F. R. L.; FIA, R.; CAMPOS, C. M. M.; OLIVEIRA, L. F. C. Hydrodynamic behavior of a combined anaerobic-aerobic system employed in the treatment of vinasse. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 40, n. 6, p. 718-729, 2016. Doi: /10.1590/1413-70542016406010416

FEWTRELL, L. Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion Environmental Health Perspectives. *Environ Health Perspect*, v.112, n.14, p. 1371-1374, 2004. Doi: 10.1289/ehp.7216

FLORÊNCIO, L.; DE ALMEIDA, P.; MENDONÇA, N.; VOLSHAN JÚNIOR, I.; ANDRADE NETO, C.; PIVELI, R.; CHERNICHARO, C. Nitrificação em Reatores Aeróbios com Biomassa Aderida. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (Coord.) Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. Rio de Janeiro: *ABES*, 2009. Cap. 8, p. 262-292.

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 Microbiol Ecol*, v. 80, p. 402–416, 2012. Doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01306.x.

GALVÃO JÚNIOR, A. C. Desafios para a universalização dos serviços de água e esgoto no Brasil. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, v. 25, n. 6, p. 548-556, 2009.

GERARDI, M. H. Denitrifying Bacteria. In:_____. Wastewater Bacteria. Hoboken: *Wiley-Interscience*, 2006b. Cap. 11, p. 91-101.

GERARDI, M. H. Nitrifying Bacteria. In:_____. Wastewater Bacteria. Hoboken: *Wiley-Interscience*, 2006a. Cap. 10, p. 77-89.

GERARDI, M. H. Poly-P Bacteria. In:_____. Wastewater Bacteria. Hoboken: *Wiley-Interscience*, 2006c. Cap. 12, p. 103-116.

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; KARST, S. M.; HORN, H.; NIELSEN, P. H.; LACKNER, S. Low Temperature Partial Nitritation/Anammox in a Moving Bed Biofilm Reactor Treating Low Strength Wastewater. *Environ. Sci. Technol.*, v.48, p. 8784-8792, 2014. Doi: 10.1021/es501649m

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; SCHWARTZ, T.; HORN, H.; LACKNER, S. Comparing different reactor configurations for Partial Nitritation/Anammox at low temperatures. *Water Research*, v. 81, p. 92-100, 2015. Doi: 10.1016/j.watres.2015.05.022

GONÇALVES, R. F. Basic principles of aerobic biofilm reactors. In: VON SPERLING, M; CHERNICHARO, C. A. L.; GONÇALVES, R. F. Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors. Londron: *IWA publishing*, 2007. Cap. 13, p. 265-270

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; OSORIO, F.; MORILLO, J.; RODRIGUEZ-SANCHEZ, A.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; ABBAS, B.; VAN LOOSDRECHT, M. Comparison of Bacterial Diversity in Full Scale Anammox Bioreactors Under Different Conditions. *Biotechnol. Prog.*, v. 31, n. 6, p. 1464-1472, 2015. Doi: 10.1002/btpr.2151

GUILLÉN, J. A. S.; CUÉLLAR GUARDADO, P.R.; LOPEZ VAZQUEZ, C.M.; CRUZ, L. M.; BRDJANOVIC, D.; VAN LIER, J. B. Anammox cultivation in a closed sponge-bed trickling filter. *Bioresource Technology*, v.186, p. 252–260. 2015a. Doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.073

GUILLÉN, J. A. S.; JAYAWARDANA, L.K.M.C.B.; LOPEZ VAZQUEZ, C. M.; CRUZ, L. M.; BRDJANOVIC, D.; VAN LIER, J. B. Autotrophic nitrogen removal over nitrite in a sponge-bed trickling filter. *Bioresource Technology*, v.187, p. 314–325, 2015b. Doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.140

GUILLÉN, J. A. S.; LOPEZ VAZQUEZ, C.M.; CRUZ, L. M.; BRDJANOVIC, D.; van LIER, J.B. Long-term performance of the Anammox process under low nitrogen sludge loading rate and moderate to low temperature. *Biochemical Engineering Journal*, v. 110, p. 95–106, 2016. Doi: 10.1016/j.bej.2016.02.004

GUILLÉN, J. A. S.; YIMMAN, Y.; LOPEZ - VAZQUEZ, C. M.; D. BRDJANOVIC, D.; VAN LIER, J.B. Effects of organic carbon source, chemical oxygen demand/N ratio and temperature on autotrophic nitrogen removal. *Water Science and Technology*, v.69, n.10, pp. 2079 - 2084, 2014. Doi: 10.2166/wst.2014.128

GÜREVİN, C.; ERTURK, A.; ALBAY, M. Predicting the effects of sediment based internal nutrient loads on eutrophication in Küçükçekmece Lagoon for rehabilitation planning. *International Journal of Sediment Research*, v. 32, p. 527–554, 2017. Doi: 10.1016/j.ijsrc.2016.08.002

HENZE, M.; COMEAU, Y. Wastewater Characterization. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. London: *IWA Publishing*, 2008. Cap. 3, p. 33-52.

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. *Microb Ecol*, v. 62, p. 36 - 47, 2011. Doi: 10.1007/s00248-011-9849-0.

HU, B. L.; ZHENG, P.; TANG, C. J.; CHEN, J. W.; VAN DER BIEZEN, E.; ZHANG, L.; NI, B. J.; JETTEN, M. S. M.; YAN, J.; YU, H. Q.; KARTAL, B. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors. *Water Res*, v. 44, p. 5014 – 5020, 2010. Doi: 10.1016/j.watres.2010.07.021.

HU, Z.; LOTTI, T.; DE KREUK, M.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M.; KUIT, J.; JETTEN, M. S. M.; KARTAL, B. Nitrogen removal by a nitrification-anammox bioreactor at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 79, n. 8, p. 2807-2812, 2013. Doi: 10.1128/AEM.03987-12

HUANG, C.; ZHANG, L.; LI, Y.; LIN, C.; HUANG, T.; ZHANG, M.; ZHU, A.; YANG, H.; WANG, X. Carbon and nitrogen burial in a plateau lake during eutrophication and phytoplankton blooms. *Science of The Total Environment*, v. 616-617, p. 296-304, 2018. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.320

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - 2008*. Rio de Janeiro, 2010.

IBRAHIM, M.; YUSOF, N.; YOSOFF, M. HASSAN, M. Enrichment of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria for short start-up of the anammox process: a review. *Desalination and water Treatment*, p. 1-21, 2015. Doi: 10.1080/19443994.2015.1063009

JAISWAL, S.K.; MANDAL, D.; RAO, R.V.R.L.V. Recovery and reuse of nitric acid from effluents containing free nitric acid in absence and presence of metal nitrates. *Chemical Engineering Journal*, v. 266, p. 271–278, 2015. Doi: 10.1016/j.cej.2014.12.060

JETTEN, M. S. M. STROUS, M.; VAN THE PAS-SCHOONEN. K.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U.; VAN THE GRAAF, A.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M.; KUENEN, J. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microb. Reviews*, v. 22, p. 421-437, 1999. Doi: 10.1111/j.1574-6976.1998.tb00379.x

JETTEN, M. S. M. The microbial nitrogen cycle. *Environmental Microbiology*, v. 10, n. 11, p. 2903-2909, 2008. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01786.x

JETTEN, M. S. M.; HORN, S. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Towards a more sustainable wastewater treatment system. *Water Science & Technology*, v. 35, n. 9, p. 171-180, 1997. Doi: 10.1016/S0273-1223(97)00195-9

JETTEN, M. S. M.; WAGNER, M.; FUERST, J.; VAN LOOSDRECHT, M.; KUENEN, G.; STROUS, M. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 12, n. 3, p. 283-288, 2001. Doi: 10.1016/S0958-1669(00)00211-1

JIN, R.; YANG, G.; YU, J.; ZHENG, P. The inhibition of anammox process: a review. *Chemical Engineering Journal*, v. 197, p. 67-79, 2012. Doi: 10.1016/j.cej.2012.05.014

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. Filtração Biológica. In:_____. Tratamento de Esgotos Domésticos. Rio de Janeiro: ABES, 2011. Cap. 19, p.467-512.

JUNG, J.; KANG, S.; CHUNG, Y.; AHN, D. Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor. *Water Sci Technol.*, v. 55, p. 459-468, 2007. Doi: 10.2166/wst.2007.023

KALLISTOVA, A. Y.; DOROFEEV, A. NIKOLAEV, Y. A.; KOZLOV, M. N.; KEVBRINA, M. V.; PIMENOV, N. V. Role of Anammox Bacteria in Removal of Nitrogen Compounds from Wastewater, *Microbiology*, v. 85, n. 2, p. 140-156, 2016. Doi: 10.1134/S0026261716020089.

KALYUZHNYI, S.; GLADCHENKO, M.; MULDER, A.; VERSPRILLE, B. DEAMOX—New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphide-driven conversion of nitrate into nitrite. *Water Research*, v. 40, p. 3637 –3645, 2006. Doi: 10.1016/j.watres.2006.06.010

KARTAL, B.; KUYPERS, M.; LAVIK, G.; SCHALK, J.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium, *Environmental Microbiology*, v. 9, n. 3, p. 635-642, 2007a. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01183.x.

KARTAL, B.; RATTRAY, J.; VAN NIFTRIK, L. A.; VAN DE VOSSEMBERG, J.; SCHIMID, M. C.; WEBB, R. I.; SCHOUTEN, S.; FUERST, J. A.; DAMSTÉ, J. S.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. Candidatus "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic oxidizing bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 30, p. 39-49, 2007b. Doi: 10.1016/j.syapm.2006.03.004.

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. *Adv. Microb. Physiol*, v. 60, p. 211-262, 2012. Doi: 10.1016/B978-0-12-398264-3.00003-6.

KARTAL, B.; VAN NIFTRIK, L.; RATTRAY, J.; VAN DE VOSSEMBERG, J. L. C. M.; SCHMID, M. C.; DAMSTÉ, J. S. S.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. Candidatus 'Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS Microbiol Ecol*, v. 63, p. 46 – 55, 2008. Doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00408.x

KARTAL, B; KUENEN, J. G.; VAN LOOSDRECH, M. C. M. Sewage Treatment with Anammox. *Science*, v. 328, p. 702-703, 2010. Doi: 10.1126/science.1185941

KELUSKAR, R.; NERURKAR, A.; DESAI, A. Development of a simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonia oxidation and denitrification (SNAD) bench scale process for removal of ammonia from effluent of a fertilizer industry. *Bioresource Technology*, v. 130, p. 390–397, 2013. Doi: 10.1016/j.biortech.2012.12.066

KHRAMENKOV, 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. Doi: 10.1134/S002626171305007X.

KIM, E.; SHIM, S. G.; JANNAT, M. A. H.; TONGCO, J. V. Use of food waste-recycling wastewater as an alternative carbon source for denitrification process: a full-scale study. *Bioresource Technology*, v. 245, p. 1016-1021, 2017. Doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.168.

KIMURA, Y.; ISAKA, K.; KAZAMA, F. Tolerance Level of Dissolved Oxygen to Feed into Anaerobic Ammonium Oxidation (anammox) Reactor. *Journal of Water and Environment Technology*, v. 9, n. 2, p. 169-178, 2011. Doi: 10.2965/jwet.2011.169

KOWALSKI, M. S.; DEVLIN, T. R.; OLESZKIEWICZ, J. A. Start-up and long-term performance of anammox moving bed biofilm reactor seeded with granular biomass. *Chemosphere*, v. 200, p. 481-486, 2018. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.130

KREUTZ, C.; DE CARVALHO, K. Q.; PASSIG, F. H.; BELINI, A. D.; CORDOVIL, C. S.; GOMES, S. D. Impact of the hydraulic loading rate on the hydrodynamic characteristics of an anaerobic fixed bed reactor treating cattle slaughterhouse wastewater. *Engenharia Agrícola*, v. 38, n. 3, p. 403-410, 2018. Doi: 10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v38n3p403-410/2018

KUYPERS, M. M. M.; SLIEKERS, A. O.; LAVIK, G.; SCHMIDT, M.; JORGENSEN, B. 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. Doi: 10.1038/nature01472.

LACKNER, S.; GILBERT, E.M.; VLAEMINCK, S.E.; JOSS, A.; HORNA, H.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Full-scale partial nitrification/anammox experiences: An application survey. *Water Research*, v. 55, p. 292 - 303, 2014. Doi: 10.1016/j.watres.2014.02.032

LAN, C. J.; KUMAR, M.; WANG, C. C.; LIN, J. G. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 5514-5519, 2011. Doi: 10.1016/j.biortech.2010.11.024

LANGONE, M.; YAN, J.; HAAIJER, S.; OP DEN CAMP, H.; JETTEN, M. S. M.; ANDREOTTOLA, G. Coexistence of nitrifying, anammox and denitrifying bacteria in a sequencing batch reactor. *Frontiers in Microbiology*, v. 5, n. 28, p. 1-12, 2014. Doi: 10.3389/fmicb.2014.00028

LEAL, C. D. *Avaliação do efeito de diferentes relações DQO/N sobre o processo Anammox e a viabilidade da aplicação do processo como pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico*. 2015. 123f. Dissertação

(Mestrado em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015.

DUARTE, N. C. Efeito da concentração de matéria orgânica na desnitrificação em reator de leito empacotado e UASB. 2018. 129f. Dissertação (Mestrado em engenharia civil) – Universidade Federal de Campinas, Campinas. 2018.

DUARTE, T. S.; MENEZES, R. O.; BUENO, D. A. C.; CRUZ, L. M. O. Caracterização da espuma utilizada como meio suporte em um filtro biológico percolador. In: 30º Congresso Brasileiro de Engenharia sanitária e Ambiental, 2019, Natal, RN. *Anais.. 30º Congresso Brasileiro de Engenharia sanitária e Ambiental*, 2019.

LEAL, C.; PEREIRA, A.; NUNES, F.; FERREIRA, L.; COLEHO, A.; BICALHO, A.; MC CONELL, E.; RIBEIRO, T.; CHERNICHARO, C.; ARAUJO, J. 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. Doi: 10.1016/j.biortech.2016.03.107

LEONETI, A. B.; PRADO, E. L.; OLIVEIRA, S. V. W. B. Saneamento básico no Brasil: considerações sobre investimentos e sustentabilidade para o século XXI. *Rev. Adm. Pública*, v. 45, n. 2, p. 331-348, 2011. Doi: 10.1590/S0034-76122011000200003.

LEVENSPIEL, O. Engenharia das reações químicas. 3. ed. São Paulo: *Edgard Blucher Ltda.* 2000.

LI, H.; CHEN, S.; MU, B. Z.; GU, J. D. Molecular detection of anaerobic ammoniumoxidizing (anammox) bacteria in high-temperature petroleum reservoirs. *Microb Ecol.*, v. 60, p. 771–783, 2010. Doi: 10.1007/s00248-010-9733-3

LI, J.; QUIANG, Z.; YU, D.; WANG, D.; ZHANG, P.; LI, Y. Performance and microbial community of simultaneous anammox and denitrification (SAD) process in a sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, v. 218, p. 1064-1072, 2016. Doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.08

LILE, M. V.; BERKHOUT, V.; FRÖBA, L.; GROß, F.; DELGADO, A. Ammonium estimation in an ANAMMOX SBR treating anaerobically digested domestic wastewater. *Chemical Engineering Science*, v. 130, p. 109-119, 2015. Doi: 10.1016/j.ces.2015.03.018

LIN, H.-L.; TSAO, H.-W.; HUANG, Y.-W.; WANG, Y.-C.; YANG, K.-H.; YANG, Y.-F.; WANG, W.-C.; WEN, C.-K.; CHEN, S.-K.; CHENG, S.-S. Removal of nitrogen from secondary effluent of a petrochemical industrial park by a hybrid biofilm carrier reactor with one-stage ANAMMOX. *Water Science & Technology*, v. 69, n.12, p. 2526-2532, 2014. Doi: 10.2166/wst.2014.170

LIU, D.; KEESING, J. K.; XING, Q.; SHI, P. World's largest macroalgal bloom caused by expansion of seaweed aquaculture in China. *Marine Pollution Bulletin*, v.58, p. 888-895, 2009. Doi: 10.1016/j.marpolbul.2009.01.013

LIU, S. T.; YANG, F. L.; GONG, Z.; MENG, F. G.; CHEN, H. H.; XUE, Y.; FURUKAWA, K. Application of anaerobic ammonium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal. *Bioresour Technol*, v. 99, n. 15, p. 6817–6825, 2008. Doi: 10.1016/j.biortech.2008.01.054

LOTTI, T.; KLEEREBEZEM R.; LUBELLO, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research*, v. 60, p. 1-14, 2014a. Doi: 10.1016/j.watres.2014.04.017

LOTTI, T.; KLEEREBEZEM, R.; HU, Z.; KARTAL, B.; DE KREUK, M. K.; VAN ERP TAALMAN KIP, C.; KRUIT, J.; HENDRICKX, T. L. G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Pilot-scale evaluation of anammox-based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater. *Environmental Technology*, v. 36, n. 9, pp. 1167–1177, 2015. Doi: 10.1080/09593330.2014.982722

LOTTI, T.; KLEEREBEZEM, R.; VAN ERP TAALMAN KIP, C.; HENDRICKX, T. L. G.; KRUIT, J.; HOEKSTRA, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Anammox Growth on Pretreated Municipal Wastewater. *Environ. Science and Technology*, v. 48, p. 7874-7880, 2014b. Doi: 10.1021/es500632k

LOTTI, T.; VAN DER STAR, W. R. L.; KLEEREBEZEM, R.; LUBELLO, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. *Water Research*, v. 46, n. 8, p. 2559–2569, 2012. Doi: 10.1016/j.watres.2012.02.011

LU, H.; CHANDRAN, K.; STENSEL, D. Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. *Water Research*, v. 64, p. 237-254, 2014. Doi: 10.1016/j.watres.2014.06.042

LYDMARK, P.; LIND, M.; SORENSSON, F.; HERMANSSON, M. Vertical distribution of nitrifying populations in bacterial biofilms from a full-scale nitrifying trickling filter. *Environmental Microbiology*, v. 8, n.11, p. 2036–2049, 2006. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01085.x

MA, B.; PENG, Y.; ZHANG, S.; WANG, J.; GAN, Y.; CHANG, J.; WANG, S.; WANG, S.; ZHU, G. Performance of anammox UASB reactor treating low strength wastewater under moderate and low temperatures. *Bioresource Technology*, v. 129, p. 606–611, 2013. Doi: 10.1016/j.biortech.2012.11.025

MA, B.; WANG, S.; CAO, S.; MIAO, Y.; JIA, F.; DU, R.; PENG, Y. Biological nitrogen removal from sewage via anammox: Recent advances. *Bioresource Technology*, v. 200, p. 981-990, 2016. Doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.074

MACHDAR, I. Hidraulic behaviour in the downflow hanging sponge bioreactor. *Jurnal Litbang Industri*, v. 6, n. 2, p. 83-88, 2016. Doi:

MACHDAR, I.; SEKIGICHI, Y.; SUMINO, H.; OHASHI, A.; HARADA, H. Combination of a UASB reactor and a curtain type DHS (downflow hanging sponge) reactor as a cost-effective sewage treatment system for developing countries. *Water Science & Technology*, v. 43, p. 83-88, 2000.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. Metabolismo Microbiano. In: _____. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016a. Cap. 3, 73-106

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. Diversidade Metabólica dos Microorganismos. In:_____. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: *Artmed*, 2016b. Cap. 13, 379-432.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. Ciclo de Nutrientes. In:_____. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: *Artmed*, 2016c. Cap. 20, 631-648.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. Ecossistemas microbianos. In:_____. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: *Artmed*, 2016d. Cap. 19, 597-630.

MAHMOUD, M.; TAWFIK, A.; EL-GOHARY, F. Use of down-flow hanging sponge (DHS) reactor as a promising post-treatment system for municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*, v. 168, p. 535–543, 2011. Doi: 10.1016/j.cej.2011.01.019

OTHMAN, B. A.; MARTO, A. Laboratory test on maximum and minimum void ratio of tropical sand matrix soils. *Earth and Environmental Science*, v. 140, 2018. Doi: 10.1088/1755-1315/140/1/012084

MAO, N.; REN, H.; GENG, J.; DING, L.; XU, K. Engineering application of anaerobic ammonium oxidation process in wastewater treatment. *World J Microbiol Biotechnol*, v. 33, n. 8, 2017. Doi: 10.1007/s11274-017-2313-7

MICELI, M. Apoio ao setor de saneamento. *BNDS Setorial*, n. 28, p. 105-124, 2008.

MONBALLIU, A.; DESMIDT, E.; GHYSELBRECHT, K.; CLIPPELEIR, H. DE; VAN HULLE, S.W.H.; VERSTRAETE, W.; MEESCHAERT, B. Enrichment of anaerobic ammonium oxidizing (Anammox) bacteria from OLAND and conventional sludge: Features and limitations. *Separation and Purification Technology*, v. 104, p. 130–137, 2013. Doi: 10.1016/j.seppur.2012.10.046

MORGENROTH, E. Biofilm Reactors. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. London: *IWA Publishing*, 2008b. Cap. 18, p. 493-511.

MORGENROTH, E. Modelling Biofilms. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. London: *IWA Publishing*, 2008a. Cap. 17, p. 457-492.

MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. Introdução. In:_____. Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. Rio de Janeiro: *ABES*, 2009. Cap. 1, p. 21-25.

MUIRHEAD, W. M.; APPLETON, R. Operational Keys to Nitrite Lock. *Water Practice*, v. 2, n. 4, 2008. Doi: 10.2175/193317708X335226

MULDER, A. The quest for sustainable nitrogen removal technologies. *Water Science and Technology*, v. 48, n.1, pp. 67 - 75, 2003.

MULDER, A.; VANDEGRAAF, A.A.; ROBERTSON, L.A.; KUENEN, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bed reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.*, v. 16, p. 177–183, 1995. Doi: 10.1111/j.1574-6941.1995.tb00281.x

MULDER, A.; VENSPRILLE, I.; VAN BRAAK, D. Sustainable nitrogen removal by denitrifying anammox applied for anaerobic pre-treated potato wastewater. *Water Science & Technology*, v. 66, n. 12, p. 2630-2637, 2012. Doi: 10.2166/wst.2012.466

NAÇÕES UNIDAS. *Relatório do Relator Especial sobre o direito humano à água potável segura e ao esgotamento sanitário*. 2016.

NARITA, Y.; ZHANG, L.; KIMURA, Z.; ALI M.; FUJII, T.; OKABE, S. Enrichment and physiological characterization of an anaerobic ammonium-oxidizing bacterium 'Candidatus Brocadia sapporoensis'. *Systematic and Applied Microbiology*, n. 40, p. 448-457, 2017. Doi: 10.1016/j.syapm.2017.07.004

NI, B.; RUSCALLEDA, M.; SMETS, B.F. Evaluation on the microbial interactions of anaerobic ammonium oxidizers and heterotrophs in Anammox biofilm. *Water Research*, v. 46, p. 4645 e 4652, 2012. Doi: 10.1016/j.watres.2012.06.016

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*, vol. 84, p. 256–262, 2015. Doi: 10.1134/S0026261715020101

NOZHEVNIKOVA, A. N.; BOTCHKOVA, E. A.; PLAKUNOV, V. K. Multi-Species Biofilms in Ecology, Medicine, and Biotechnology. *Microbiology*, v. 84, n. 6, p. 731–750, 2015. Doi: 10.1134/S0026261715060107

NOZHEVNIKOVA, A. N.; SIMANKOVA, M. V.; LITTI, Y. V. Application of the Microbial Process of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) in Biotechnological Wastewater Treatment. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 48, n. 8, p. 667-684, 2012. Doi: 10.1134/S0003683812080042

NUVOLARI, A. O lançamento *in natura* e seus impactos. In: NUVOLARI, A (Coord.); MARTINELLI, A; TELLES, D. A.; RIBEIRO, J. T.; MIYASHITA, N. J.; RODRIGUES, R. B.; ARAUJO, R. Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola. 2. ed. São Paulo: *Blucher*, 2011. Cap. 7, p. 190-224.

OKABE, S.; OSHIKI, M.; TAKAHASHI, Y.; SATOH, H. N₂O emission from a partial nitrification-anammox process and identification of a key biological process of N₂O emission from anammox granules. *Water Research*, v. 45, p. 6461- 6470, 2011. Doi: 10.1016/j.watres.2011.09.040

OKUBO, T.; ONODERA, T.; UEMURAA, S.; YAMAGUCHI, T.; OHASHI, A.; HARADA, H. On-site evaluation of the performance of a full-scale down-flow hanging sponge reactor as a post-treatment process of an up-flow anaerobic sludge blanket reactor for treating sewage in India. *Bioresource Technology*, v. 194, p. 156–164, 2015. Doi: 10.1016/j.biortech.2015.07.015

OLIVEIRA JÚNIOR, J. L. Tratamento descentralizado de águas residuárias domésticas: uma estratégia de inclusão social. In: LIRA, W. S.; CÂNDIDO, G. A. (Org.). *Gestão sustentável dos recursos naturais: uma abordagem participativa*. Campina Grande: *EDUEPB*, 2013, p. 213-232. Doi: 10.7476/9788578792824

ONODERA, T.; SYUTSUBO, K.; YOOCHATCHAVAL, W.; SUMINO, H.; MIZUOCHI, M.; HARADA, HIDEKI. Protection of biomass from snail overgrazing in a trickling filter using sponge media as a biomass carrier: down-flow hanging sponge system. *Water Science & Technology*, v. 74, n. 4, p. 518- 523, 2015. Doi: 10.2166/wst.2015.030

ONODERA, T.; TANDUKAR, M.; SUGIYANA, D.; UEMURA, S.; OHASHI, A.; HARADA, H. Development of a sixth-generation down-flow hanging sponge (DHS) reactor using rigid sponge media for post-treatment of UASB treating municipal sewage. *Bioresource Technology*, v. 152, p. 93-100, 2014. Doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.106

OSHIKI, M.; MIZUTO, K.; KIMURA, Z.; KINDAICHI, T.; SATOH, H.; OKABE, S. Genetic diversity of marine anaerobic ammoniumoxidizing bacteria as revealed by genomic and proteomic analyses of 'Candidatus Scalindua japonica'. *Environmental Microbiology Reports*, v. 9, n. 5, p. 550–561, 2017. Doi: 10.1111/1758-2229.12586

OSHIKI, M.; SATOH, H.; OKABE, S. Ecology and physiology of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Environmental Microbiology*, v. 18, n. 9, p. 2784-2796, 2016. Doi: 10.1111/1462-2920.13134

PENG, X.; WU, L.; YU, H.; AI, L.; FU, L. CANON Process for Nitrogen Removal from Effluents of Municipal Sewage Treatment Plants. *Transactions of Tianjin University*, v.19, n. 4, p. 255-259, 2013. Doi: 10.1007/s12209-013-1966-z

PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 31, n. 1, p.81-88, 2005.

POÇAS, C. D. *Utilização da tecnologia de Wetlands para tratamento terciário: controle de nutrientes*. 2015. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019.

REN, L.-F.; LV, L.; KANG, Q.; GAO, B.; NI, S.-Q.; CHEN, Y.-H.; XU, S. Microbial dynamics of biofilm and suspended flocs in anammox membrane bioreactor: The effect of non-woven fabric membrane. *Bioresearch Technology*, v.247, p. 259-266, 2018. Doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.070

RIBEIRO, K D.; MENEZES, S. M.; MESQUITA, M. G. B.; SAMPAIO, F. M. T. PROPRIEDADES FÍSICAS DO SOLO, INFLUENCIADAS PELA DISTRIBUIÇÃO Propriedades físicas do solo, influenciadas pela distribuição de poros, de seis classes de solos da região de Lavras-MG. *Ciênc. agrotec.*, v. 31, n. 4, p. 1167-1175, 2007.

ROBARGE, W. P.; EDWARDS, A.; JOHNSON, B. Water and waste analysis for nitrate via nitration of salicylic acid. *Commu. In Soil. Science Plant Anal.*, v. 14, n. 12, p. 1207-1215, 1983.

ROUMIEH, R.; BARAKAT, A.; ABDELMEGUID, N.; GHANAWI, J.; SAOUD, I. Acute and chronic effects of aqueous ammonia on marbled spinefoot rabbitfish, *Siganus rivulatus* (Forsskål 1775). *Aquaculture Research*, v. 44, p. 1777–1790, 2013. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03188.x

SALIBA, P. D.; VON SPERLING, M. Performance evaluation of a large sewage treatment plant in Brazil, consisting of an upflow anaerobic sludge blanket reactor followed by activated sludge. *Wastewater Science & Technology*, v. 76, n. 8, p. 2003-2014, 2017. Doi: 10.2166/wst.2017.284

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. *Syst Appl Microbiol* v. 23, p. 93 -106, 2000. Doi: 10.1016/S0723-2020(00)80050-8

SCHMID, M.; WALSH, K.; WEBB, R.; RIJPISTRA, W. I. C.; VAN DE PAS-SCHOONEN, VERBRUGGEN, M. J.; HILL, T.; MOFFET, B.; FUERST, J.; SCHOUTEN, S.; DAMSTÉ, J. S. S.; HARRIS, J.; SHAW, P.; JETTEN, M.; STROUS, M. Candidatus “*Scalindua brodae*”, sp nov., Candidatus “*Scalindua wagneri*”, sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 26, n. 4, p. 529-538, 2003. Doi: 10.1078/072320203770865837

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. Doi: 10.1016/j.biortech.2013.09.104

SHEN, L.-D.; HU, A.-H.; JIN, R.-C.; CHENG, D. Q.; ZHENG, P.; XU, X.-Y.; HU, B.-L. Enrichment of anammox bacteria from three sludge sources for the startup of monosodium glutamate industrial wastewater treatment system. *Journal of Hazardous Materials*, v. 199-200, p. 199–200, 2012. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.10.081

SHENG, G.-P.; YU, H.-Q.; LI, X.-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 6, p. 882-894, 2010. Doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.08.001

SILVA, M. J. S.; COSTA, F. F. B.; LEME, F. P.; TAKATA, R.; COSTA, D.; MATTIOLI, C. C.; LUZ, R. K.; MIRANDA-FILHO, K. C. Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. *Science of The Total Environment*, v. 616–617, p. 1566-1575, 2018. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.157

SLIEKERS, A. O.; DERWORT, N.; GOMEZ, J. L. C.; STOUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. *Water Research*, v. 36, p. 2475-2482, 2002. Doi: 10.1016/S0043-1354(01)00476-6

SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. Eutrophication science: where do we go from here? *Trends in Ecology and Evolution*, v. 24, p. 201-207, 2009. Doi: 10.1016/j.tree.2008.11.009

SODRÉ, F. R. A. *Os impactos da corrupção no desenvolvimento humano, desigualdade de renda e pobreza dos municípios brasileiros*. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Econômicas) – Faculdade de Economia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2014.

SOUZA, J. T.; FORESTI, E. Utilização de lodo anaeróbio como fonte externa de carbono no processo de desnitrificação de águas residuárias. *Eng. Agrícola e Ambiental*, v. 3, n. 1, p. 69-73, 1999. Doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v3n1p69-73

STEIN, L. Y.; KLOTZ, M. G. The nitrogen cycle. *Current Biology*, v. 26, n. 3, p. R94–R98, 2016. Doi: 10.1016/j.cub.2015.12.021

STROUS, M.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M. Key physiology of anaerobic ammonia oxidation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 65, p. 3248–3250, 1999b. Doi: 0099-2240/99/\$04.0010

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.; VALLANET, D.; SEGURENS, B.; SCHENOWITZ-TRUONG, C.; MÉDIGUE, C.; COLLINGRO, A.; SNEL, B.; DUTILH, B.; OP DEN CAMP, H.; VAN DER DRIFT, C.; CIRPUS, I.; VAN THE PAS-SCHOONEN, K.; HARHANGI, H.; VAN NIFTRIK, L.; SCHIMID, M. KELTJENS, J.; VAN THE VOSSENBERG, J.; KARTAL, B.; MEIER, H.; FRISHMAN, D.; HUYNEN, M.; MEWES, H.; WEISSENBAACH, J.; JETTEN, M.; WAGNER, M.; LE PASLIER, D. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature*, v. 440, p. 790-794, 2006. Doi: 10.1038/nature04647

STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 63, p. 2446–2448, 1997. Doi: 0099-2240/97/\$04.0010

STROUS, M.; FUERST, J.; KRAMER, E.; LOGEMANN, S.; MUYZERT, G.; VAN DE PAS- SCHOONEN, K.; WEBB, R.; KUENEN, J.; JETTEN, M. S. M. Missing lithotroph identified as new plancete. *Nature*, v. 400, p. 446-449, 1999a. Doi: 10.1038/22749

STROUS, M.; HEIJNEN, J. J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 50, n. 5, p. 589-596, 1998. Doi: 10.1007/s002530051340

SUN, S. P.; NÀCHER, C. P.; MERKEY, B.; ZHOU, Q.; XIA, S. Q.; YANG, D. H.; SUN, J. H.; SMETS, B. F. Effective biological nitrogen removal treatment processes for domestic wastewaters with low C/N ratios: a review. *Environmental Engineering Science*, v. 27, n. 2, p. 111-126, 2010. Doi: 10.1089/ees.2009.0100

SUTTON, M. A.; OENEMA, O.; ERISMAN, J. W.; LEIP, A.; VAN GRINSVEN, H.; WINIWATER, W. Too much of a good thing. *Nature*, v. 472, p. 159-161, 2011. Doi: 10.1038/472159a

TANDUKAR, M.; UEMURA, S.; MACHDAR, I.; OHASHI, A., HARADA, H. A low-cost municipal sewage treatment system with a combination of UASB and the “fourth-generation” downflow hanging sponge reactors. *Water Science & Technology*, v. 52, n. 1-2, p. 323-329, 2005.

TANDUKAR, M.; UEMURA, S.; OHASHI, A.; HARADA, H. Combining UASB and the “fourth generation” down-flow hanging sponge reactor for municipal wastewater treatment. *Water Science and Technology*, v. 53, n. 3, 209-218, 2006. Doi: 10.1061/ASCE0733-93722006132:2166

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.; STENSEL, H. Attached Growth and Combined Biological Treatment Process. In:_____. *Wastewater engineering: Treatment and Resource Recovery*. 5. ed. New York: *McGraw-Hill*. 2014c. Cap. 9, 941-1058.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.; STENSEL, H. Fundamentals os Biological Treatment. In:_____. *Wastewater engineering: Treatment and Resource Recovery*. 5. ed. New York: *McGraw-Hill*. 2014b. Cap. 7, 551-696.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.; STENSEL, H. Wastewater Characteristics. In:_____. *Wastewater engineering: Treatment and Resource Recovery*. 5. ed. New York: *McGraw-Hill*. 2014a. Cap.2, 57-181.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G.; Manual de métodos de análise do solo. 3. ed. *Embrapa*, 2017.

THIRD, K. A.; PAXMAN, J.; SCHMID, M., STROUS, M.; JETTEN, M. S. M.; CORDRUWISH, R., Enrichment of Anammox from activated sludge and its application in the CANON process. *Microbial Ecology*, v. 49, p. 236-244, 2005. Doi: 10.1007/s00248-004-0186-4

TOKUTOMI, T.; YAMAUCHI, H.; NISHIMURA, S.; YODA, M.; ABMA, W. Application of the Nitritation and Anammox Process into Inorganic Nitrogenous Wastewater from Semiconductor Factory. *Journal of Environmental Engineering*, v. 137, n. 2, p. 146-154, 2011. Doi: 10.1061/(ASCE)EE.1943 7870.0000303

TOMASZEWSKI, M.; CEMA, G.; ZIEMBINSKA-BUCZYNSKA. Significance of pH control in anammox process performance at low temperature. *Chemosphere*, v. 185, p. 439-444, 2017. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.034

TONETTI, L. A.; CORAUCCI FILHO, B.; NICOLAU, C. E.; BARBOSA, M.; TONON, D. Tratamento de esgoto e produção de água de reuso com o emprego de filtros de areia. *Eng. Sanit. Ambient.*, v. 17, n. 3, p. 287-294, 2012. Doi: 10.1590/S1413-41522012000300005

TSUSHIMA, I.; OGASAWARA, Y.; KINDAICHI, T.; SATOH, H.; OKABE, S. Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors. *Water Research*, v. 41, p. 1623–1634, 2007. Doi: 10.1016/j.watres.2007.01.050

VAN DE GRAAF, A. A.; DE BRUIJN, P.; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M.

S.; KUENEN, J. G. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of ¹⁵N studies in a fluidized bed reactor. *Microbiology*, v. 143, p. 2415-2421, 1997. Doi: 10.1099/00221287-143-7-2415

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.; FRANCOIJS, 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. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2012.02774.x

VAN DER STAR, W. R. L.; ABMA, W.; BLOMMERS, D.; MULDER, J. W.; TOKUTOMI, T.; STROUS, M.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. *Water Research*, v. 41, p. 4149-4163, 2007. Doi: 10.1016/j.watres.2007.03.044

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. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 101, p. 286–294, 2008. Doi: 10.1002/bit.21891

VAN DONGEN, U.; JETTEN, M.S.; VAN LOOSDRECHT, M.C. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*, v. 44, n. 1, p. 153-160, 2001.

VAN HAANDEL, A.; GIRARD, L.; MENDONÇA, N.; TEIXEIRA, M.; VON SPERLING, M. Remoção biológica de fósforo no sistema de lodo ativado: mecanismos e configurações. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (Coord.). Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. Rio de Janeiro: ABES, 2009. Cap. 7, p. 227-261.

VAN HAANDEL, A.; KATO, M.; VON SPERLING. Remoção biológica de Nitrogênio: Aplicações para o sistema de lodo ativado. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (Coord.). Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. Rio de Janeiro: ABES, 2009. Cap. 6, p. 174-226.

VAN HULLE, S. W. H.; HELGE J.P. VANDEWEYER, H. J. P.; MEESSCHAERT, B. D.; PETER A. VANROLLEGHEM, P. A.; DEJANS, P.; DUMOULIN, A. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal*, v. 162, p. 1-20, 2010. Doi: 10.1016/j.cej.2010.05.037.

VAN KESSEL, M. A.; SPETH, D. R. ALBETSEN, M. NIELSEN, P. H.; DEN CAMP, H. J. M. O.; KARTAL, B.; JETTEN, M. S.; LUKER, M. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature*, v. 528, n. 7583, p. 555–559, 2015. Doi: 10.1038/nature16459

VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Innovative Nitrogen Removal. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. Biological

Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. London: *IWA Publishing*, 2008. Cap. 6, p. 139-153.

VAN NIFTRIK, L.; FUERST, J.; DAMSTÉ, J.; KUENEN, J.; JETTEN, M.; STROUS, M. The anammoxosome: a intracytoplasmic compartiment in anammox bacteria. *FEMS Microb. Letters*, v. 233, p. 7-13, 2004. Doi: 10.1016/j.femsle.2004.01.044

VANOTTI, M. B.; SZOGI, A. A.; ROTHROCK JÚNIOR, M. J. *Novel anammox bacterium isolate*. Pub. No. US2011/0180476, 2011. US 2011/01 80476 A1.

VIANA, J. H. M.; DONAGEMMA, G. K.; TEIXEIRA, W. G. Umidade Residual e Fator “f”. In: TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise do solo. 3. ed. Brasília: *Embrapa*, 2017. Cap. 3, p. 32-33.

VLAEMINCK, S.E.; DE CLIPPELEIR, H.; VERSTRAETE, W. Microbial resource management of one-stage partial nitrification/anammox. *Microb Biotechnol*, v. 5, n. 3, p. 433-448, 2012. Doi: 10.1111/j.1751-7915.2012.00341.x

VON SPERLING, M. Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgoto. 4. ed. Belo Horizonte: *UFMG*, 2014.

VON SPERLING, M. Níveis, processos e sistemas de tratamento de esgotos. In: _____. Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos. 3. ed. Belo Horizonte: *UFMG*, 2005b. Cap. 4, p. 249-355

VON SPERLING, M. Princípios da remoção biológica de nutrientes. In: _____. Lodos ativados. 2. ed. Belo Horizonte: *UFMG*, 2002. Cap. 9, p 253-299.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de esgotos. In: _____. Princípios básicos do tratamento de esgotos. Belo Horizonte: *UFMG*, 1996. Cap. 1, p. 11-35.

VON SPERLING, M.; ANDRADE NETO, C. O.; VOLSCHAN JÚNIOR, I.; FLORÊNCIO, L. Impactos dos nutrientes do esgoto lançado em corpos d'água. In: MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. (Coord.) Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. Rio de Janeiro: *ABES*, 2009. Cap. 2, p. 26-51.

WAHMAN, D. G.; SPEITEL JÚNIOR, G. E. Relative Importance of Nitrite Oxidation by Hypochlorous Acid under Chloramination Conditions. *Environ. Sci. Technol.*, v. 46, p. 6056-6064, 2012. Doi: 10.1021/es300934x

WANG, H.; JI, G.; BAI, X. Enhanced long-term ammonium removal and its ranked contribution of microbial genes associated with nitrogen cycling in a lab-scale multimedia biofilter. *Bioresource Technology*, v. 196, p. 57–64, 2015. Doi: 10.1016/j.biortech.2015.07.055

WANG, H.; JI, G.; BAI, X.; HE, C. Assessing nitrogen transformation processes in a trickling filter under hydraulic loading rate constraints using nitrogen functional gene abundances. *Bioresource Technology*, v. 177, p. 217–223, 2015. Doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.094

WANG, T.; WANG, X.; YUAN, L.; LUO, Z.; INDIRA, H. Start-up and

operational performance of Anammox process in an anaerobic baffled biofilm reactor (ABBR) at a moderate temperature. *Bioresource Technology*, v. 279, p. 1-9, 2019. Doi: 10.1016/j.biortech.2019.01.114

WANG, T.; ZHANG, H.; YANG, F.; LIU, S.; FU, Z.; CHEN, H. Start-up of the Anammox process from the conventional activated sludge in a membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 2501-2506, 2009. Doi: 10.1016/j.biortech.2008.12.011

WANG, T.; SHEN, B.; ZHANG, S.; WANG, Z.; TIAN, L. Start-up performance of Anammox process in a fixed bed reactor (FBR) filled with honeycomb-like polypropylene carriers. *Water Science & Technology*, v. 73, n. 8, p. 1848-1854, 2016. Doi: 10.2166/wst.2016.017

WANG, Y.; WANG, Y.; WEY, Y.; CHEN, M. In-situ restoring nitrogen removal for the combined partial nitrification-anammox process deteriorated by nitrate build-up. *Biochemical Engineering Journal*, v. 98, p. 127-136, 2015. Doi: 10.1016/j.bej.2015.02.028

WANG, Y.; MA, L.; MAO, Y.; JIANG, X.; XIA, Y.; YU, K.; LI, B.; ZHANG, T. Comammox in drinking water systems. *Water Research*, v. 116, p. 332-341, 2017. Doi: 10.1016/j.watres.2017.03.042

WATARI, T.; CUONG, M. T.; TANIKAWA, D.; HIRAKATA, Y.; HATAMOTO, M.; SYUTSUBO, K.; FUKUDA, M.; NGUYEN, N. B.; YAMAGUSHI, T. Development of downflow hanging sponge (DHS) reactor as post treatment of existing combined anaerobic tank treating natural rubber processing wastewater. *Water Science & Technology*, v. 75, p. 57-68, 2016. Doi: 10.2166/wst.2016.487

WETT, B. Development and implementation of a robust deammonification process. *Water Science & Technology*, v. 56, n. 7, p. 81-88, 2007. Doi: 10.2166/wst.2007.611

WILSENACH, J., BURKE, L., RADEBE, V., MASHEGO, M., STONE, W., MOUTON, M., BOTHA, A. Anaerobic ammonium oxidation in the old trickling filters at Daspoort wastewater treatment works. *Water SA*, v.40, n.1, p. 81-88, 2014. Doi: 10.4314/wsa.v40i1.10

WINKLER, M. K. H.; YANG, J.; KLEEREBEZEM, R.; PLAZA, E.; TRELA, J.; HULTMAN, B.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Nitrate reduction by organotrophic Anammox bacteria in a nitrification/anammox granular sludge and a moving bed biofilm reactor. *Bioresource Technology*, v. 114, p. 217-223, 2012. Doi: 10.1016/j.biortech.2012.03.070

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. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01640.x

XIAO, Y.; ZENG, G. M.; YANG, Z. H.; LIU, Y.; MA, Y.; YANG, L.; WANG, R.; XU, Z. Coexistence of nitrifiers, denitrifiers and Anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor as revealed by PCR-DGGE. *Journal of Applied Microbiology*, v.

106, p. 496-505, 2009. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.04017.x

XU, G.; ZHOU, Y.; YANG, Q.; LEE, Z.; GU, J.; LAY, W.; CAO, Y.; LIU, Y. The challenges of mainstream deammonification process for municipal used water treatment. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 99, p. 2485-2490, 2015. Doi: 10.1007/s00253-015-6423-6.

XU, Y.; QIU, T. L.; HAN, M. L.; LI, J.; WANG, X. M.; Heterotrophic denitrification of nitrate-contaminated water using different solid carbon sources. *Procedia Environmental Sciences*, v. 10, p. 72-77, 2011. Doi: 10.1016/j.proenv.2011.09.013.

YAMAMOTO, T.; TAKAKI, K.; KOYAMA, T.; FURUKAWA, K. Long-term stability of partial nitrification of swine wastewater digester liquor and its subsequent treatment by Anammox. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 6419-6425, 2008. Doi: 10.1016/j.biortech.2007.11.052

YANG, J.; TRELA, J.; PLAZA, E. Nitrous oxide emissions from one-step partial nitrification/anammox processes. *Water Science & Technology*, v. 74, n. 12, p. 2870-2878, 2016. Doi: 10.2166/wst.2016.454

YANG, Y.; CHEN, Z.; WANG, X.; ZHENG, L.; GU, X. Partial nitrification performance and mechanism of zeolite biological aerated filter for ammonium wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 241, p. 473-481, 2017. Doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.151

ZEKKER, I.; KROON, K.; RIKMANN, E.; TENNO, T.; TOMINGAS, M.; VABAMÄE, P.; VLAEMINICK, S.; TENNO, T. Accelerating effect of hydroxylamine and hydrazine on nitrogen removal rate in moving bed biofilm reactor. *Biodegradation*, v. 23, p. 739-749, 2012. Doi: 10.1007/s10532-012-9549-6

ZHANG, H.; JIANG, J.; LI, M.; YAN, F.; GONG, C.; WANG, Q. Biological nitrate removal using a food waste-derived carbon source in synthetic wastewater and real sewage. *Journal of Environmental Management*, v. 166, p. 407-413, 2016. Doi: 10.1016/j.jenvman.2015.10.037

ZHANG, L.; NARITA, Y.; GAO, L.; ALI, M.; OSHINKI, M.; OKABE, S. Maximum specific growth rate of nammox bacteria revisited. *Water Research*, v. 116, p. 296-303, 2017. Doi: 10.1016/j.watres.2017.03.027

ZHANG, L.; YANG, J.; MA Y.; LI, Z.; FUJII, T.; ZHANG, W.; TAKASHI, N.; FURUKAWA, K. Treatment capability of an up-flow Anammox column reactor using polyethylene sponge strips as biomass carrier. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 110, p. 72-78, 2010a.

ZHANG, L.; ZHENG, P.; TANG, C.; JIN, R. Anaerobic ammonium oxidation for treatment of ammonium-rich wastewaters. *Journal of Zhejiang University Science B*, v. 9, p. 416-426, 2008. Doi: 10.1631/jzus.B0710590

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. 101, p. 6309-6314, 2010b. Doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.040

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. *Eng. Sant. Ambient.*, v. 21, n. 1, p. 29-42, 2016. Doi: 10.1590/S1413-41520201600100134682