

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

ANGELINA MARIA DE LIMA PHILIPS

**DESENVOLVIMENTO DE TESTES DE ATIVIDADE ESPECÍFICA
DE BACTÉRIAS NITRIFICANTES**

**Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
ORIENTADOR**

**Prof. Dr. Jorge Ninow
CO-ORIENTADOR**

Florianópolis, fevereiro de 2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANGELINA MARIA DE LIMA PHILIPS

**DESENVOLVIMENTO DE TESTES DE ATIVIDADE ESPECÍFICA
DE BACTÉRIAS NITRIFICANTES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
ORIENTADOR

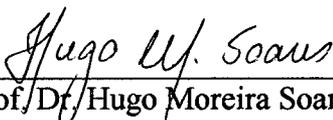
Prof. Dr. Jorge Ninow
CO-ORIENTADOR

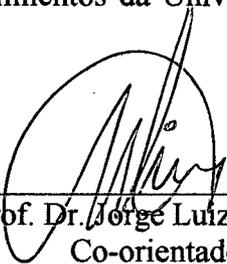
Florianópolis-SC
Fevereiro de 2002

Desenvolvimento de Testes de Atividade Específica de Bactérias Nitrificantes

Angelina Maria de Lima Phillips

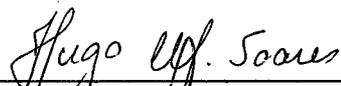
Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

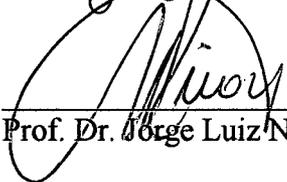

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
Orientador


Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow
Co-orientador


Prof. Dr. João Borges Laurindo
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
Em Engenharia de Alimentos

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Hugo Moreira Soares


Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow


Prof. Dr. Paulo Roberto Koetz


Prof.ª Dr.ª Valéria Reginatto Spiller

Florianópolis, 06 de Fevereiro de 2002

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu o mais precioso de todos os bens: a vida.

Ao Gabriel, meu filho, minha fonte de motivação, força e inspiração, que participou intensamente deste trabalho, freqüentando as aulas junto comigo em minha barriga e algumas vezes fazendo junto incursões ao laboratório para me ajudar na realização de alguns detalhes práticos.

Aos meus pais, Oscar e Bené, por todo amor e total dedicação, e pelo gigantesco esforço que fizeram para me dar educação e estudo.

Ao meu esposo Jürgen, por suportar comigo os momentos de dificuldades, sempre me dando seu carinho e apoio.

Aos meus irmãos, Terê, Osias e Oliab pelo incentivo e carinho.

De maneira especial à Profa. Dra. Valéria Spiller, por sua enorme ajuda, incentivo, conhecimentos transmitidos e amizade.

Aos Profs. Hugo Soares, meu orientador, Jorge Ninow e João Laurindo Borges, por terem acreditado em minha capacidade e por terem me dado a oportunidade de poder realizar este trabalho, como também, pelo apoio, conhecimentos transmitidos e amizade.

À Profa. Regina P. Muniz, pelo grande apoio, compreensão e amizade.

Aos meus Profs. Agenor Furigo, Edna Amante, Gláucia Aragão e José Antônio pelos conhecimentos transmitidos.

À amiga Mires Luci Pelisser, pelo incentivo e carinho.

Aos amigos do LDPT: Fabrício, Pablo, Roberta, Fábio, Mônica, Ermínia, Gabriela, Gercino, Glória, Renata, Ticiane e Vívian por todo auxílio prestado.

Aos secretários Daniel e Edevilson pelo atendimento simpático e eficiente.

Ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, pelas instalações e recursos disponibilizados para a realização dos experimentos.

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, pela atenção e sugestões realizadas.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que fosse possível a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IV
LISTA DE FIGURAS.....	VI
SIMBOLOGIA	VIII
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo Geral.....	4
2.2. Objetivos Especificos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. O Nitrogênio	5
3.1.1. <i>O Ciclo do Nitrogênio</i>	6
3.1.2. <i>Fontes de Nitrogênio</i>	7
3.1.3. <i>Problemas Ambientais Relacionados ao Nitrogênio</i>	9
3.1.4. <i>Legislação Ambiental</i>	12
3.2. Processos para a Remoção do Nitrogênio	13
3.2.1. <i>Processos Físico-Químicos</i>	13
3.2.2. <i>Processos Biológicos</i>	14
3.3. A Nitrificação.....	19
3.3.1. <i>Caracterização da Biomassa Nitrificante</i>	22
3.3.2. <i>Influência da Relação Carbono/Nitrogênio</i>	26
3.3.3. <i>Cinética da Nitrificação</i>	27
3.3.4. <i>Fatores Ambientais Influentes na Nitrificação</i>	30
3.3.5. <i>Relação So/Xo</i>	36
3.4. Processos Utilizados para a Nitrificação	37

3.4.1. <i>Sistemas de Cultivo Suspenso</i>	37
3.4.2. <i>Sistemas de Cultivo Fixo</i>	38
3.5. Nitrificação de Efluentes Contendo Altos Teores de Amônia.....	38
3.6. Ensaio em Batelada Alimentada.....	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. SISTEMAS.....	42
4.2. MICRORGANISMOS.....	46
4.2.1. <i>Lodo CASAN</i>	46
4.2.2. <i>Aclimação do Lodo</i>	46
4.3. Substratos Utilizados Durante os Testes.....	48
4.4. TESTES REALIZADOS.....	51
4.5. ENSAIOS DE NITRIFICAÇÃO.....	58
4.6. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS.....	59
4.7. CÁLCULOS DE PARÂMETROS.....	60
4.7.1 - <i>Cálculo de v</i>	60
4.7.2 - <i>Cálculo de μ_s e μ_p</i>	60
4.8. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	61
4.8.1. <i>Determinação de Amônia (NH_4^+)</i>	61
4.8.2. <i>Determinação de Nitrato (NO_3^-)</i>	61
4.8.3. <i>Determinação de Nitrito (NO_2^-)</i>	61
4.8.4. <i>Medições de pH</i>	61
4.8.5. <i>Demanda Química de Oxigênio</i>	61
4.8.6. <i>Determinação de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)</i>	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1. Adaptação do Lodo.....	63
5.2. Teste de Nitrificação Utilizando-se Diferentes Relações S_o/X_o , Mantendo-se S_o constante e Variando-se X_o	65
5.3. Testes para verificação do comportamento do pH.....	71
5.4. Teste de Nitrificação Variando-se S_o/X_o Mantendo-se X_o Constante.....	72
5.5. Teste de Nitrificação para Avaliação da Atividade nitrificante do Lodo CASAN com Efluente Sadia.....	77
5.6. Teste de nitrificação para avaliação da atividade do lodo adaptado com efluente sintético e efluente Sadia.....	81
5.7. Teste de nitrificação com lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se constante a relação S_o/X_o em 0,0150, e variando-se S_o e X_o	85
6. CONCLUSÕES	87

7 . SUGESTÕES PARA ESTUDOS COMPLEMENTARES	89
8 . BIBLIOGRAFIA	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 . Diferentes estados de oxidação assumidos pelo nitrogênio.....	5
Tabela 3.2 - Contribuições e concentrações de nitrogênio no esgoto bruto	8
Tabela 3.3 - Parâmetros para oxidação aeróbia e anaeróbia da amônia.....	18
Tabela 4.1 - Formulação inicial do Inóculo.....	48
Tabela 4.2 - programa de alimentação do reator de nitrificação.....	48
Tabela 4.3 - Composição química da solução de macro-nutrientes.....	49
Tabela 4.4 - Composição química da solução de micro-nutrientes.....	49
Tabela 4.5 - Composição do efluente sintético.....	50
Tabela 4.6 - Características fisicoquímicas do efluente da Sadia	50
Tabela 4.7 - Valores de X_o e relação S_o/X_o	52
Tabela 4.8 - Valores de S_o e relação S_o/X_o	54
Tabela 4.9 - Valores de S_o e relação S_o/X_o	57
Tabela 4.10 - Valores de S_o ; S_o/X_o e tipo de efluente utilizados.....	58
Tabela 4.11 - Valores de S_o e X_o mantendo-se a relação S_o/X_o igual a 0,015, utilizando-se efluente sintético.....	58
Tabela 5.1 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v aumentam, enquanto os valores de μ_s diminuem, à medida em que a relação S_o/X_o diminui.....	66
Tabela 5.2 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v aumentam, enquanto os valores de μ_p diminuem, à medida em que a relação S_o/X_o diminui.....	66
Tabela 5.3 - Medidas de alcalinidade.....	69
Tabela 5.4 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v e μ_s , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_o) e conseqüente aumento da relação S_o/X_o . Consta também aqui, os valores numéricos para a perda de amônia por volatilização.....	74
Tabela 5.5 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v e μ_p , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_o) e conseqüente aumento da relação S_o/X_o	74

Tabela 5.6 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v e μ_s , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_o) e conseqüente aumento da relação S_o/X_o	79
Tabela 5.7 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v e μ_p , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_o) e conseqüente aumento da relação S_o/X_o	79
Tabela 5.8 - Os valores de μ_s e v são baixos para o consumo de amônia, para teste utilizando-se lodo adaptado e efluente sintético e Sadia diluídos e mais altos para o efluente sadia concentrado.	84
Tabela 5.9 - Os valores de μ_p e v são baixos para a formação de nitrato, para teste utilizando-se lodo adaptado e efluente sintético e Sadia diluídos e mais altos para o efluente sadia concentrado.	84
Tabela 5.10 - Valores de μ_s e v para o consumo de amônia, para teste utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.....	85
Tabela 5.11 - Valores de μ e v para a formação de nitrato, para teste utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Ciclo do Nitrogênio (adaptada de PELISSER, 2001).....	7
Figura 3.2 - Distribuição da amônia e do íon amônio em função do pH e da temperatura (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).....	10
Figura 3.3 - Esquema da desnitrificação (BITTON, 1994).....	16
Figura 3.4 - Transformações do nitrogênio durante a nitrificação (adaptado de ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1995).	20
Figura 3.5 - Micrografia de transmissão eletrônica de uma seção ultra-fina de um agregado de células de bactérias oxidantes de amônia Nitrosococcus mobilis agregadas em um floco de lodo ativado. (KOOPS et al., 2001).....	25
Figura 3.6 - Comparação do efeito da temperatura na nitrificação em sistemas de crescimento suspenso e fixo (EPA, 1975).	31
Figura 3.7 - Efeito do pH sobre a velocidade de nitrificação (EPA, 1975).....	34
Figura 4.1 - Sistema 1 - com reator em vidro para testes de nitrificação.....	43
Figura 4.2 - Detalhe do reator confeccionado em garrafa em PET de 2L.....	44
Figura 4.3 - Sistema 2 - para testes de nitrificação utilizando-se reatores de PET mantidos à temperatura de trinta °C em banho-maria.	45
Figura 4.4 - Esquema do reator utilizado para aclimação dos microorganismos.	47
Figura 4.5 - Esquema utilizado para coleta da amônia liberada por "stripping".....	56
Figura 5.1 - Concentração de nitrogênio em função do tempo para a amônia na entrada e saída e de nitrato na saída do reator, durante o período de adaptação do lodo.....	63
Figura 5.2 - As velocidades de consumo do substrato ($N-NH_4^+$) e de formação de produto ($N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$) em função do tempo, aumentam à medida em que diminui a relação S_0/X_0	65
Figura 5.3 - As velocidades de consumo de amônia (A) e de formação de nitrato (B), aumentam com o aumento da concentração inicial de microrganismos, X_0	67
Figura 5.4 - As velocidades específicas (μ_s) de consumo de amônia (A) e de formação de nitrato (μ_p) (B) diminuem com o aumento da concentração inicial de microrganismos, X_0	67
Figura 5.5 - Consumo de alcalinidade em função da concentração de microrganismos (X_0).	70

Figura 5.6 - Valor de pH em função do tempo de ensaio.....	72
Figura 5.7 - As velocidades de consumo do substrato ($N-NH_4^+$) e de formação de produto ($N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$) em função do tempo, diminuem à medida em que aumenta-se a concentração de amônia inicialmente aplicada e conseqüentemente aumentando-se a relação S_o/X_o	73
Figura 5.8 - Os valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.	75
Figura 5.9 - Os valores de μ_s , para o decaimento da amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.	75
Figura 5.10 - O percentual de inibição das nitrificantes aumenta com o aumento da concentração de substrato inicialmente aplicada, alcançando um valor de 62% para o valor de S_o igual a 150 $mg.L^{-1}$ de $N-NH_4$	76
Figura 5.11 - Os valores percentuais para a perda de amônia por volatilização obtidos para os testes de atividade nitrificante realizados não ultrapassaram o valor de 2,5 %.	77
Figura 5.12 - As velocidades de consumo do substrato ($N-NH_4^+$) e de formação de produto ($N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$) em função do tempo, diminuem à medida em que aumenta-se a concentração de amônia inicialmente aplicada e conseqüentemente aumentando-se a relação S_o/X_o	78
Figura 5.13 - Os valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.	79
Figura 5.14 - Os valores de μ_s , para o decaimento da amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.	80
Figura 5.15.- Grau de inibição em função da concentração inicial de substrato (S_o) para teste utilizando-se lodo CASAN com Efluente Sadia. O percentual de inibição aproxima-se de 85% para o efluente Sadia não diluído.....	80
Figura 5.16 - Concentração em função do Tempo. Onde: (A) - Efluente sintético; (B) - Efluente Sadia diluído; (C) - Efluente Sadia sem diluição.	82
Figura 5.17 - Valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.....	86
Figura 5.18 - Valores de atividade específica (μ_s) em função da concentração inicial de substrato (S_o) para o consumo de amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B) utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.....	86

SIMBOLOGIA

ANAMMOX = (Anaerobic Ammonia Oxidation) ou oxidação anaeróbia da amônia

C:N = relação carbono nitrogênio

CASAN = Companhia de Saneamento de Água e Esgoto de Santa Catarina

DBO = Demanda Biológica de Oxigênio

DQO = Demanda Química de Oxigênio

EQA = Departamento de Engenharia Química e de Engenharia de Alimentos

LTE = Laboratório de tratamento de efluentes

K_o = constante de saturação do oxigênio (mg.L^{-1})

K_s = constante de saturação (mg.L^{-1})

μ_s = velocidade específica para o consumo de substrato ($\text{mg N-NH}_4 \cdot (\text{g SSV.h})^{-1}$)

μ_p = velocidade específica para a formação de produto ($\text{mg N-NO}_3 \cdot (\text{g SSV.h})^{-1}$)

velocidade específica de crescimento das bactérias nitrificantes (d^{-1});

μ_{max} = velocidade específica máxima de crescimento (d^{-1})

μ_n = $\bar{\mu}$ de nitrificantes

NH_3 = amônia livre

N-NH_4^+ = Nitrogênio na forma de íon amônio

$[\text{N-NH}_4^+]$ = concentração de amônio expressa em termos de nitrogênio (mgL^{-1})

N_2 = Nitrogênio gasoso

N-NO_2^- = Nitrogênio na forma de nitrito

N-NO_3^- = Nitrogênio na forma de nitrato

NTK = Nitrogênio total Kjejdahl

OD = Oxigênio dissolvido

pH_{opt} = pH ótimo

q_N = velocidade de conversão da oxidação do amônio, g N-NH₄⁺ oxidados / g de *Nitrosomonas*, dia⁻¹.

RBA - Reator em Batelada Alimentada

S₀ - Concentração inicial de substrato

SSV = sólidos suspensos voláteis

T = temperatura (°C)

TRH = Tempo de retenção hidráulica

TRS = Tempo de retenção de sólidos

v = velocidade de consumo de substrato ou formação de produtos (mg N.L⁻¹.h⁻¹)

VUO = velocidade de utilização do oxigênio

X₀ = concentração inicial de microrganismos

Y_N = fator de conversão de substrato em células, g de *Nitrosomonas* produzidos / g N-NH₄⁺ removidos.

RESUMO

A presença, em altas concentrações, de nitrogênio, em suas diversas formas, causada pela descarga de efluentes em corpos receptores, pode causar diversos, e sérios, problemas ambientais. O tratamento biológico oferece uma alternativa para a eliminação deste contaminante, onde, uma das etapas consiste na nitrificação do efluente através de bactérias nitrificantes conhecidas como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Testes de nitrificação em batelada foram realizados afim de estabelecer-se parâmetros a serem adotados em testes de atividade específica de bactérias nitrificantes. Os testes de nitrificação foram realizados, utilizando-se, como substrato, efluentes sintético e de uma unidade frigorífica da Sadia, e como inóculo, um lodo coletado de uma estação de tratamento de esgotos da CASAN em Florianópolis, SC. Os testes foram conduzidos em reatores em batelada confeccionados em vidro e posteriormente em garrafas de PET de 2L, onde foram controlados os seguintes fatores: temperatura (30 °C), pH (7.5) e concentração de oxigênio dissolvido (4.5 mg.L⁻¹ OD), e em intervalos estabelecidos foram retiradas amostras para análises do teor de amônia, nitratos e nitritos. Os seguintes testes foram realizados: 1) Testes de nitrificação com diferentes relações So/Xo, mantendo-se o So constante e variando-se o Xo, afim de verificar-se, entre as relações testadas, para qual delas havia uma melhor resposta na atividade dos microrganismos, onde os resultados obtidos mostraram que a velocidade específica foi maior na faixa do Xo entre 1500 e 3000 mg de SSV.L⁻¹, com melhor valor para Xo = 2000 mg SSV.L⁻¹, correspondente a um So/Xo = 0,0150. 2) Teste de nitrificação para determinação da quantidade de amônia perdida por "stripping", assim como, avaliação da atividade dos microrganismos, variando-se a relação So/Xo, mantendo-se Xo constante (2000 mg SSV.L⁻¹) e variando-se So. 3) Teste de nitrificação para avaliação da atividade do lodo CASAN com efluente Sadia, variando-se a relação So/Xo e mantendo-se Xo constante (2000 mg SSV.L⁻¹). 4) Teste de nitrificação com lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se constante a relação So/Xo em 0,0150. Em todos os testes de nitrificação realizados com lodo CASAN, os melhores valores obtidos para a velocidade específica (μ_s e μ_p) foi para a relação So/Xo = 0,0150, pelo fato do lodo CASAN estar adaptado a concentrações de nitrogênio próximas ao valor adotado para montagem desta relação (23,3 mg N-NH₄⁺.L⁻¹).

ABSTRACT

The presence, in high concentrations, of nitrogen, at your several forms, caused by the effluent discharge in water bodies, can cause many and serious environmental problems. The biological treatment offer an alternative to remove this contaminat, where, one of the steps is the effluent nitrification through the nitrificant bacterias, known as *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. Batch nitrification tests were runned in order to stablish parameters which will be used in specific activity tests of nitrificant bacterias. The nitrification tests were accomplished, using Sadia and sinthethic effluent. The sludge was obtained from the aeration tank of activated sludge of a municipal sewage treatment plant (CASAN). The tests were runned in batch reactors made in glass, and after in 2L bottles, where the following factors were controlled: temperature (30 °C), pH (7.5) and dissolved oxygen concentration (4.5 mg.L⁻¹ OD), and in stablished intervals, samples were withdrawn and the concentrations of ammonium, nitrate and nitrite were analyzed. The following tests were runned: 1) Nitrification tests with different relations So/Xo, keeping constant So and varying Xo, in order to verify the best answers of microorganism activity among the tested relations. The results showed that specific velocity was higher for the range between 1500 and 3000 mg VSS.L⁻¹, which the best value was Xo = 2000 mg VSS.L⁻¹. 2) Nitrification tests for measurements of the ammonium *stripping* by aeration and measuring too, the microorganisms activity, changing the relation So/Xo, keeping constant Xo (2000 mg VSS.L⁻¹) and varying So. 3) Nitrification tests using Sadia effluent to evaluate the CASAN sludge activity, changing the relation So/Xo and keeping constant Xo (2000 mg VSS.L⁻¹). 4) Nitrification test using CASAN sludge and Synthethic effluent, keeping constant the relation So/Xo (0,0150) and changing So and Xo. At all the nitrification tests runned with CASAN Sludge, the best obtained values for the specific velocity (μ) were to So/Xo = 0,0150, because the fact of the CASAN sludge to be adapted to nitrogen concentrations near to the value adopted to set up this relation (23,3 mg N-NH₄⁺.L⁻¹).

1 . INTRODUÇÃO

O nitrogênio, por ser parte integrante da molécula de proteína, e conseqüentemente do protoplasma, é um elemento de fundamental importância à vida dos seres vivos. Uma das etapas do seu ciclo, consiste na sua eliminação através das fezes e urina (uréia), ou por morte em animais.

As atividades humanas, juntamente com processos industriais, podem gerar efluentes contendo altas concentrações de nitrogênio e fósforo, os quais podem causar danos ecológicos aos sistemas aquáticos, estimulando a formação de uma grande massa celular de algas, causando, assim, a eutrofização em corpos receptores (lagoas). A deposição de resíduos sólidos de origem urbana ou industrial, geralmente resíduos sanitários, ou aqueles produzidos principalmente pela atividade agropecuária, podem gerar líquidos, os quais podem ser percolados através de solos permeáveis, causando assim, a contaminação dos lençóis freáticos por nitrato (VAZOLLER, 1988).

É de conhecimento científico que o nitrato não oferece perigos à saúde humana, porém, o mesmo pode ser convertido a nitrito na boca e no trato gastrointestinal, podendo causar problemas cancerígenos e em bebês levar a problemas de metahemoglobinemia, ou síndrome do bebê azul, matando por sufocação. Um outro composto de nitrogênio que também é causa de problemas ambientais é a amônia, que é altamente tóxica para os peixes, podendo causar morte nas espécies mais sensíveis em concentrações acima de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$, levando assim, ao desequilíbrio dos ecossistemas aquáticos. A amônia pode causar a eutrofização dos corpos d'água, levando a transtornos como a morte de peixes por diminuição do oxigênio dissolvido na água, produção de mau cheiro e substâncias tóxicas por alguns tipos de algas e ainda impedindo a prática de

atividades recreativas, da navegação e esportes náuticos devido ao crescimento desordenado de algas (EPA, 1975; ABREU, 1994).

A legislação ambiental brasileira limita apenas o padrão de lançamento de nitrogênio amoniacal em $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (von SPERLING, 1997), sem se preocupar em limitar o nitrogênio total. Ao contrário do que acontece na legislação ambiental do Estado de Santa Catarina, onde há a limitação do padrão de lançamento do nitrogênio total em 10 mg.L^{-1} , não havendo a preocupação em se padronizar também o lançamento da amônia, que, como anteriormente comentado, mesmo em baixas concentrações pode ser altamente danosa ao meio ambiente.

O crescimento da indústria frigorífica e o desenvolvimento da suinocultura na Região Oeste de Estado de Santa Catarina, têm gerado um grande volume de efluentes e dejetos suínos, causando, sérios problemas de poluição dos mananciais por compostos nitrogenados e eutrofização dos rios e lagos.

A Sadia S.A., é uma importante indústria alimentícia de processamento de carnes em geral, localizada na região oeste do Estado de Santa Catarina, sendo responsável pela geração de milhares de empregos e em cujo sistema de produção estão integrados um grande número de pequenas propriedades familiares para as quais a suinocultura é a principal fonte de renda (OLIVEIRA, 1983).

A empresa, conseguiu solucionar os seus problemas com relação à remoção de matéria carbonácea e patógenos em seus efluentes, através do sistema de tratamento de águas residuárias adotado, que envolve processos físicos, químicos e biológicos, utilizando lagoas anaeróbia facultativa e aeróbia e uma etapa de desinfecção final. Contudo, a concentração de nutrientes em seu efluente final é alta, impedindo assim, sua adequação à legislação ambiental, assim como a reutilização do efluente no processo de produção (REGINATTO e SOARES, 2000).

O tratamento biológico, através do processo de nitrificação e desnitrificação, é uma alternativa para a remoção de nitrogênio em efluentes. A nitrificação é um processo aeróbio, e o mesmo é realizado em duas etapas. Na primeira, ocorre a oxidação da amônia a nitrito, através das bactérias *Nitrosomonas*, e

posteriormente, na segunda etapa, o nitrito é convertido a nitrato através das *Nitrobacter*. Na desnitrificação, o nitrato é convertido a N_2 através de bactérias heterotróficas em ambiente anóxico, removendo, assim, efetivamente, o nitrogênio da fase líquida (TARTAKOVSKY, 1996).

O objeto de estudo do presente trabalho consiste da primeira etapa do tratamento biológico anteriormente citado - a nitrificação, que será estudada utilizando-se testes em batelada, que permitirão a avaliação da atividade nitrificante de lodos em processos biológicos de eliminação de nitrogênio. Este trabalho é parte integrante do projeto "Eliminação de nutrientes de efluentes agro-Industriais para fins de reutilização", cuja proposta é: "Desenvolvimento de uma estratégia específica para a reutilização do efluente da Sadia Concórdia S/A" firmado entre a Sadia S/A Ind. e Com. e o Dept. de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC; o Inst. de Engenharia Sanitária e de Tratamento de Resíduos da Universidade de Hannover - ISAH (Alemanha), e o CES - Consulting Engineers Saltzgitter GmbH.

2 . OBJETIVOS

2.1 . OBJETIVO GERAL

Estabelecer parâmetros a serem adotados em testes de atividade específica de bactérias nitrificantes, para que posteriormente, os mesmos venham a ser utilizados na avaliação de inóculos e no desenvolvimento da flora bacteriana nitrificante, em processos de remoção biológica de nitrogênio.

2.2 . OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i - Determinação dos valores das velocidades de consumo do substrato e formação de produtos, variando-se S_0 , X_0 e a relação S_0/X_0 .
- ii - Avaliação do possível efeito de inibição do processo de nitrificação causado pela toxicidade do substrato.

3 . REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 . O NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é um nutriente vital a todos os organismos, estando presente na forma de proteínas, ácidos nucleicos, adenosina fosfatos, nucleotídeos, piridina e pigmentos (HAGOPIAN & RILEY, 1998). O fato dele existir em muitos compostos é devido ao grande número de estados de oxidação que o mesmo pode assumir, variando de -3 (na forma de amônia e compostos orgânicos) a +5 (na forma de nitratos) (EPA, 1975), como apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 . Diferentes estados de oxidação assumidos pelo nitrogênio

FORMA	FÓRMULA	ESTADO DE OXIDAÇÃO
Amônia	NH_3	- 3
Íon amônio	NH_4^+	-3
Nitrogênio gasoso	N_2	0
Íon nitrito	NO_2^-	+3
Íon nitrato	NO_3^-	+5

Fonte: von SPERLING (1997).

Na natureza, as transformações no estado de oxidação do nitrogênio são mediadas por microrganismos (EPA, 1975). As mesmas ocorrem através de reações no ciclo biológico do nitrogênio. As principais transformações incluem processos de: fixação, amonificação, nitrificação e desnitrificação, esquematizados na Figura 3.1.

3.1.1 . O Ciclo do Nitrogênio

Na Figura 3.1 encontram-se representadas as interconversões biológicas do nitrogênio na atmosfera e hidrosfera. A atmosfera é composta de aproximadamente 80% de N na sua forma elementar (N_2). O ciclo biológico do Nitrogênio é definido pela sua fixação (1), onde o mesmo é incorporado na biomassa. A fixação do nitrogênio atmosférico (N_2), é realizada por algumas espécies de bactérias e algas que possuem a capacidade de transformá-lo em amônia (NH_3/NH_4^+). A amônia pode ser assimilada (2) para formar proteínas em plantas, as quais são ingeridas pelos animais. Através de suas excreções, morte, e também por morte das plantas, este nitrogênio orgânico é então convertido, por decomposição biológica, a amônia, processo este, conhecido por amonificação (3). Em presença de oxigênio ocorre a nitrificação (4), onde a amônia, por intermédio das bactérias nitrificantes, é convertida a nitrato. Numa etapa subsequente, o nitrato é reduzido a N_2 em ambiente anóxico pela desnitrificação bacteriana (5) (EPA, 1975). Há ainda um processo biológico de transformação do nitrogênio que não encontra-se apresentado na Figura 3.1, conhecido como processo ANAMMOX, ou simplesmente denominado de desamonificação. Tal processo consiste na conversão da amônia em nitrogênio gasoso, como produto final, em um único estágio (HELMER et al., 19__). Segundo JETTEN et al., (1999), a amônia (NH_3) reage com o nitrito (NO_2^-), produzindo hidroxilamina (NH_2OH), a qual atua como receptora de elétrons na oxidação da amônia, sendo convertida em hidrazina (N_2H_4), e esta, oxidada a nitrogênio gasoso.

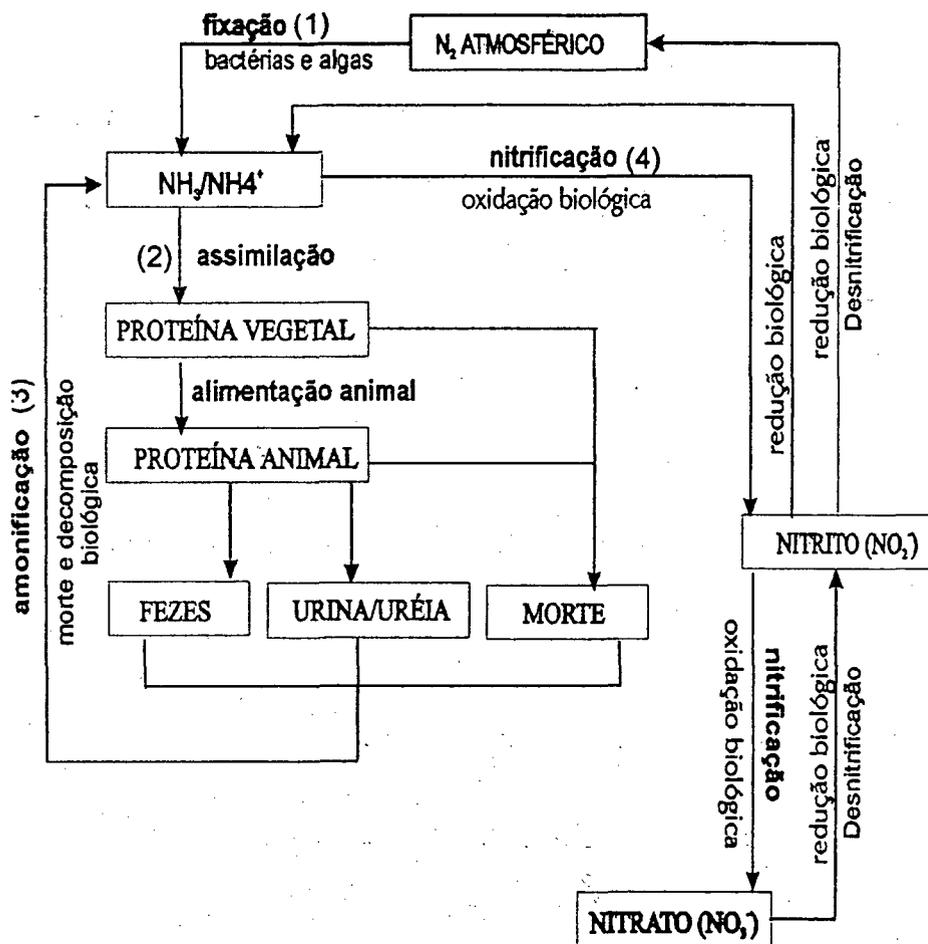


Figura 3.1 - Ciclo do Nitrogênio (adaptada de PELISSER, 2001)

3.1.2 . Fontes de Nitrogênio

As substâncias nitrogenadas podem ser inseridas no ambiente aquático tanto por fontes naturais como por fontes humanas. As fontes naturais incluem: fixação biológica, correntes subterrâneas não urbanas e chuvas. Entre as fontes humanas, atividades como fertilização de solos e queima de combustíveis fósseis contribuem para o aumento da concentração de nitrogênio das fontes naturais acima citadas; outras fontes humanas são as correntes subterrâneas de áreas urbanas, sistemas confinados de produção de animais (avicultura, suinocultura,

etc.), esgotos domésticos municipais, drenagem de sub-superfície de terras agrícolas e de fossas sépticas, e efluentes industriais (EPA, 1975).

Segundo von SPERLING (1997), nos esgotos domésticos brutos, as principais formas de nitrogênio são o nitrogênio orgânico e a amônia e em concentrações mínimas também se apresentam nitritos e nitratos. As concentrações de nitrogênio típicas para esgotos domésticos são apresentadas na Tabela 3.2:

Tabela 3.2 - Contribuições e concentrações de nitrogênio no esgoto bruto

Parâmetro	Contribuição per capita		Unidade	Concentração	
	Faixa	Típico		Faixa	Típico
Nitrogênio total	6,0 - 12,0	8,0	mg N.L ⁻¹	35 - 70	50
Nitrogênio orgânico	2,5 - 5,0	3,5	mg N.L ⁻¹	15 - 30	20
Amônia	3,5 - 7,0	4,5	mg NH ₄ ⁺ -N.L ⁻¹	20 - 40	30
Nitrito	~ 0	~ 0	mg NO ₂ ⁻ -N.L ⁻¹	~ 0	~ 0
Nitrato	0,0 - 0,5	~ 0	mg NO ₃ ⁻ -N.L ⁻¹	0 - 2	~ 0

Fonte: von SPERLING (1997).

Dentre os efluentes industriais com alta concentração de nitrogênio pode-se citar aqueles provenientes da produção de fertilizantes, do processamento de produtos proteicos em geral, de refinarias de petróleo, fábricas de fibra sintética, indústrias químicas (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991). Segundo dados citados por JONES (1974) a carga de nitrogênio gerada por uma indústria de leite e derivados é de 325 g para cada um Kg de leite, e grande parte disto é tratada na rede urbana de esgotos e misturada ao esgoto municipal. No caso da indústria frigorífica, mais especificamente da Indústria Sadia S.A., a concentração de nitrogênio amoniacal no seu efluente é em torno de 170 mg.L⁻¹,

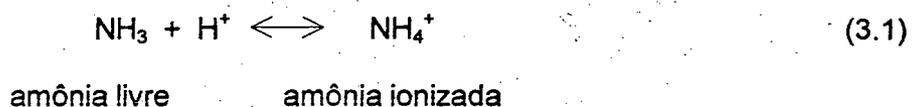
uma concentração bastante alta, considerando-se os padrões de lançamento adotados no País. Este assunto será melhor abordado posteriormente.

3.1.3 . Problemas Ambientais Relacionados ao Nitrogênio

Os problemas ambientais associados aos compostos de nitrogênio são variados e abundantes. A descarga de águas residuárias contendo altas concentrações de nitrogênio, seja ele na forma de óxidos, de amoníaco, ou orgânica, causará a contaminação dos corpos receptores; os principais compostos são: a amônia, o nitrato, o nitrito, e o óxido nitroso (ABREU, 1994), os quais serão discutidos a seguir.

a) Amônia

A amônia existe em solução aquosa, tanto na forma de íon (NH_4^+) como na forma livre, não ionizada (NH_3), segundo a Equação 3.1 (von SPERLING, 1997):



A fração da amônia total que existe como amônia livre é altamente dependente do pH. (BENEFIELD e RANDALL¹, apud SHIKOWSKI & MAVINIC, 1998). Este fenômeno está ilustrado na Figura 3.2.

¹ BENEFIELD, L. & RANDALL, C.W. (1980). *Biological Process Design for Wastewater Treatment*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

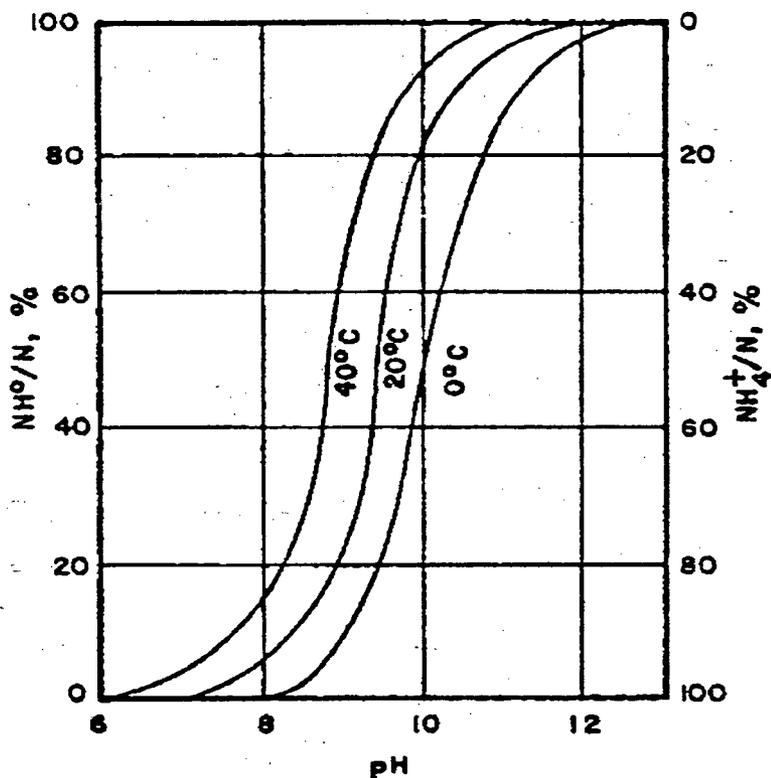


Figura 3.2 - Distribuição da amônia e do íon amônio em função do pH e da temperatura (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991)

Na Figura 3.2, nota-se que para valores de pH em torno de 7 apenas íons amônio estão presentes em solução; para pH em torno de 12 apenas amônia na forma livre está presente como gás dissolvido em solução; para valores de pH entre 7 e 12 estão presentes tanto íons amônio (NH_4^+) quanto amônia gasosa (NH_3). É possível observar-se também que, com o aumento da temperatura, há um aumento do percentual da amônia livre (NH_3) para um mesmo valor de pH (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).

A amônia na forma gasosa (NH_3) é altamente tóxica para os peixes, podendo, em concentrações acima de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ causar a morte de algumas espécies. O problema se agrava com a elevação da temperatura, com a descarga de efluentes alcalinos, fatores estes, que contribuem para a elevação do pH

(WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991; HAGOPIAN & RILEY, 1998).

Um outro problema ambiental causado pela entrada da amônia em corpos receptores, é que durante a oxidação biológica da amônia a nitratos (nitrificação), há um consumo de 4,6 mg de oxigênio para cada miligrama de NH_4^+ oxidado; diminuindo assim, a concentração de oxigênio dissolvido, o que normalmente, tem um significado negativo para a vida aquática (EPA, 1975; BITTON, 1994).

Além dos efeitos de toxicidade da amônia e do consumo de oxigênio, o nitrogênio, juntamente com o fósforo, podem causar a eutrofização quando lançado em corpos receptores.

A eutrofização é um processo que ocorre naturalmente, típico de lagos. No entanto, quando efluentes contendo altas concentrações de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, são despejados em corpos receptores, ocorre uma estimulação do crescimento rápido de algas, tal estímulo tem conseqüências indesejáveis, entre elas (MUIR, 2001):

- A penetração de luz na água é diminuída. Isto ocorre devido ao emaranhado formado pelas algas que são produzidas mais rápido do que consumidas. Esta diminuição da luminosidade causa um decréscimo na velocidade de produção de plantas típicas de águas mais profundas, diminuindo assim, a sua produção de oxigênio;
- O oxigênio dissolvido (OD) é esgotado, pois quando estas algas morrem, elas são utilizadas como fonte de carbono por bactérias heterotróficas que consomem o oxigênio dissolvido na água;
- A falta de oxigênio resulta na morte de peixes que necessitam de um alto nível de OD, restando apenas as espécies que resistem às novas condições, ocorrendo, assim, uma modificação do ecossistema aquático, com redução da biodiversidade;

A eutrofização pode, também, causar efeitos adversos à grande variedade de usos da água inviabilizando-a para abastecimento, irrigação, pescaria, navegação, esportes aquáticos, etc. Além disso, há o aspecto indesejável do impacto estético

com a formação de turbidez, descoloração, maus odores e formação de espuma (HTTP://WWW.FWR.ORG/EUTRFACHTM, 2001).

b) *Nitrato*

O nitrato é um contaminante primário em bebidas (GLASS & SILVERSTEIN, 1997) e, segundo BITTON (1994), pode causar problema de metahemoglobinemia, ou síndrome do bebê azul, que ocorre devido à conversão do nitrato a nitrito no trato gastrointestinal, por bactérias redutoras de nitrato. O nitrito converte a hemoglobina em metahemoglobina, que é incapaz de se ligar ao oxigênio molecular, resultando assim, em sufocação e o desenvolvimento de uma cor azulada na pele. Os bebês são mais suscetíveis a este fato devido ao alto pH em seus estômagos, o que permite uma maior redução de nitrato a nitrito. O nitrito também pode se combinar com aminas secundárias para formar nitrosaminas, que são substâncias mutagênicas e cancerígenas.

Recentemente, MUIR (2001), comenta que relatou-se que níveis de nitrato que não oferecem perigo para humanos, parecem ser perigosos para algumas espécie de anfíbios, os quais são uma espécie em declínio devido a doenças inexplicadas, morte, falhas reprodutivas e deformidades.

3.1.4 . **Legislação Ambiental**

No Brasil, a Resolução CONAMA N^o. 20, de 1986, estabelece padrão de lançamento (em relação a compostos de nitrogênio) apenas para amônia total, cujo limite máximo deve ser inferior a 5 mg.L⁻¹ não havendo, até então, a preocupação em se limitar a descarga de nitrogênio total.

A legislação ambiental do Estado de Santa Catarina, porém, através do Decreto N^o. 14.250 de 5 de junho de 1981, Art. 19^o, fixa o limite máximo para nitrogênio total em 10 mg.L⁻¹ para lançamentos em trechos de corpos de água contribuintes de lagoas, lagunas e estuários. No entanto, apesar da rigidez da

legislação, poucos são os sistemas de tratamento de esgotos, tanto doméstico como industrial, no País, que contemplam uma etapa destinada à remoção de nitrogênio.

Nos países da Comunidade Européia, os padrões de lançamento em corpos d'água, relativos ao tratamento de esgotos urbanos, estabelecem uma concentração de nitrogênio total inferior a 15 mg.L⁻¹ para populações entre 10.000 e 100.000 habitantes e inferior a 10 mg.L⁻¹ para populações acima de 100.000 habitantes (von SPERLING, 1997; JÖNSSON et al., 1999).

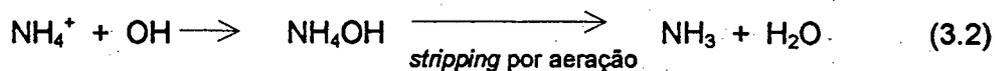
3.2 . PROCESSOS PARA A REMOÇÃO DO NITROGÊNIO

O nitrogênio contido no afluente em plantas de tratamento de esgoto pode ser removido do efluente tanto por tratamentos físico-químicos como por via biológica.

3.2.1 . Processos Físico-Químicos

Os processos físico-químicos incluem:

- a) **Stripping** da Amônia, feito em torres de *stripping*, onde o pH do meio eleva-se, geralmente, a uma faixa entre 10 e 11, e a amônia é liberada por aeração, como mostra a Equação 3.2:



esta amônia liberada causará poluição do ar, caso não seja recuperada e utilizada para outros fins (como fertilizante, por ex.) (BITTON, 1994).

- b) **Supercloração:** através da adição de grandes quantidades de cloro ao meio, o amônio é oxidado a nitrogênio gasoso, sendo então liberado do meio líquido, como mostra a Equação 3.3:



A acidez produzida pela reação pode ser neutralizada pela adição de soda cáustica. Este método é capaz de remover entre 90% - 100% do amônio (EPA, 1975; METCALF & EDDY, 1991).

- c) **Outros métodos para a remoção físico-química do nitrogênio:** filtração, diálise, troca iônica seletiva e osmose reversa (BITTON, 1994).

3.2.2 . Processos Biológicos

A eliminação do nitrogênio via biológica requer a sua transformação em nitrogênio gasoso (N_2), o qual é expelido para a atmosfera sem danos ao meio ambiente. A via metabólica clássica da eliminação biológica do nitrogênio envolve duas etapas: a oxidação do amônio até o íon nitrato, conhecida por nitrificação, seguida da redução do nitrato a nitrogênio gasoso, etapa esta denominada de desnitrificação (EPA, 1975).

Nos últimos anos, entretanto, alguns autores têm descrito a eliminação biológica do nitrogênio em uma etapa única. Essa via metabólica, na qual o nitrito em vez do nitrato é o aceptor de elétrons, é realizada por alguns microrganismos sob determinadas condições, denominada de desamonificação e comumente conhecida como processo ANAMMOX. A seguir serão descritos os possíveis processos biológicos para eliminação de nitrogênio:

Segundo DURAN (1999), ao selecionar-se uma alternativa de tratamento, é necessário levar em conta os seguintes fatores: características do líquido a tratar,

nível de remoção requerido, tipo de instalação existente, nível de complexidade da tecnologia a implementar adequado ao local de instalação.

a) *Processo de Nitrificação / Desnitrificação*

O processo de nitrificação/desnitrificação é um processo convencional para remoção de compostos nitrogenados da água e incorpora dois estágios: no primeiro estágio, o da nitrificação, o amônio é oxidado a nitrito e em seguida a nitrato por intermédio das bactérias nitrificantes. Num segundo estágio o nitrato é reduzido a nitrito, e posteriormente a nitrogênio gasoso através das bactérias heterotróficas desnitrificantes (TARTAKOVSKY, 1996). A Equação 3.4 (GRUNDITZ et al. 1998) mostra a reação global de forma simplificada:



As duas etapas, relativas a eliminação biológica do nitrogênio, a nitrificação e a desnitrificação, serão abordadas separadamente, sendo a nitrificação mais amplamente discutida num item posterior, por fazer parte do tema central deste trabalho.

b) *Desnitrificação*

GIANOTTI (1994) em pesquisa bibliográfica cita que o primeiro estudo sistemático da desnitrificação foi realizado por SMITH, em 1867, observando o desaparecimento do nitrato em águas ricas em matéria orgânica.

TIEDJE (1986), define a desnitrificação como sendo a produção de nitrogênio gasoso por redução microbiana do nitrato (acceptor de elétrons), onde os principais produtos são o nitrogênio gasoso e o óxido nitroso, embora o óxido nítrico tenha ocasionalmente sido detectado. A Figura 3.3 mostra o esquema da desnitrificação e as enzimas envolvidas no processo :

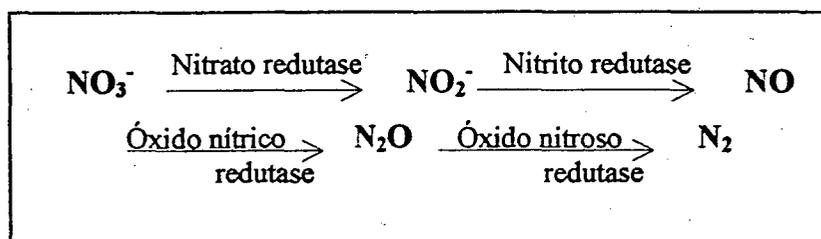
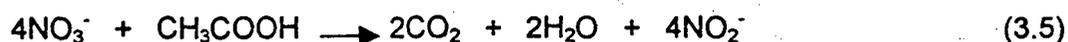


Figura 3.3 - Esquema da desnitrificação (BITTON, 1994)

Em revisão bibliográfica realizada, TARTAKOVSKY (1996) apresenta as reações que ocorrem no processo (tendo o acetato como agente redutor) (eqs. 3.5 e 3.6):



Os microrganismos envolvidos na desnitrificação são as bactérias heterotróficas (necessitam de uma fonte de carbono orgânica) facultativas, pois, como explica TIEDJE (1986), a bactéria desnitrificante é basicamente aeróbia e prefere utilizar o O_2 como seu aceptor de elétrons, porém, elas possuem a capacidade de utilizar o NO_3^- na ausência do oxigênio. A síntese das enzimas desnitrificantes é reprimida na presença de O_2 .

Os principais fatores que influenciam a desnitrificação são: concentração de nitratos, condições anóxicas, presença de matéria orgânica, pH, temperatura, efeito de metais.

Como o nitrato serve como um aceptor de elétrons para a bactéria desnitrificante, a taxa de crescimento de desnitrificantes depende da concentração deste íon (BITTON, 1994);

A desnitrificação deve ser conduzida na ausência de oxigênio, porém, a mesma pode ocorrer dentro de flocos de lodos ativados e biofilmes apesar de níveis de oxigênio relativamente altos no conteúdo do líquido. Assim, a presença de oxigênio pode não impedir a desnitrificação em nível microambiental (BITTON, 1994).

A presença de matéria orgânica para a desnitrificação é necessária, tanto para o crescimento das bactérias heterotróficas quanto como doadora de elétrons para reduzir o NO_3^- . As fontes doadoras de elétrons incluem compostos puros (ácido acético, ácido cítrico, metanol), águas residuárias domésticas brutas, efluentes de indústrias de alimentos (efluentes de cervejarias, melaço) e lodos. O biogás contendo aproximadamente 60 % de metano, pode também servir como única fonte de carbono na desnitrificação (BITTON, 1994).

Outro fator importante para a desnitrificação é o pH do meio. Segundo METCALF & EDDY (1991), a desnitrificação é mais efetiva em pH entre 7.0 e 8.5 e o ótimo é em torno de 7.0. A alcalinidade e o pH aumentam com o decorrer da desnitrificação. ECKENFELDER & MUSTERMANN (1995), relatam que para cada um mg de NO_3^- que é reduzido a N_2 produz-se 3,57 mg de alcalinidade como CaCO_3 .

A faixa de temperatura na qual a desnitrificação pode ocorrer está entre 35 e 50 °C, e pode ocorrer também a uma taxa mais lenta em temperaturas mais baixas (5 e 10 °C) (BITTON, 1994).

A desnitrificação biológica tem sido usada frequentemente para remover concentrações relativamente baixas de nitratos ($10 - 200 \text{ mg.L}^{-1}$) em águas residuárias domésticas e provenientes de atividades agrícolas, porém a eliminação de altas concentrações de nitratos e nitritos pode ser obtida via desnitrificação. Nesse sentido, GLASS & SILVERSTEIN (1997), conseguiram remover 1350 mg.L^{-1} de $\text{NO}_3\text{-N}$ em um período de 4h utilizando um reator SBR

c) Processo de Desamonificação

O processo de desamonificação conhecido como processo ANAMMOX foi observado pela primeira vez em um reator desnitrificante de leito fluidizado (STROUS, 1997). Durante experimentos, notou-se que o amônio desaparecia do efluente do reator sem haver formação de nitrato, com um aumento da produção de N₂. Nestes experimentos observou-se uma taxa máxima de remoção de amônia de 1.2 mmol/L.h. Em fluxo contínuo os balanços redox e de nitrogênio mostraram que o amônio realmente desapareceu sob condições anaeróbicas, resultando na produção de nitrogênio gasoso. Este novo processo foi denominado de ANAMMOX, que significa anaerobic ammonium oxidation ou oxidação anaeróbia do amônio, e acontece segundo a equação 3.7 (JETTEN et al. 2001):



onde o amônio é convertido a nitrogênio gasoso com o nitrito como acceptor de elétrons (van de GRAAF et al., 1996). Nesse processo estão envolvidas bactérias autotróficas, não havendo, então, a necessidade da adição de DQO para ocorrer a desnitrificação. Segundo JETTEN (2001), a oxidação anaeróbia do amônio (equação 3.7) é energeticamente mais favorável do que a nitrificação em ambiente aeróbio conforme os dados apresentados na Tabela 3.3:

Tabela 3.3 - Parâmetros para oxidação aeróbia e anaeróbia da amônia

Parâmetro	Nitrificação $\text{NH}_4^+ + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^-$	Anammox $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$	Unidade
energia livre	- 275	-357	kJ/mol
rendim. biomassa	0,08	0,07	mol/molC
taxa aeróbia	200 - 600	0	nmol/min/mg proteína
taxa anaeróbia	2	60	nmol/min/mg proteína
taxa de crescim.	0,04	0,0030	/h

Fonte: adaptado de JETTEN (2001).

Os microrganismos envolvidos neste processo foram identificados recentemente em pesquisa feita por JETTEN et. al. (2001), que relata ser um grupo de planctomycetes, incluindo *Candidatus B. anammoxidans* e *Candidatus K. stuttgartiensis*.

3.3 . A NITRIFICAÇÃO

A nitrificação biológica, apresentada na Figura 3.4, é conhecida por ser um processo efetivo na remoção do amônio de águas residuárias. Este processo é freqüentemente utilizado para tratamento de águas residuárias de origem municipal e industrial (SHEINTUCH et al. 1995). Nos esgotos domésticos, as formas de nitrogênio predominantes são a amônia e o nitrogênio orgânico (von SPERLING, 1997). Esses últimos, segundo FIGUEROA & SILVERSTEIN (1992), são degradados por ação extracelular, por enzimas hidrolíticas produzidas por bactérias putrefatórias (*Bacillus*, *Proteus*, *Bacillus subtilis*, e alguns microrganismos anaeróbios). A degradação dos aminoácidos resultantes da hidrólise das proteínas parecem ser um mecanismo intracelular, no qual a bactéria separa o amônio dos aminoácidos.

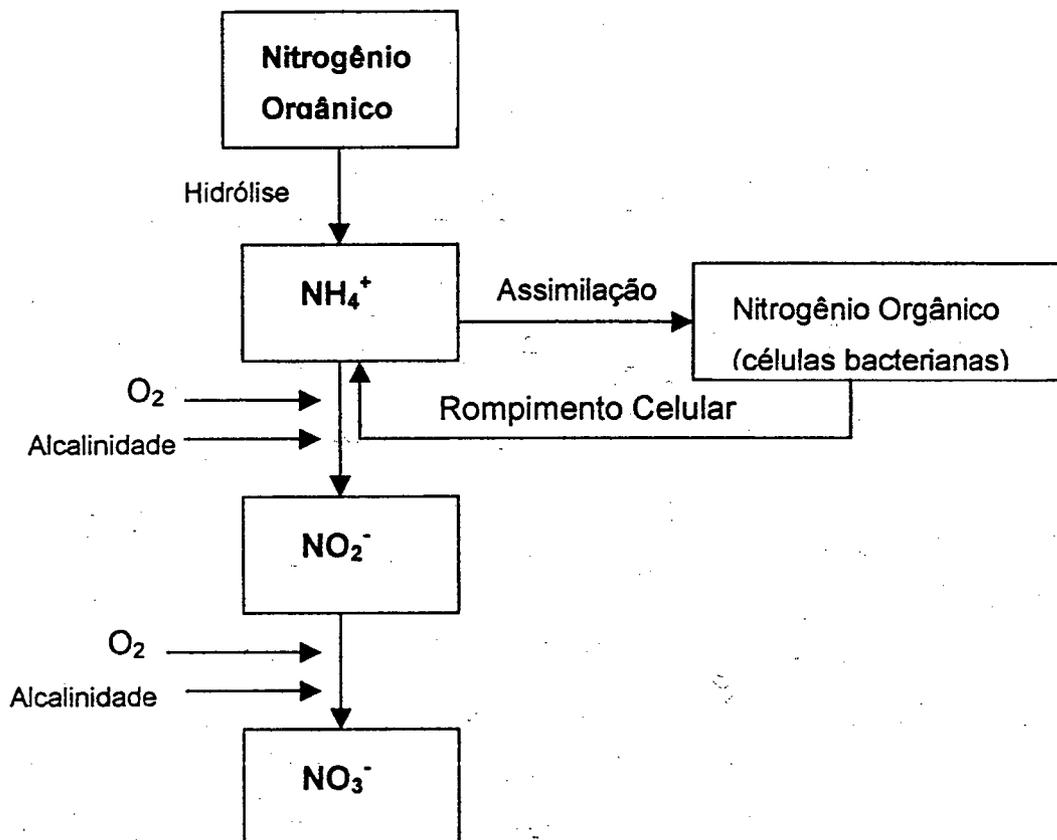
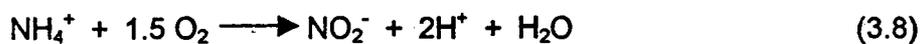
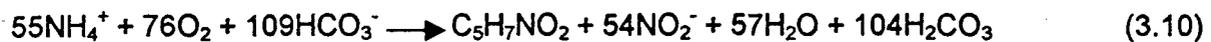


Figura 3.4 - Transformações do nitrogênio durante a nitrificação (adaptado de ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1995).

O processo de nitrificação ocorre por meio de microrganismos quimioautotróficos, em duas etapas, que simplificadaamente são mostradas nas Equações 3.8 e 3.9 abaixo (SHEINTUCH et al. 1995):



GUILLEN-JIMENEZ et al. (2000), em revisão de literatura apresenta mais detalhadamente estas reações, onde, a primeira (equação 3.8), que ocorre por intermédio das *Nitrosomonas*, a nitrificação, consome uma considerável quantidade de oxigênio e diminui o pH, pela liberação de íons H⁺, conforme Equação 3.8. Ao mesmo tempo, um processo de assimilação se instala, no qual, o carbono inorgânico é consumido para a síntese da biomassa. A reação global apresentada na Equação 3.10 seria:



Numa etapa subsequente, bactérias do gênero *Nitrobacter* oxidam o nitrito a nitrato de acordo com a Equação 3.11, e simultaneamente, um outro processo de assimilação é produzido, de acordo com a Equação 3.10:



O amônio é considerado necessário para a biossíntese da *Nitrobacter* (BOCK² et al. (1991) apud GUILLEN-JIMENEZ et al. 2000).

Segundo (GIBBS & SCHIFF³ (1960) apud HAGOPIAN & RILEY, 1998) a Equação 3.8 libera 84 Kcal mol⁻¹, enquanto que a Equação 3.9 libera 17.8 Kcal mol⁻¹, ou seja, a primeira libera quatro vezes mais energia do que a segunda.

A energia liberada nestas reações é usada pelos microrganismos nitrificantes na síntese de compostos orgânicos a partir de fontes de carbono inorgânico, como dióxido de carbono, bicarbonato e carbonato. Portanto, a

² BOCK, E. et al. (1991). The biochemistry of nitrifying organism. In: *Variations in Autotrophic Life*, eds J.M. Shiveley and L.L. Barton. Academic Press, New York.

³ GIBBS, M., SCHIFF, J.A. 1960. Chemosynthesis: The energy relations of chemoautotrophic organisms. In: Steward, F.C. (Ed.), *Plant Physiology: A Treatise*, Vol. IB: photosynthesis and chemosynthesis, Academic Press, New York, pp. 279-319.

nitrificação está intimamente associada ao crescimento das bactérias nitrificantes (BARNES & BLISS⁴ (1983) apud von SPERLING, 1997).

Através de cálculos estequiométricos das reações que ocorrem na nitrificação, pode-se observar que para cada 1 g de N-NH₃ oxidado a NO₃-N, são consumidos: 4.33 g de O₂; 7.15 g de alcalinidade (como CaCO₃), 0.15 g de novas células são formadas e 0,08 g de carbono inorgânico são consumidos (ECKENFELDER & MUSTERMAN, 1995).

3.3.1 . Caracterização da Biomassa Nitrificante

De acordo com von SPERLING (1997), em relação à fonte de carbono, a biomassa pode ser dividida em heterotrófica e autotrófica. As bactérias heterotróficas utilizam o nitrogênio na forma de amônia para síntese e o nitrogênio na forma de nitrato como acceptor de eletrons (em condições anóxicas). A biomassa autotrófica utiliza a amônia como fonte de energia, o que, segundo VAZOLLER (1988), são organismos quimioautotróficos, pois utilizam uma fonte de energia química e o CO₂ como principais fontes de carbono. A energia é obtida pela oxidação de compostos inorgânicos reduzidos, tais como NH₃, NO₂, H₂, formas reduzidas do enxofre (H₂S, S, S₂O₃) e compostos ferrosos. Devido à capacidade destas bactérias crescerem em meios minerais simples, na ausência de luz, esses organismos são também conhecidos como quimiolitotróficos. Ainda, segundo a mesma autora, as bactérias quimioautotróficas utilizam a energia de ligação de compostos inorgânicos para sintetizar os compostos orgânicos celulares, processo conhecido como quimiossíntese

A nitrificação é um processo estritamente biológico devido a alguns gêneros de bactérias quimioautotróficas (BITTON, 1994).

Originalmente, todas as bactérias litoautotróficas nitrificantes eram compreendidas em uma única família chamada nitrobacteraceae. Entretanto,

⁴ BARNES, D., BLISS, P.J., (1983). Biological control of nitrogen in wastewater treatment. E.& EN. Spon, London, 146 p.

investigações filogenéticas deixaram claro que existem vários grupos distintos de organismos os quais não estão intimamente ligados uns aos outros (KOOPS e POMERENNING-RÖSER, 2001).

a) *Bactérias litotróficas oxidantes da amônia*

Existem dois grupos de bactérias filogeneticamente distintos responsáveis coletivamente pela nitrificação (SUZUKI et al. 1974). Consta na revisão bibliográfica de KOOPS e POMERENNING-RÖSER (2001), que, um grupo está localizado dentro da subclasse γ da Proteobacteria. O único gênero, *Nitrosococcus*, é representado pelas duas espécies descritas: *Nitrosococcus oceani* e *Nitrosococcus halophilus*. O segundo grupo pertence a subclasse β da Proteobacteria. Duas castas existem dentro deste conjunto, a casta *Nitrosospira* e a casta *Nitrosomonas*. Todos os membros destes três gêneros da casta *Nitrosospira* estão intimamente relacionados, enquanto que a casta *Nitrosomonas* revela pelo menos cinco linhagens distintas. Um total de 14 espécies são descritas: *Nitrosospira briensis*, *Nitrosovibrio tenuis*, *Nitrosolobus multiformis*. As espécies *Nitrosomonas*: *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas eutropha*, *Nitrosomonas halophila*, *Nitrosomonas ureae*, *Nitrosomonas oligotropha*, *Nitrosomonas marina*, *Nitrosomonas aestuarii*, *Nitrosomonas communis*, *Nitrosomonas nitrosa*, *Nitrosomonas cryolerans* e *Nitrosococcus mobilis*. As últimas espécies pertencem filogeneticamente ao gênero *Nitrosomonas* e deveriam assim ser reclassificadas como *Nitrosomonas mobilis*.

b) *Bactérias litotróficas oxidantes do nitrito*

Foram descritos quatro grupos filogeneticamente distintos de bactérias nitrito oxidantes. O maior grupo, o qual pertence à subclasse α da Proteobacteria, é representado por um único gênero, a *Nitrobacter*. Quatro espécies foram descritas: *Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrobacter hamburgensis*, *Nitrobacter vulgaris* e *Nitrobacter alkalicus*. duas espécies marinhas, *Nitrococcus mobilis* e *Nitrospina gracilis* foram designadas serem das subclasses γ e δ , respectivamente. E duas

espécies do gênero *Nitrospira*, *Nitrospira marina* e *Nitrospira moscoviensis*, são membros de um filo diferente, próximo à subclasse δ da Proteobactéria.

c) **Propriedades das Bactérias Nitrificantes**

HAGOPIAN & RILEY (1998), informam em revisão bibliográfica, que todos os membros da família das Nitrobacteraceae são gram-negativas quimioautotróficas. Entre as bactérias nitrificantes, a *Nitrosomonas europaea* é a mais abundante e extensivamente citada e foi identificada como o gênero dominante em ambientes onde existe variações no conteúdo de oxigênio. Concentrações da mesma podem ser encontradas em interfaces aeróbias/anaeróbias da maioria das zonas sedimentares, onde se origina uma fonte de energia a partir da decomposição de matéria orgânica sedimentada. Sua membrana celular é extensivamente invaginada e comumente pobre em citocromo, dando assim uma coloração ferruginosa em culturas densas. Outras espécies de *Nitrosomonas* habitam águas doces e sedimentos marinhos.

Foi observado, especialmente em ambientes aquáticos, que algumas espécies de bactérias amônia oxidantes ocorrem quase que exclusivamente anexadas a flocos ou biofilmes. Estas espécies parecem ser auto-floculantes em culturas puras. Outras espécies ocorrem predominantemente como células planctônicas individuais, mas são capazes de formar colônias, já existindo flocos ou biofilmes. A Figura 3.5, exibe um agregado de células de bactérias oxidantes de amônia em um floco de lodo ativado (KOOPS et al., 2001).



Figura 3.5 - Micrografia de transmissão eletrônica de uma seção ultra-fina de um agregado de células de bactérias oxidantes de amônia *Nitrosococcus mobilis* agregadas em um floco de lodo ativado. (KOOPS et al., 2001)

von SPERLING (1997), relata que a velocidade de crescimento dos microrganismos nitrificantes, principalmente *Nitrosomonas*, é baixa e bastante inferior à dos microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria carbonácea. Assim, em um sistema de tratamento biológico em que se objetiva a nitrificação, o tempo de residência celular, ou a idade do lodo, deve ser tal, que propicie o desenvolvimento das bactérias nitrificantes, antes que elas sejam

arrastadas do sistema. NOTO et al. (1998), informa que, devido à esta baixa velocidade de crescimento e ao pequeno rendimento do crescimento das nitrificantes autótrofas, as populações nitrificantes deveriam ser retidas no sistema em uma alta densidade para obter-se uma alta velocidade de nitrificação. O sistema é controlado, portanto, pelo microrganismo de crescimento mais lento, no caso, *Nitrosomonas* (von SPERLING, 1997).

As bactérias do gênero *Nitrobacter* têm uma velocidade de crescimento maior, razão pela qual normalmente não há acúmulo de nitritos no sistema (von SPERLING, 1997).

d) *Competição entre Nitrificantes e Heterotróficas*

OKABE et al. (1996), relata que a presença de matéria orgânica nas águas residuárias, resulta em competição pelo oxigênio dissolvido entre as bactérias nitrificantes e as heterotróficas. Nesta competição, o grupo trófico mais crítico é constituído pelas oxidantes de amônio e nitrito devido à sua velocidade de crescimento e coeficiente de rendimento serem muito baixos em relação a outros grupos. Logo, mesmo quando a nitrificação é desejada em um processo, as bactérias nitrificantes são usualmente eliminadas por competição pelas bactérias heterotróficas. A inibição ou eliminação das bactérias nitrificantes por competição com estas espécies intermediárias, usualmente leva a uma queda na eficiência da nitrificação, ou até mesmo a uma falha do processo.

3.3.2 - Influência da Relação Carbono/Nitrogênio

Segundo o manual da WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (1991), a relação DBO/NTK é um dos fatores críticos para os processos de nitrificação. Em experiências utilizando-se sistemas do tipo lodos ativados, combinando-se remoção de carbono e nitrificação, a população nitrificante foi geralmente baixa, e entre 60 e 70% das necessidades do oxigênio consumido foi

um resultado da demanda de carbono orgânico, devido às altas relações de DBO/NTK no efluente.

OKABE (1996) realizou experimentos, afim de verificar a influência da matéria orgânica sobre a eficiência da nitrificação, utilizando biofilmes de lodo aclimatado, cultivados em reatores biológicos de rotação parcialmente submerso. Variando-se as relações C:N: 0, 0.25, 1.5, 0, 1 (as três primeiras com efluente sintético e as duas últimas com efluente proveniente de uma estação de tratamento de esgotos). Os reatores foram alimentados a cada dois dias com efluente contendo vinte mg de $N-NH_4^+$, $NaHCO_3$ (fonte de alcalinidade e carbono inorgânico para as bactérias nitrificantes) e $C_2H_3O_2Na$ (fonte de carbono orgânico) em quantidades suficientes para se obter as relações acima citadas. Os melhores resultados para oxidação de amônia a nitrito foram conseguidos para as relações DBO/NTK de 0 e 0.25, sendo que para a razão 0 houve acúmulo de nitrito, enquanto que para 0.25 foi observada a completa conversão de nitrito a nitrato. O crescimento da biomassa nitrificante também foi mais efetivo para estas duas relações, onde o mesmo foi três vezes mais alto do que para as relações de 1.0 e 1.5, o que o autor explica, como sendo, provavelmente devido a bactéria heterotrófica produzir um biofilme menos denso do que as bactérias nitrificantes, como consequência da produção de mais substratos poliméricos extracelulares.

3.3.3 . Cinética da Nitrificação

As relações cinéticas descrevem essencialmente a velocidade na qual as reações acontecem, isto é, ao consumo ou produção de um produto, em relação ao tempo. A velocidade de oxidação do substrato é diretamente proporcional à velocidade de crescimento dos organismos nitrificantes (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991). A equação 3.12, descreve o crescimento dos microrganismos de acordo com o modelo de Monod (von SPERLING, 1997).

$$\mu = \frac{[NH_4^+]}{K_s + [NH_4^+]} \quad (3.12)$$

onde:

μ = velocidade específica de crescimento das bactérias nitrificantes (d^{-1});

μ_{max} = velocidade específica máxima de crescimento (d^{-1})

$[NH_4^+]$ = concentração de amônio expressa em termos de nitrogênio ($mg.L^{-1}$)

K_s = constante de saturação ($mg.L^{-1}$)

A velocidade de oxidação da amônia está relacionada à velocidade específica de crescimento μ pela equação 3.13 (EPA, 1975):

$$q_N = \mu_N / Y_N \quad (3.13)$$

onde:

q_N = velocidade de conversão da oxidação do amônio, g N- NH_4^+ oxidados / g de *Nitrosomonas*, dia^{-1} .

Y_N = fator de conversão de substrato em célula, g de *Nitrosomonas* produzidos / g N- NH_4^+ removidos.

Deve-se levar em conta que "N- NH_4^+ removido" inclui oxidação mais assimilação para formação de biomassa (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).

Em plantas de tratamento de efluentes, o oxigênio é um fator limitante de controle do crescimento das nitrificantes. Logo, a equação 3.12 foi modificada para quantificar o efeito da concentração de oxigênio:

$$\mu = \mu_{max} \frac{[NH_4^+]}{K_s + [NH_4^+]} \frac{[OD]}{K_o + [OD]} \quad (3.14)$$

onde:

[OD] = concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})

K_o = constante de saturação do oxigênio (mg.L^{-1})

A constante de saturação K_o foi estimada estar entre $0.15\text{-}2 \text{ mg.L}^{-1}$, dependendo da temperatura (EPA, 1975). Outros autores reportaram uma faixa de K_o entre $0.25\text{-}1.3 \text{ mg.L}^{-1}$ (BITTON, 1994).

Equações mais complexas expressando a cinética de crescimento levam em conta a concentração do substrato (NH_4^+), tão bem quanto os fatores ambientais como temperatura, pH e oxigênio dissolvido (equação 3.15) (BARNES & BLISS⁵ (1983) apud BITTON, 1994):

$$\mu_n = \mu_{\max} \frac{[\text{NH}_4] - N}{0.4 e^{0.118(T-15)} + [\text{NH}_4^+]} \cdot \frac{\text{OD} \cdot e^{0.095(T-15)}}{1 + \text{OD}} \cdot (1.83) (pH_{\text{opt}} - pH) \quad (3.15)$$

onde:

μ_n = $\bar{\mu}$ de nitrificantes

T = temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

pH_{opt} = pH ótimo = 7.2

μ_{\max} = 0.3 d^{-1}

Segundo BITTON (1994), comparando-se o μ_{\max} de nitrificantes ($0.006 - 0.035 \text{ h}^{-1}$) observa-se que este parâmetro é muito mais baixo do que o μ_{\max} de culturas mistas de heterotróficas usando-se glicose como substrato ($0.18 - 0.38 \text{ h}^{-1}$)

⁵ BARNES, D., BLISS, P.J., (1983). Biological control of nitrogen in wastewater treatment. E.& EN. Spon, London, 146 p.

1). O rendimento celular de nitrificantes é, também, mais baixo do que dos microrganismos heterotróficos. O máximo rendimento celular para as *Nitrosomonas* é cerca de 0.29 enquanto que o rendimento celular das *Nitrobacter* é muito mais baixo, em torno de 0.08. Entretanto, valores experimentais de rendimento celular, são muito mais baixos, e variam de 0.04 a 0.13 para *Nitrosomonas* e de 0.02 a 0.07 para *Nitrobacter*. Conseqüentemente, em ambientes nitrificantes, as *Nitrosomonas* estão presentes em maior número do que as *Nitrobacter*. Estes rendimentos relativamente baixos têm muitas implicações na nitrificação em plantas de tratamento de efluentes. A constante de saturação (K_s) para a energia do substrato está entre 0.05 - 5.6 mg.L⁻¹ para *Nitrosomonas* e 0.06 - 8.4 mg.L⁻¹ para *Nitrobacter*.

3.3.4 . Fatores Ambientais Influentes na Nitrificação

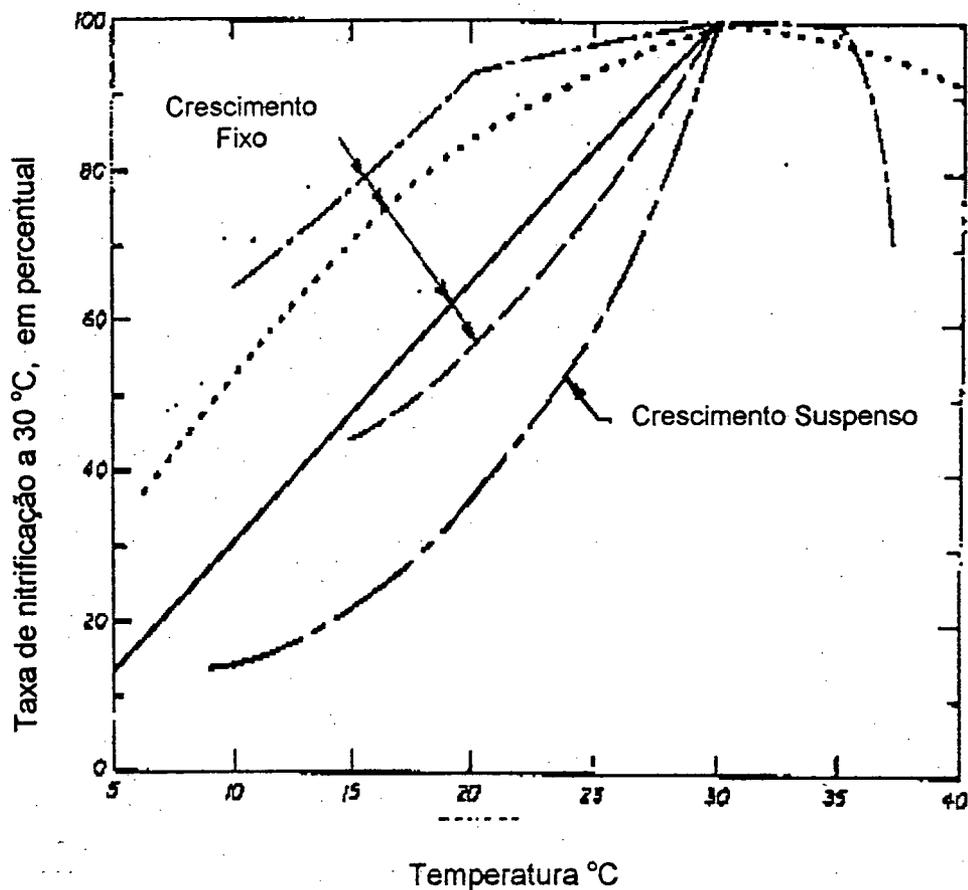
Fatores como: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, substâncias tóxicas ou inibidoras influenciam a velocidade de crescimento dos organismos nitrificantes e, como conseqüência, a velocidade de oxidação da amônia. Esses fatores serão discutidos a seguir.

a) *Temperatura*

Segundo ARCEIVALA⁶ (1981); BARNES & BLISS⁵ (1983) apud von SPERLING (1997), foi observada a ocorrência de nitrificação numa faixa de 5 a 50 °C, porém a temperatura ótima encontra-se na faixa de 25 a 36 °C. Em conformidade com o fato acima, WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (1991) afirma que o problema em se quantificar o efeito da temperatura nas velocidades de nitrificação é muito difícil, dado a larga variação de observações encontradas na literatura.

⁶ ARCEIVALA, S.J. (1981). Wastewater treatment and disposal. Marcel Dekker, New York. 892p.

A Figura 3.6 mostra a influência da temperatura na atividade dos microrganismos nitrificantes segundo dados de diversos autores.



Simbologia:

- — — — Buswell ⁷, et al., (1954)
- Haug & McCarty ⁸, (1971)
- — — — Balakrishnan ⁹ et al., (1969)
- Huang & Hopson ¹⁰, (1974)
- — — — Downing ¹¹ et al., (1966)

Figura 3.6 - Comparação do efeito da temperatura na nitrificação em sistemas de crescimento suspenso e fixo (EPA, 1975).

Experimentos realizados por GUTERSTAM et al. (1998) utilizando biofiltros cujo enchimento era constituído por plástico em diferentes formatos (cones, círculos com diâmetro entre 40 e 50 mm), relata queda de mais de 80% na eficiência de nitrificação entre os meses de verão e inverno. O autor atribui as baixas velocidades de nitrificação, provavelmente à queda de temperatura, onde no inverno, a temperatura média diminuía para menos de 15 °C.

Por outro lado, SHEINTUCH et al. (1995), em experimento utilizando um sistema de lodos ativados com uma concentração de $N-NH_4^+$ afluente de 100 mg.L⁻¹ conseguiu uma eficiência de nitrificação de quase 100% em um tempo de residência entre 2 e 4h, trabalhando à uma temperatura de 18 °C.

GRUNDITZ et al. (2001) através de testes utilizando culturas puras, realizados em tubos de ensaio, observou o efeito da temperatura em relação à atividade das *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* separadamente. A faixa de temperatura testada foi entre 0 e 50 °C, e a melhor atividade obtida para as *Nitrosomonas* foi à temperatura de 35 °C, enquanto que para as *Nitrobacter* foi de 38 °C.

PELISSER (2001), utilizando reator nitrificante de fluxo ascendente contínuo com aeração submersa, comenta que, devido à uma queda de temperatura de 27 para 18 °C (variação entre verão e inverno), houve uma queda na eficiência de nitrificação de 30%.

b) pH

A velocidade de nitrificação apresenta sua faixa ótima e aproximadamente constante em valores de pH entre 7.2 a 8.0. (DOWNING e KNOWLES¹¹ (1978) apud von SPERLING, 1997).

⁷ BUSWELL, A.H., SHIOTA, T.; LAWRENCE, N.; AND I. VAN METER. (1954). Laboratory Studies on the kinetics of the Growth of *Nitrosomonas* with relation to the Nitrification Phase of the BOD test. *Applied Microbiology*, n. 2, p. 21-25.

⁸ HAUG, R.T.; and McCARTY, P.L. *Nitrification with the submerged filter*. Report prepared by the Department of civil Engineering, Stanford University for the Environmental Protection Agency, Research Grant N. 17010 EPM, August, 1971.

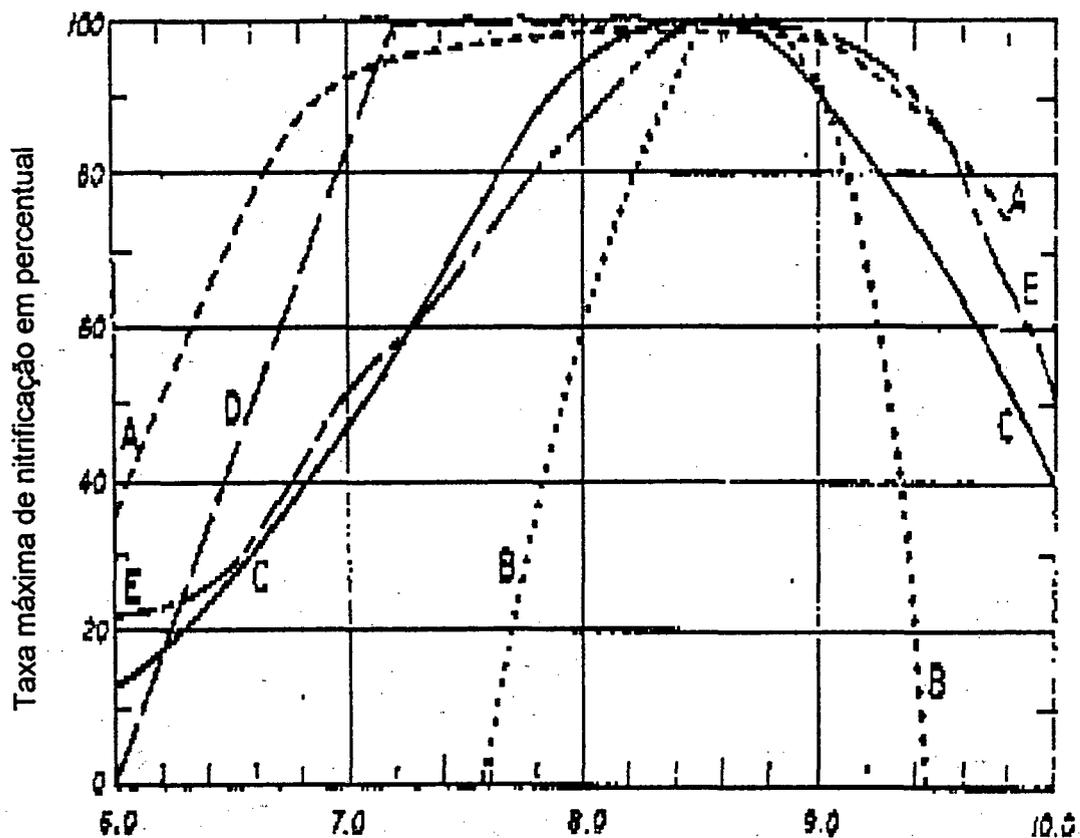
⁹ BALAKRISHNAN, S. & ECKENFELDER, W.W. (1969). Nitrogen relationships in biological waste treatment processes - I. Nitrification in the activated sludge process. *Water Research*. n. 3, p. 73-81.

Segundo EPA (1975), o pH ótimo para *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* varia entre 7.5 e 8.5. Em revisão de literatura realizada por BITTON (1994), consta que a nitrificação cessa em pH 6.0 ou abaixo deste.

WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (1991), comenta que têm havido muitas tentativas para se quantificar o efeito do pH sobre as velocidades de nitrificação. Entretanto, a variabilidade nos resultados experimentais fazem estas quantificações questionáveis. É conveniente, então, levar em consideração que a eficiência da nitrificação cai rapidamente quando o pH é reduzido. Entretanto, a nitrificação não parece ser severamente afetada para valores de pH acima de 9.5. É aconselhável, manter o pH próximo à faixa básica da neutralidade (7.2). WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION informa, ainda, que as considerações acima feitas sobre pH são importantes devido ao consumo de alcalinidade na nitrificação. Se a alcalinidade do bicarbonato após a oxidação da amônia permanecer menor do que 50 mg.L^{-1} (como CaCO_3), será necessário fornecer alcalinidade ao meio, pois se a mesma não for adequada para tamponar o sistema, o pH cairá e a nitrificação será inibida. A Figura 3.7, apresenta a atividade dos bactérias nitrificantes em função do pH.

¹⁰ HUANG C.S. (1974). Temperature and pH effect on the biological nitrification process. *New York Water Pollution Control Association*.

¹¹ DOWNING, A.L. and KNOWLES G. (1966). *Population Dynamics in Biological treatment Plants Presented at the 3 rd Conference of the IAWPR, Munich.*



SÍMBOLO	AMBIENTE	REFERÊNCIA
A	Nitrosomonas - Cultura pura	Engle and Alexander
B	Nitrosomonas - Cultura pura	Myerhof
C	Lodo ativado a 20 °C	Sawyer
D	Lodo ativado a 20 °C	Downing et al.
E	Reator de crescimento fixado a 22°C	Huang and Hopson

Figura 3.7 - Efeito do pH sobre a velocidade de nitrificação (EPA, 1975)

c) *Oxigênio Dissolvido*

A maioria dos autores recomenda que a concentração de OD não deve ser menor do que dois mg.L⁻¹, pois a demanda de oxigênio na nitrificação é bastante elevada, haja vista que, para cada um mg de N-NH₄⁺ oxidados a nitrato, são consumidos 4,57 mg de O₂.

von SPERLING (1997), citando dados da literatura comenta que a concentração de OD crítica, abaixo da qual a nitrificação não se processa, encontra-se em torno de 0,2 mg.L⁻¹. Portanto, recomenda-se que a concentração de OD no reator não se reduza a menos do que 0,5 mg.L⁻¹, o que, segundo EPA (1975), nesses níveis, há um acúmulo de nitrito, pois as nitrobacter são mais sensíveis a baixas concentrações de O₂, enquanto que, com as nitrosomonas, há um aumento em sua velocidade de crescimento.

d) *Inibidores*

As bactérias nitrificantes estão sujeitas a inibição de produtos e substratos e são também bastante sensíveis a vários compostos tóxicos encontrados em efluentes. Aparentemente alguns desses compostos são mais tóxicos para *Nitrosomonas* do que para *Nitrobacter* (BITTON, 1994).

Segundo AZEVEDO (1993), o metanol é, possivelmente, um agente inibidor da nitrificação, presume-se que o mesmo promova competição com heterotróficas pelo oxigênio, ou mesmo pela toxicidade do metanol para as nitrosomonas.

GRUNDITZ et al. (1998), realizou testes de nitrificação, onde o zinco causou inibição em torno de vinte e quatro a trinta por cento para os ensaios de oxidação de amônia e nitrito. Outros metais, como cobre e níquel, também causaram inibição nos ensaios com culturas puras. Porém, a mesma concluiu que para lodos provenientes de diversas plantas de tratamento de lodos ativados, que os mesmos poderiam se adaptar aos compostos tóxicos do afluente. Os autores,

encontraram ainda, que, os três tipos de indústrias cujos efluentes causaram altos níveis de inibição para a nitrificação foram as de polimento de metais, lavagem de carros e indústrias de impressão gráfica. Consta em EPA (1975), que metais pesados como cobre, zinco, mercúrio, níquel e cromo são tóxicos e inibem a nitrificação sendo tolerados em concentrações abaixo de vinte mg.L⁻¹.

De acordo com HOROWITZ (2001), alguns tipos de polímeros de poliuretano que foram utilizados como meio sólido para suporte em biofiltros tornaram-se tóxicos para as bactérias nitrificantes, inibindo sua atividades.

Um fato interessante citado na literatura, é que o acúmulo de nitrito durante o processo de nitrificação pode ser devido à inibição da oxidação do nitrito causada pela amônia livre, devido a *Nitrobacter* apresentar uma maior sensibilidade a tal composto.

KONG et al (1996), encontrou que 3,5-diclorofenol e cianeto são substâncias tóxicas para as bactérias nitrificantes. EPA (1975), cita ainda como substâncias tóxicas, além do cianeto: tiaminas e fenol. HAGOPIAN & RILEY (1998), também citam compostos como nitrapirina, aliltiouréia, azida de sódio, dietil-ditiocarbamato, acetileno, ácido nitroso e clorato de sódio. Consta que as bactérias nitrificantes podem ter suas atividades inibidas por ação da luminosidade.

3.3.5 . Relação So/Xo

Segundo revisão bibliográfica realizada por MORENO et al. (1998), constatou-se que os resultados dos testes de biodegradação poderiam variar de acordo com a metodologia seguida. As variáveis mais importantes, as quais exercem influência sobre os resultados são: a atividade inicial dos microrganismos, a composição do meio e a relação concentração inicial do substrato por concentração inicial da biomassa, So/Xo. O papel desta relação, já está bem entendido para os processos aeróbicos. Alguns autores concluíram que a relação So/Xo é o fator de maior importância em experimentos em batelada.

Outros observaram que a cinética de consumo do substrato depende da relação S_0/X_0 inicial.

LIU (2000), relata que, recentemente, foi demonstrado, tanto em experimentos teóricos como em experimentos práticos, que a relação S_0/X_0 determinou o comportamento metabólico dos microrganismos, e que para altas relações S_0/X_0 , o catabolismo se dissocia seriamente do anabolismo, indicando que tal relação poderia regular as rotas metabólicas dos microrganismos sob condições suficientes de substrato, e obviamente tais rotas poderiam determinar a distribuição do carbono orgânico dissolvido.

3.4 . PROCESSOS UTILIZADOS PARA A NITRIFICAÇÃO

Segundo DURAN (1999), os processos de nitrificação podem ser classificados de acordo com o grau que existe entre a remoção de carbono e a oxidação do íon amônio a nitrato. Neste caso, pode-se diferenciar entre tratamentos de etapa única (processos combinados) e de etapas separadas (processos diferenciados). Por outro lado, pode-se distinguir entre processos de cultivo suspenso e de película fixa.

3.4.1 . Sistemas de Cultivo Suspenso

São processos nos quais os microrganismos nitrificantes estão suspensos no líquido por algum mecanismo de agitação. Existem diversas variações do sistema combinando remoção de carbono e nitrificação, são elas: Modificação de Mistura Completa do Processo de Lodos Ativados. Plantas de Aeração Extendida, Convencional ou Plantas de Fluxo Tampão, Plantas de Estabilização por Contato, Plantas de Aeração Escalonada (step aeration):, Sistema de Aeração Orbital (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).

a) Reatores de Cultivo Suspenso em Estágios Separados

A nitrificação em reatores de cultivo suspenso pode acontecer em estágios separados, neste caso é feito um pré-tratamento para remoção de carbono. Os métodos de pré-tratamento incluem: tratamento químico, lodos ativados, filtros *roughing*, filtros *trickling* ou contactores rotatórios seguidos de clarificação (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).

3.4.2 . Sistemas de Cultivo Fixo

Nestes sistemas a biomassa é fixada ao meio suporte sólido contido dentro de um reator. Uma vantagem destes sistemas é que não há necessidade de recircular o lodo para manter a biomassa necessária ao tratamento, devido a que, a mesma está aderida ao suporte sólido no reator. Exemplos de sistemas de cultivo fixo são os filtros *trickling*, contactores biológicos rotatórios, reatores de leito empacotado (packed) e leito fluidizado (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, 1991).

3.5 . NITRIFICAÇÃO DE EFLUENTES CONTENDO ALTOS TEORES DE AMÔNIA

Efluentes contendo altas concentrações de amônia e baixa DBO podem ser tratados por nitrificação biológica. GUPTA & SHARMA (1996) utilizando um sistema tipo lodos ativados de mistura completa, aclimataram o lodo a concentrações de nitrogênio (orgânico e amoniacal) de 500 para 1000 mg.L⁻¹ em um período de 30 dias. O pH foi mantido entre 7.5 e 8.0, o tempo de retenção hidráulica foi de 2d, o tempo de retenção de sólidos (TRS) variou entre 10 a 62.5 dias, a relação C:N entre 1.0-1.5 e o SSV entre 3500 - 4000. A nitrificação alcançou, mesmo com diferentes TRS, eficiências entre 87 a 99%, sendo que os valores ótimos de TRS e TRH foram 30 dias e 2 dias respectivamente, para se

obter a nitrificação de altas concentrações de efluentes nitrogenados contendo NTK de 1016 - 1062 mg N.L⁻¹.

NOTO et al. (1998) realizou testes em um sistema composto de três reatores de igual volume utilizados para oxidar efluente sintético inorgânico contendo 500 mg.L⁻¹ de N-NH₄. Este sistema foi inoculado com grânulos de lodo ativado de polietileno glicol. O efluente foi adicionado ao primeiro reator e cerca da metade do NH₄-N fornecido foi oxidado no primeiro compartimento e a outra metade foi oxidada no segundo compartimento. A oxidação do nitrito não foi significativamente detectada nos dois primeiros compartimentos, o que só aconteceu no terceiro. Neste caso, a estabilização do sistema e a quase completa oxidação da amônia a nitrato foi conseguida por volta de 150 dias. Os resultados sugerem que estes processos de nitrificação podem ser incompatíveis, resultando em uma série de reações sequenciais no sistema 3V. Acredita-se que diferentes populações nitrificantes vieram a predominar em cada compartimento pela separação dos vasilhames.

TOKUDA et al. (1999), utilizou um sistema tipo lodos ativados, onde o tanque de nitrificação continha uma concentração de microrganismos entre 5000-6000 mg.L⁻¹, a temperatura mantida em 37 °C, o pH em torno de 7, e aeração de 120 L.m⁻³min⁻¹. Apesar da grande flutuação na velocidade de carga de N-NH₄⁺, mais de 95% do N-NH₄⁺ contido no afluente foi convertido em nitrato à uma taxa de 0,3 Kg.m⁻³d⁻¹.

3.6 . ENSAIOS EM BATELADA ALIMENTADA

Os ensaios em batelada são utilizados freqüentemente para determinar os parâmetros cinéticos de crescimento microbiano e remoção de substrato (LIU, 2000), como também para avaliação do efeito de bio-inibição. Diversos protocolos foram desenvolvidos para este propósito, por ex: o Reator em Batelada

Alimentada de PHILBROOK E GRADY¹² (1985) e WATKIN E ECKENFELDER¹³ (1986) apud ECKENFELDER & MUSTERMANN (1994), o método 209 OECD de VOLSKAY e GRADY¹⁴ (1988) apud ECKENFELDER & MUSTERMANN (1994), e o Teste de Inibição de Glicose de LARSON e SCHAEFFER¹⁵ apud ECKENFELDER & MUSTERMANN (1994). Dependendo do efluente em particular, um ou mais destes protocolos testes serão aplicados (ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1994).

O Método 209 OECD envolve medições da velocidade de consumo de oxigênio em lodos ativados de um substrato sintético adicionado em várias concentrações. Tal protocolo é recomendado para efluentes contendo altas concentrações de compostos orgânicos voláteis. O Teste de Inibição de Glicose, consiste em um teste para medição rápida de toxicidade desenvolvido por Larson e Schaeffer, e baseia-se na inibição do consumo de glicose pelo lodo ativado na presença de substâncias tóxicas (ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1994).

O Reator em Batelada Alimentada (RBA) tem sido utilizado para determinar a cinética de nitrificação e a cinética de remoção de substâncias poluentes em lodos ativados. As características essenciais do procedimento RBA são: (1) introdução contínua do substrato em uma concentração suficientemente alta e baixa velocidade de fluxo, de modo que o volume do reator não seja modificado significativamente durante o teste; (2) a velocidade de alimentação excede a velocidade máxima de utilização do substrato; (3) a duração do teste é curta, permitindo, assim, a modelagem simples do crescimento biológico; (4) utilização de lodo ativado aclimatado (ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1994).

O procedimento RBA pode ser descrito simplificadaamente: Dois litros de suspensão são introduzidos no reator, e uma amostra é tomada para determinação da velocidade de utilização do oxigênio (VUO) e sólidos suspensos

¹² Philbrook, D.M. and C.P. Grady. 1985. "Evaluation of Biodegradation Kinetics for Priority Pollutants", Proc. 40th Industrial waste conference, Purdue University.

¹³ Watkin, A. and W.W. Eckenfelder. 1988. "A Technique to Determine Un-steady State Inhibition in the Activated Sludge Process", *Water Science Technology*, 21:593-602.

¹⁴ Volskay, V.T. and P.L. Grady. 1988. "Toxicity of Selected RCRA Compounds to Activated Sludge Microorganisms", *J. Water Pollution Control Federation*, 60:10, 1850.

¹⁵ Larson, R.J. and S.L. Schaeffer, 1982. "A Rapid Method for Determining the Toxicity of Chemicals to Activated Sludge". *Water Research*, 16:675.

totais e voláteis na suspensão antes de se iniciar a alimentação do reator. Tal alimentação é introduzida a uma velocidade de fluxo de 100 mL.h^{-1} , e as alíquotas são retiradas do reator a cada 20 min. O teste tem duração de 3h. A VUO é determinada "in situ" a cada 30 min. durante o teste. As determinações de sólidos suspensos são realizadas a cada hora (ECKENFELDER & MUSTERMANN, 1994).

Uma norma padrão internacional, específica para ensaios de nitrificação, é a ISO 9509 "*Water quality - Method for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge micro-organisms by chemicals and waste waters*", que especifica um método para determinar efeitos inibitórios de determinadas substâncias sobre as bactérias nitrificantes em lodos ativados. Tal norma especifica a temperatura dos testes entre 20 e 25 °C, o tempo de duração de 4h, velocidade de nitrificação específica do lodo utilizado no teste entre 2 a 6,5 mg de N/gSSV.h, meio contendo bicarbonato de sódio e sulfato de amônio, e como inibidor alifliouréia.

4 . MATERIAL E MÉTODOS

4.1 . Sistemas

O sistema inicialmente utilizado (Sistema 1) para realização dos testes de nitrificação, consistia em um reator de vidro transparente, envolvido por mangueira de silicone, por onde circulava água aquecida, impulsionada através de uma pequena bomba centrífuga (bomba de aquário), com a finalidade de manter o líquido no reator a uma temperatura constante de 30 °C. A Figura 4.1 apresenta um desenho esquemático do sistema utilizado. A agitação do líquido era feita através de um agitador magnético, e a aeração, feita com ar comprimido (Fig. 4.1). Normalmente eram utilizados, de acordo com o sistema 1, três reatores a cada teste de atividade nitrificante realizado, onde o controle da quantidade de ar utilizada em cada reator era feita através de um rotâmetro conectado à linha de entrada da aeração, o ar era então difundido igualmente para todos os reatores através de pequenos tubos dotados de um regulador de vazão, conectados em paralelo.

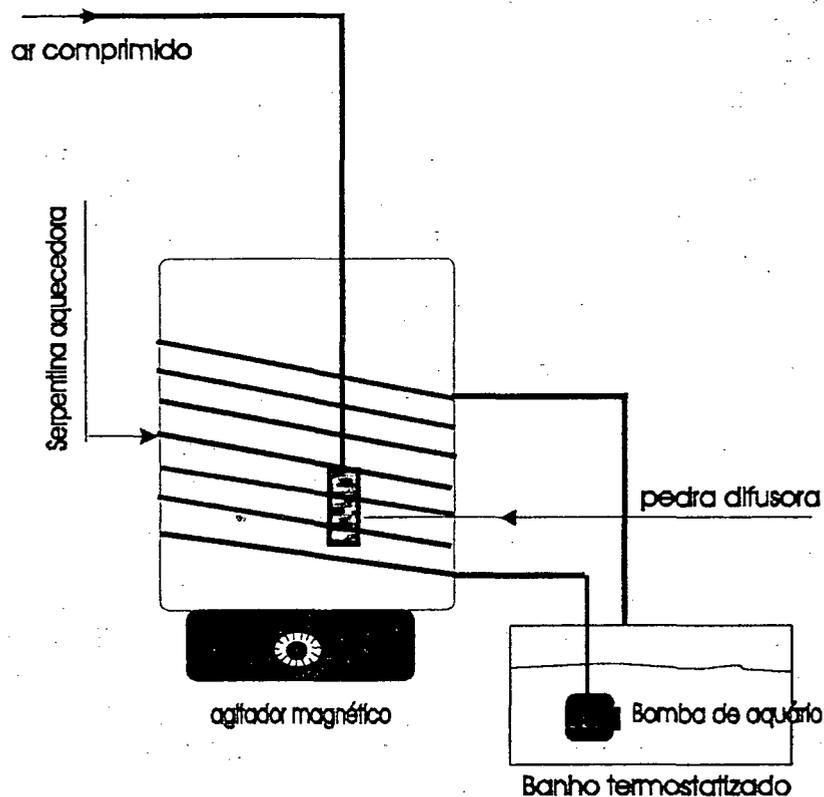


Figura 4.1 - Sistema 1 - com reator em vidro para testes de nitrificação

Não foi, entretanto, realizado teste com bolhômetro para fazer-se a calibração exata da vazão de ar, em cada duto, expressando-se, então, a vazão de ar entre uma faixa variando entre 2-3 L.min⁻¹. O Sistema 1 foi utilizado apenas para realização dos ensaios citados no item 4.4 (a); porém, após estes ensaios, verificou-se que este sistema poderia ser melhorado. Confeccionou-se, então, um novo sistema (Sistema 2) para testes de atividade, onde o reator consistia de uma garrafa em PET de volume 2 litros, com duas perfurações na tampa; sendo uma delas para entrada de uma mangueira com pedra difusora (facilmente conseguida em lojas de aquários) conectada à extremidade, afim de melhorar a distribuição da aeração no líquido, e outra para a saída do ar; e também, uma perfuração na parte inferior, com uma mangueira conectada à uma seringa para retirada de amostras e adição de reagentes à suspensão, conforme apresentado na Figura 4.2.

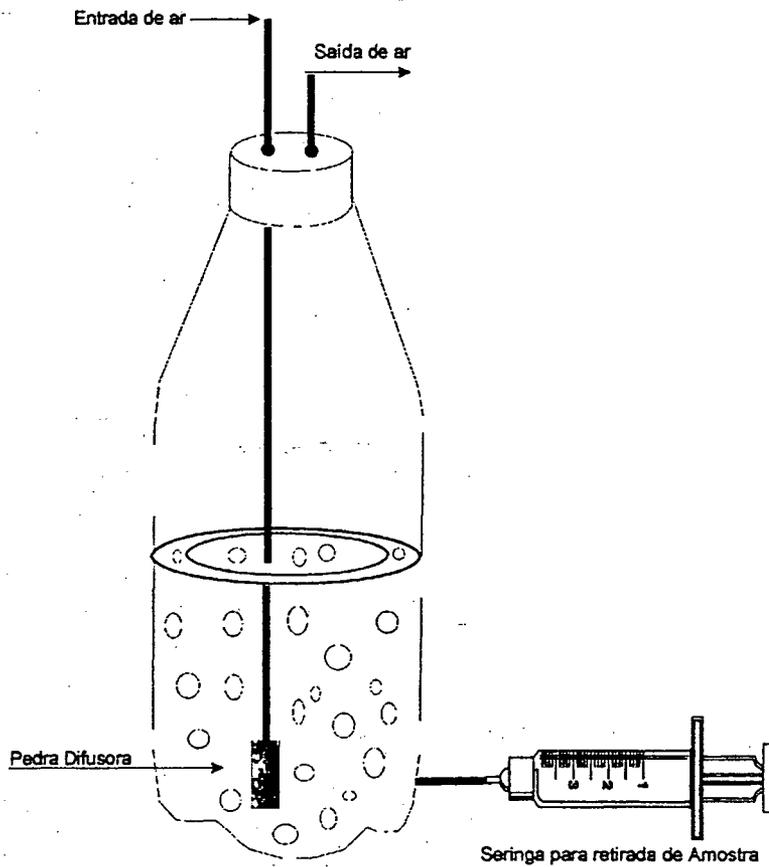


Figura 4.2 - Detalhe do reator confeccionado em garrafa em PET de 2L.

Os reatores eram, então, encaixados em um banho-maria com agitação e temperatura controlados, e a aeração realizada com ar comprimido e controlada por rotâmetro (Figura 4.3).

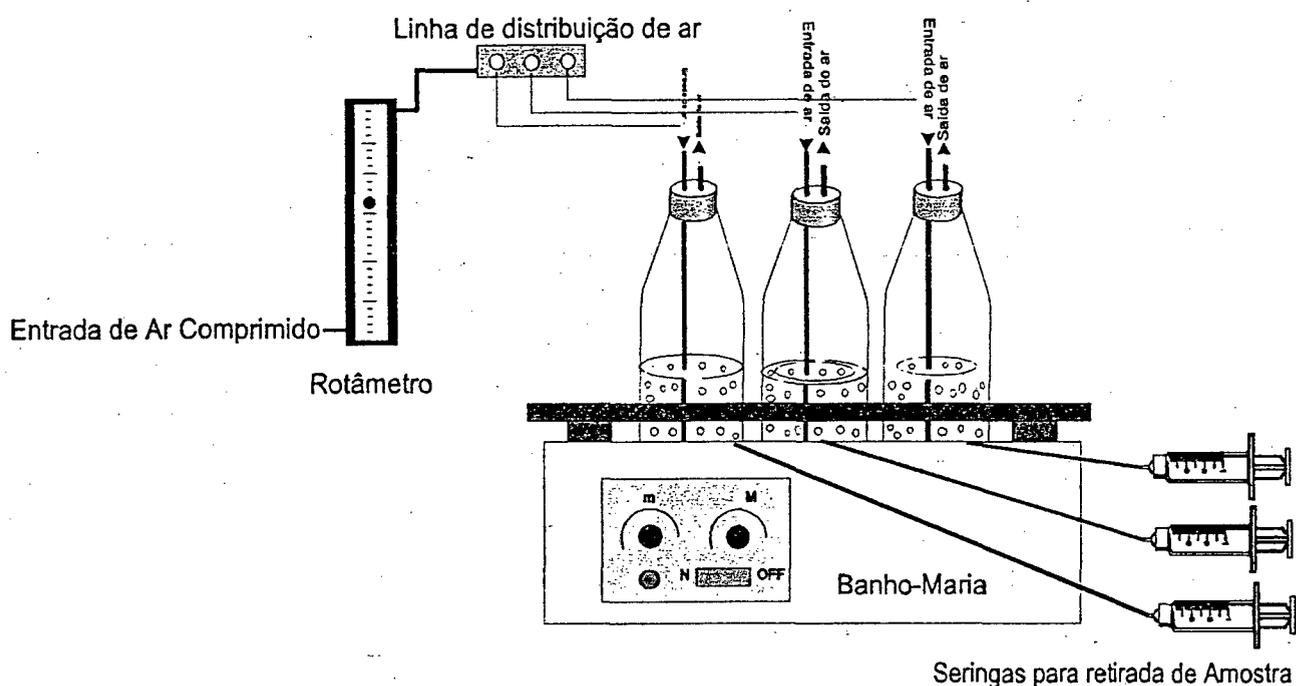


Figura 4.3 - Sistema 2 - para testes de nitrificação utilizando-se reatores de PET mantidos à temperatura de trinta °C em banho-maria.

A vantagem do novo sistema, é que, fatores como controle de temperatura, aeração, agitação e facilidade e uniformização na retirada de amostras, foram sensivelmente melhorados, além do que, utilizando-se este novo sistema, dispensou-se o uso do banho termostaticado, da bomba centrífuga, das serpentinas de aquecimento, e do agitador magnético, havendo ainda a vantagem de se poder realizar uma maior quantidade de testes (até 15 testes) de uma só vez.

4.2 . Microrganismos

4.2.1 . Lodo CASAN

O lodo foi coletado do tanque de aeração de lodos ativados da estação de tratamento de esgotos da CASAN (Companhia de Águas e Saneamento), localizada no município de Florianópolis. O mesmo era deixado sob fraca aeração (feita com ar comprimido) durante uma noite completa, para acondicionamento dos microrganismos e completa oxidação do amônio residual antes do início dos testes. Vale ressaltar que sempre foi utilizado o lodo fresco, nunca estocado em refrigerador, para se obter condições mais uniformes dos microrganismos utilizados em diferentes testes.

4.2.2 . Aclimação do Lodo

O lodo aclimatado consistiu em uma amostra inicial de 1,8 L contendo 2,5 g SSV.L⁻¹, tomada do lodo CASAN, colocada em um reator, cujo volume total é de 2,4 L, adicionado de nutrientes, de acordo com a formulação inicial apresentada na Tabela 4.1. O reator, apresentado na Figura 4.4, foi alimentado em sistema de batelada, onde, diariamente eram retirados 0,45 L da suspensão contida no mesmo, e alimentando-o com meio sintético. O esquema de alimentação do reator é apresentado na Tabela 4.2, onde, a partir do 60º dia, o mesmo passou a ser alimentado com efluente proveniente do sistema de tratamento de águas residuárias da Sadia S/A (Lagoa 2), Unidade Concórdia. Este efluente era diluído para a mesma concentração do meio sintético (23,3 mg N-NH₄⁺), e aumentando-se progressivamente a carga de N-NH₄⁺. O lodo foi recirculado a uma taxa de 100 % e o processo acompanhado pela determinação periódica de concentração de nitratos, nitritos e amônio (NO₃-N NO₂-N, NH₄-N).

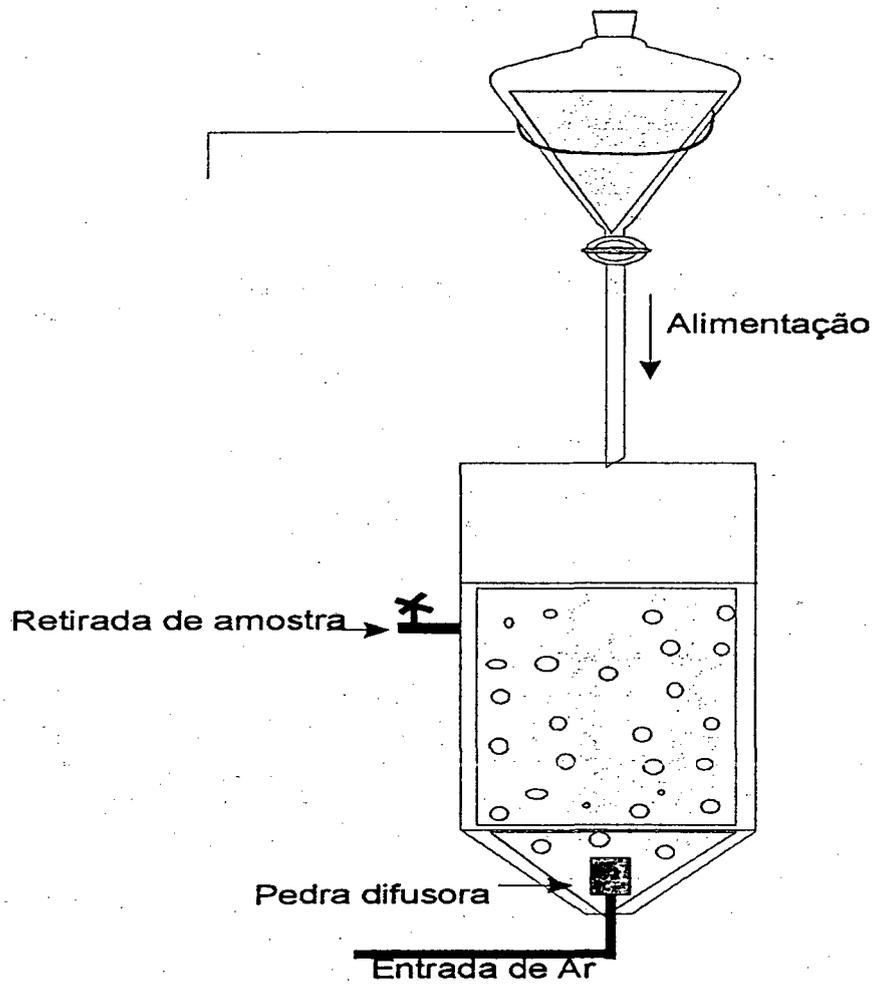


Figura 4.4 - Esquema do reator utilizado para aclimação dos microrganismos.

Tabela 4.1 - Formulação inicial do Inóculo

PARÂMETRO	UNIDADES	QUANTIDADE
Sólidos Suspensos Voláteis	mg.L ⁻¹	2500
Solução de macro-nutrientes (para um volume final de 1,8 L)	ml	2,25
Solução de micro-nutrientes (para um volume final de 1,8 L)	ml	3,6
Bicarbonato de Sódio (mg de NaHCO ₃)	mg	203
Cloreto de Amônio (N-NH ₄ Cl)	mg	23,3

Tabela 4.2 - programa de alimentação do reator de nitrificação

Período (dias)	Substrato	Diluição do efluente	Carga (mgNH ₄ -N.L ⁻¹)
1 - 60	efl. sintético	—	23,3
60 - 75	efl. Sadia	0,15:1	23,3
75 - 80	"	0,30:1	40,0
80 - 85	"	0,40:1	60,0
85 - 90	"	0,50:1	75,0
90 - 95	"	0,60:1	90,0
95 - 100	"	0,80:1	120,0
100 - 120	"	Sem diluição	170,0

4.3 . Substratos Utilizados Durante os Testes

Foram realizados testes com efluente sintético e com efluente proveniente da lagoa da estação de tratamento de águas residuárias da Sadia S/A unidade Concórdia (Lagoa 2), onde, após coleta, o efluente natural foi mantido em torno de 5 °C. As Tabelas 4.3 e 4.4 apresentam a composição química das soluções de macro e micro-nutrientes utilizadas e a Tabela 4.5 apresenta a formulação do efluente sintético de acordo com SOARES & HIRATA (1999). A Tabela 4.6

apresenta as características físico-químicas do efluente proveniente da Lagoa 2 da Sadia S/A..

Tabela 4.3 - Composição química da solução de macro-nutrientes

NUTRIENTE	CONCENTRAÇÃO (g/L)
KH_2PO_4	37
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	11,5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8

Fonte: SOARES & HIRATA (1999)

Tabela 4.4 - Composição química da solução de micro-nutrientes

NUTRIENTE	CONCENTRAÇÃO ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
$\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2000
CoCl_2	1088
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	38
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	106
H_3BO_3	50
$(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	90
$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	100
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	50
EDTA	1000
HCl 36%	1
Resazurina	500

Fonte: SOARES & HIRATA (1999)

Tabela 4.5 - Composição do efluente sintético

SUBSTÂNCIA	QUANTIDADE (para o volume final de 1L)
Solução de macro-nutrientes	1,25 ml
Solução de micro-nutrientes	2,0 ml
Carbonato de cálcio (mg de CaCO_3) estequiometricamente calculado ($7,1 \text{ mg. mg}^{-1}\text{N}$ - ou Bicarbonato de Sódio (mg de NH_4 , dependendo da concentração N-NH_4^+ . NaHCO_3)	
Cloreto de Amônio (mg de NH_4Cl)	em quantidade suficiente para obter-se a concentração desejada

Fonte: SOARES & HIRATA (1999).

Tabela 4.6 - Características físicoquímicas do efluente da Sadia

PARÂMETRO	VALOR
pH	7,03
ALCALINIDADE (mg.L^{-1} de CaCO_3)	1563,0
DQO (mg.L^{-1})	250
N-NH_4^+ (mg.L^{-1})	170,0
N-NO_2^- (mg.L^{-1})	0,08
N-NO_3^- (mg.L^{-1})	7,3

O carbonato de cálcio foi utilizado inicialmente nos testes com efluente sintético, servindo como fonte de carbono e alcalinidade para as bactérias nitrificantes. O fato de ter-se optado por se utilizar o carbonato de cálcio foi devido a este ter um custo menor e poder alcalinizante maior do que o bicarbonato de sódio, adicionando-o aos poucos para manter-se o pH em 7.5, porém, ao ser necessário fechar os reatores de acordo com o sistema mostrado na Figura 4.3, para se medir o "*stripping* da amônia", não sendo possível abrir os mesmos a fim de se ajustar o pH. Foram então realizados testes, com o objetivo de se acompanhar o comportamento do pH, durante 6 horas (tempo de duração dos testes), com os reagentes: carbonato e bicarbonato de sódio, utilizando-se as quantidades estequiometricamente previstas para ambos os casos: 7,1 mg de CaCO_3 e 8,7 mg de NaHCO_3 para cada um mg de N-NH_4^+ .

4.4 . Testes Realizados

a) Testes de nitrificação utilizando-se diferentes relações S_o/X_o , mantendo-se S_o constante e variando-se X_o

Este teste teve como objetivo verificar, entre as relações testadas, para qual delas havia uma melhor resposta na atividade dos microrganismos. Foi utilizado o lodo CASAN e efluente sintético. O S_o foi mantido constante (30 mg de NH_4^+ ou 23 mg.L^{-1} de N-NH_4^+) e as relações S_o/X_o e os respectivos X_o (mg.L^{-1} de SSV) testados são apresentadas na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Valores de X_o e relação S_o/X_o .

X_o (mg.L ⁻¹ de SSV)	S_o/X_o
1500	0,0200
2000	0,0150
2500	0,0100
3000	0,0075
4000	0,0060
5000	0,0050
6000	0,0030

Estes testes foram realizados como descrito mais adiante no item 4.5, de acordo com o sistema mostrado na Figura 4.1, onde, neste caso, como descrito anteriormente, o pH foi constantemente medido e ajustado em 7.5 através da adição de carbonato de cálcio. Ao final dos ensaios, mediu-se a quantidade de carbonato de cálcio utilizada em cada reator.

b) Testes para verificação do comportamento do pH

Os testes foram realizados utilizando-se carbonato de cálcio e bicarbonato de sódio. O objetivo deste teste, como mencionado anteriormente no item 4.3, era acompanhar a variação do pH da suspensão no teste de nitrificação durante as 6h do teste, determinando-se, assim, a quantidade ótima de $CaCO_3$ ou $NaHCO_3$ que deveria ser utilizada, para que, posteriormente, ao se trabalhar com o reator fechado, afim de se medir a perda de amônia, não podendo-se abri-lo para correções do pH, este se mantivesse dentro da faixa ótima da nitrificação durante as 6 horas de reação.

Descrição dos testes:

Os testes foram conduzidos como o teste de nitrificação descrito mais adiante no item 4.5, sendo que a relação S_o/X_o utilizada foi de 0,0150 e o volume final completado para 1 L.

Foram medidos, então, os seguintes parâmetros:

alcalinidade do lodo = 40 mg.L^{-1} de CaCO_3

acidez do lodo = $9,68 \text{ mg.L}^{-1}$ de CaCO_3

pH do lodo = 6,3

pH do efluente sintético = 4,0

pH da suspensão (meio + lodo) = 5,9

Foram realizados os seguintes procedimentos:

Procedimento 1 - ajustou-se o pH da suspensão para 7.0 com solução de NaOH, e logo depois adicionou-se 0,165 g de CaCO_3 , este valor (0,165 g) foi calculado teoricamente, e corresponde à alcalinidade necessária para a oxidação de 23,33 mg de N-NH_4^+ aplicados inicialmente.

Procedimento 2 - ajustou-se o pH da suspensão para 7.0 com solução de NaOH, adicionou-se, posteriormente, 0,097 g de CaCO_3 , calculado teoricamente, o qual corresponde à alcalinidade necessária para a oxidação de 13,68 mg de N-NH_4^+ , valor este, referente à quantidade de amônio oxidada durante 6h, o qual foi obtido no teste de nitrificação como descrito no item 4.4(a) para a mesma relação (0,0150).

Procedimento 3 - adicionou-se diretamente 1,16 g de CaCO_3 (valor obtido experimentalmente através do teste descrito anteriormente no item 4.4(a) a suspensão sem prévio ajuste do pH.

Procedimento 4 - apenas ajustou-se o pH da suspensão para 7.5, sendo necessário para este fim, 0,071 g de CaCO_3 .

Procedimento 5 - adicionou-se diretamente 0,097 g de CaCO_3 (calculado teoricamente) sem prévio ajuste do pH.

Procedimento 6 - adicionou-se diretamente 0,165 g de CaCO_3 (calculado teoricamente) sem prévio ajuste do pH.

Procedimento 7 - ajustou-se o pH em 7,0 com NaOH, e posteriormente adicionou-se 0,165 g de CaCO_3 (cálculo teórico).

Procedimento 8 - ajustou-se o pH em 7,0 com NaOH e posteriormente adicionou-se 0,203 g de NaHCO₃ (cálculo teórico).

c) **Teste de nitrificação variando-se a relação So/Xo, mantendo-se Xo constante**

Durante este teste foi realizada também a medição da quantidade de amônia perdida por "*stripping*", assim como, medição da atividade dos microrganismos, variando-se a relação So/Xo, mantendo-se Xo constante (2000 mg SSV/L) e variando-se So, utilizando-se o lodo CASAN e efluente sintético.

As concentrações de N-NH₄⁺ inicialmente aplicadas e respectivas relações So/Xo são apresentadas na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Valores de So e relação So/Xo.

So (mg.L ⁻¹ de N-NH ₄ ⁺)	So/Xo
23	0,0150
40	0,0257
60	0,0386
80	0,0514
100	0,0643
150	0,0964

Para realização deste teste, foi necessário fechar-se o reator, afim de que, todo o ar que entrasse no mesmo, ao sair, passasse por um tubo cilíndrico. Neste caso, foi utilizada uma proveta com capacidade para 100 ml, contendo 50 ml de solução de ácido clorídrico 0,01N (padronizado). A proveta, contendo o ácido, estava inserida em uma caixa de isopor contendo pedras de gelo, afim de reduzir a temperatura do líquido e assim aumentar a solubilidade do gás no mesmo. Uma pedra difusora, conectada ao final da mangueira por onde saía o

ar, tinha o objetivo de diminuir o tamanho das bolhas, e conseqüentemente, aumentar-se a área de contato entre estas e o meio líquido. Após as 6 horas de teste, transferiu-se quantitativamente o volume contido na proveta para um erlenmeyer, adicionou-se 2 gotas de indicador misto e titulou-se com NaOH 0,01N (padronizado). A Figura 4.5 ilustra o sistema acima descrito.

O método analítico para determinação da amônia livre (NH₃), foi seguido de acordo com o método sugerido por VOGEL, (1981), onde a amônia volatilizada, proveniente do reator, era borbulhada na solução de HCl. A Equação 4.1 representa este fato:



O cálculo utilizado para converter-se o volume gasto na titulação em concentração de amônia é baseado na seguinte relação, segundo VOGEL, (1981):

$$1 \text{ ml HCl } 0,1\text{M} = 1,703 \text{ mg NH}_3$$

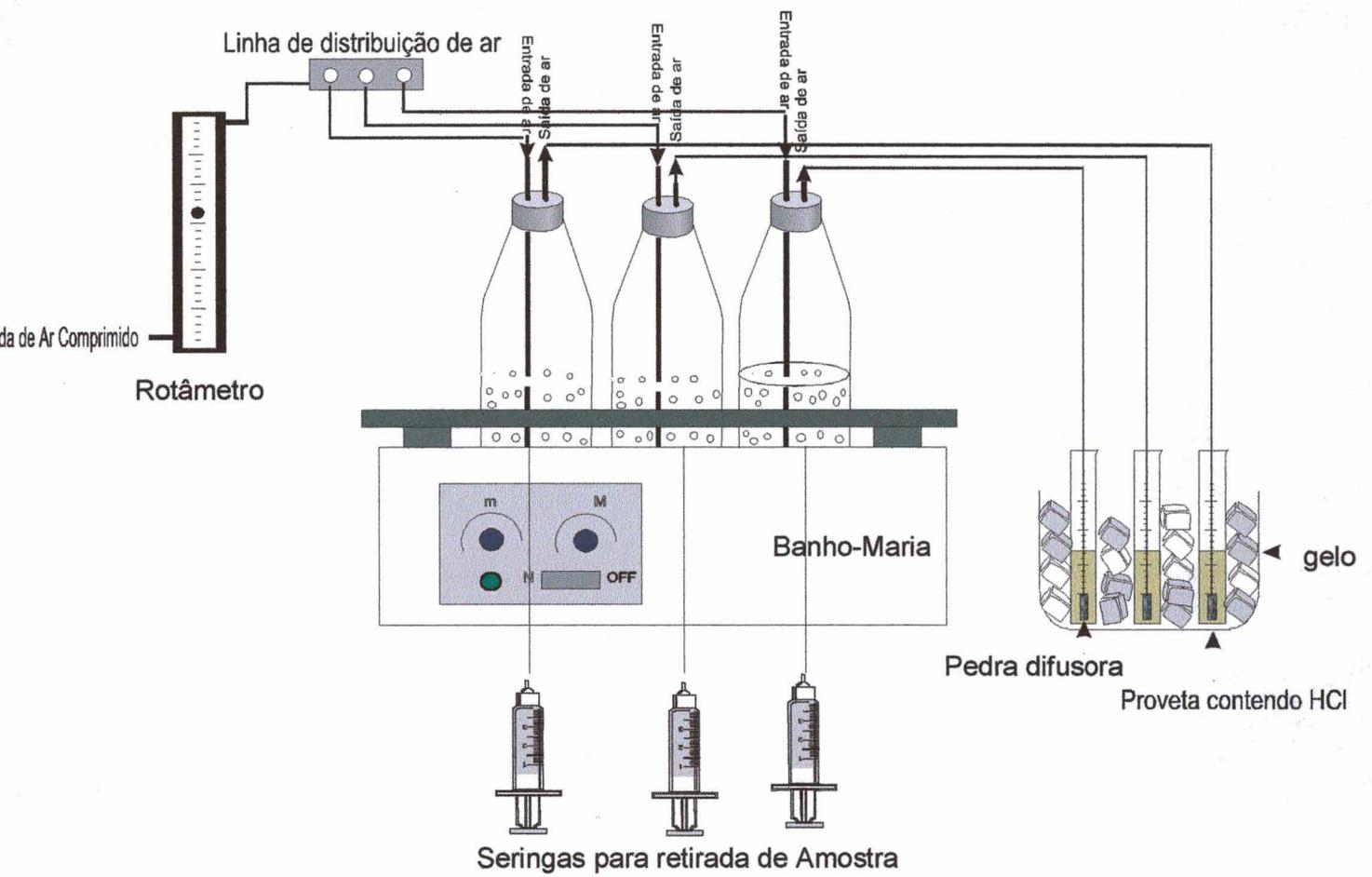


Figura 4.5 - Esquema utilizado para coleta da amônia liberada por "stripping".

d) Teste de nitrificação para avaliação da atividade do lodo CASAN com efluente Sadia,

Este teste foi realizado variando-se a relação S_o/X_o e mantendo-se X_o constante ($2000 \text{ mg SSV.L}^{-1}$).

Ao se iniciar o teste, apenas ajustou-se o pH do meio em 7.5 com solução de NaOH diluída, não sendo adicionado alcalinidade na forma de bicarbonato, pelo fato de já haver alcalinidade suficiente, para as concentrações de nitrogênio testadas, no efluente da Sadia.

Foram testadas as seguintes relações S_o/X_o (Tabela 4.9):

Tabela 4.9 - Valores de S_o e relação S_o/X_o

S_o (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	S_o/X_o
23	0,0150
40	0,0257
80	0,0386
100	0,0643
170	0,0964

e) Teste de nitrificação para avaliação da atividade do lodo adaptado com efluente sintético e efluente Sadia

O efluente sintético foi utilizado diluído e o efluente Sadia foi utilizado tanto diluído como concentrado variando-se a relação S_o/X_o e mantendo-se X_o constante (2000 mg.L^{-1} de SSV). Foram testadas as seguintes relações S_o/X_o apresentados na Tabela 4.10:

Tabela 4.10 - Valores de S_o ; S_o/X_o e tipo de efluente utilizados

S_o (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	S_o/X_o	Efluente
23	0,0150	Sintético
23	0,0150	Sadia
170	0,0964	Sadia

f) **Teste de nitrificação com lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se constante a relação S_o/X_o , e variando-se S_o e X_o**

A relação S_o/X_o foi mantida em 0,0150 e foram testados os seguintes valores de S_o e X_o , apresentados na Tabela 4.11:

Tabela 4.11 - Valores de S_o e X_o mantendo-se a relação S_o/X_o igual a 0,015, utilizando-se efluente sintético.

S_o (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	X_o (mg SSV /L)
23	2000
40	3429
60	5143

4.5 . Ensaio de Nitrificação

Os testes de nitrificação consistiam nos seguintes procedimentos: após a coleta do lodo, deixava-se o mesmo em repouso durante 2 a 3 horas, retirava-se o sobrenadante afim de se concentrar o lodo. Tomava-se então, uma amostra do lodo concentrado para realização do teste de SSV, deixava-se o mesmo sob fraca

aeração (feita com ar comprimido) durante uma noite, como descrito anteriormente. Sabendo-se a concentração do SSV, fazia-se os cálculos para se obter a relação S_o/X_o desejada. Preparava-se então o meio, de acordo com o teste a ser realizado, adicionava-se o lodo, ajustava-se o pH, iniciava-se, então, a agitação e aeração dos recipientes. Retirava-se imediatamente (em $t = 0$) uma amostra da suspensão, onde uma alíquota era imediatamente filtrada para se fazer os testes do teor de amônia, nitratos e nitritos, e outra alíquota, não filtrada, para se fazer o teste de SSV (quando requerido). Posteriormente foram retiradas amostras (50 mL), inicialmente, durante as primeiras duas horas, de meia em meia hora, e logo após, em intervalos de 1h, as quais eram filtradas para se fazer os testes de concentração de amônia, nitratos e nitritos. O pH, a concentração de OD e temperatura eram controlados. A concentração de OD era mantida, durante os testes, em aproximadamente 4.5 mg O_2/L , e a temperatura mantida em trinta graus Celsius. Fazia-se paralelamente um teste em branco, utilizando-se a mesma quantidade de lodo usada para o teste anteriormente descrito, em água destilada.

Devido as especificidades dos objetivos e disponibilidade de equipamentos e materiais, os ensaios em batelada realizados no presente trabalho não atendem à norma ISO 9509.

4.6 . Equipamentos Utilizados

O controle do pH foi feito com um pHmetro marca QUIMIS, modelo 400A; o OD foi medido em um aparelho com eletrodo de marca COLE PARMER, modelo 5946-55, os agitadores magnéticos da marca MICROQUÍMICA modelo AMA 102, o rotâmetro marca OMEL com escala em NL/min (AR 760 mm Hg, 21 °C.), e o banho-maria tipo Dubnoff, marca NOVA ÉTICA, modelo 304. As medidas colorimétricas para determinação da concentração de amônia nitrato e nitrito foram realizadas em espectrofotômetro marca CELM-E, modelo 225 D .

4.7 . Cálculos de Parâmetros

4.7.1 - Cálculo de v

O valor da velocidade de consumo de substrato, assim como da formação de produtos foi obtida através da máxima inclinação da curva formada pelo gráfico concentração (mg N.L^{-1}) em função do tempo.

4.7.2 - Cálculo de μ_s e μ_p

O valor de μ_s e μ_p foram obtidos através da inclinação máxima da curva do gráfico montado com os valores da razão entre a velocidade v ($\text{mg N.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) e da concentração de SSV (g SSV.L^{-1}), e do tempo, obtendo-se, então os valores de μ_s e μ_p expressos em $\text{mg N. g SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

4.8 . Métodos Analíticos

4.8.1 . Determinação de Amônia (NH_4^+)

Utilizou-se o método de Nessler para determinação da amônia, de acordo com VOGEL (1981). A análise é realizada colorimetricamente em espectrofotômetro a 525 nm.

4.8.2 . Determinação de Nitrato (NO_3^-)

A análise de nitrato foi realizada colorimetricamente em espectrofotômetro a 500 nm, pelo método de redução do cádmio, utilizando-se kits Hach, Nitra-ver 5, Nitrate HR (0 a 30 mg.L^{-1} $\text{NO}_3\text{-N}$).

4.8.3 . Determinação de Nitrito (NO_2^-)

A determinação de nitrito foi realizada colorimetricamente em espectrofotômetro a 525 nm, através de kits Merck.

4.8.4 . Medições de pH

Foram realizadas através de medidas potenciométricas utilizando-se um eletrodo combinado de vidro e prata/cloreto de prata. O pHmetro foi calibrado com soluções tampão de pH 7.0 e 4.0, de acordo com metodologia indicada em APHA, (1995).

4.8.5 . Demanda Química de Oxigênio

Determinou-se a DQO através do método colorimétrico de refluxo fechado, onde o agente oxidante consistia no dicromato de potássio, a metodologia está de acordo com APHA, (1995).

4.8.6 . Determinação de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)

Foram determinados através de metodologia gravimétrica, de acordo com APHA, (1995).

5 . RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 . Adaptação do Lodo

Conforme esquema apresentado anteriormente no item 4.2 (Tabela 4.1), inicialmente, durante um período de 60 dias, o reator foi alimentado com efluente sintético, cuja concentração era de 23 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ . Após este período o mesmo passou a ser alimentado com efluente proveniente da segunda lagoa também com a mesma concentração por mais quinze dias e a partir deste período a carga de N-NH_4 foi aumentada progressivamente conforme a tabela 4.2. A figura 5.1 apresenta os resultados do acompanhamento analítico do desempenho do reator neste período.

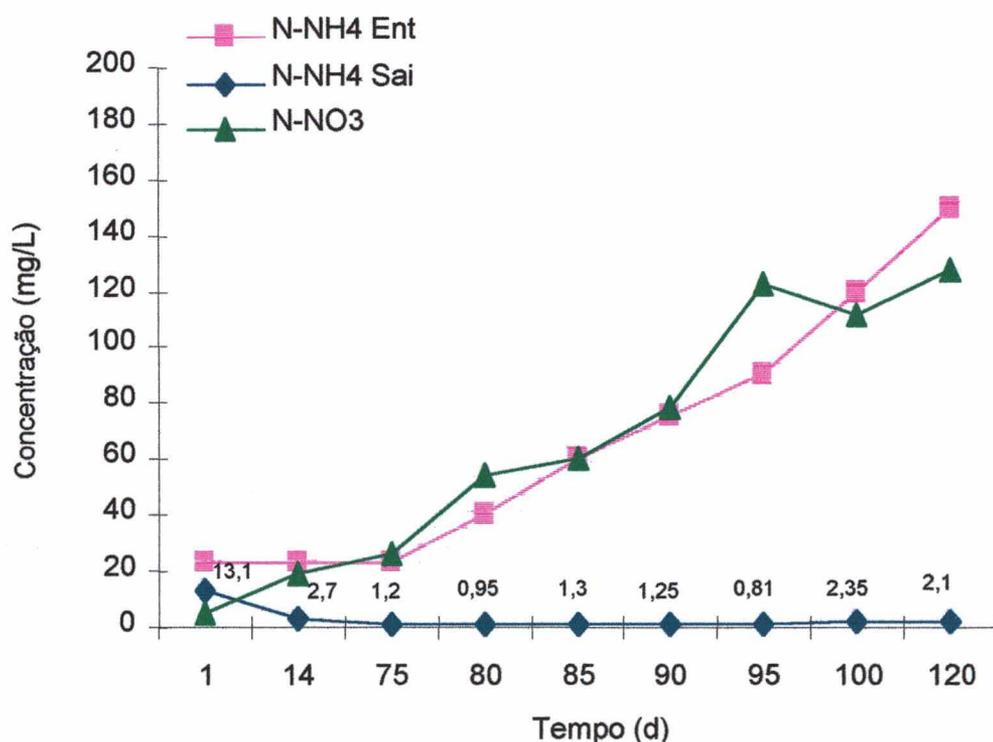


Figura 5.1 - Concentração de nitrogênio em função do tempo para a amônia na entrada e saída e de nitrato na saída do reator, durante o período de adaptação do lodo.

Como se pode observar na Figura 5.1, inicialmente, ao se introduzir uma concentração de 23 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ , o reator rapidamente se estabilizou, e durante os 75 dias em que foi alimentado, tanto com efluente sintético, como com efluente da segunda Lagoa (L2), a concentração de amônia medida 24 h após a alimentação, oscilava em torno de $2,7 \text{ mg.L}^{-1}$ de N-NH_4^+ e mesmo durante os aumentos de carga, com intervalos de cinco dias entre uma e outra, cujos valores foram respectivamente: 40; 60; 75; 90; 120; 150 $\text{mg N-NH}_4^+/\text{L}$ a estabilização do reator foi rápida, apresentado concentrações de amônio no efluente em torno de 0,81 a $2,1 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ (como pode-se observar no gráfico), o que conferiu ao reator uma eficiência em torno de 90 a 98% de remoção de NH_4 .

As concentrações de nitrito também foram medidas, e as mesmas se mantiveram, durante todo o período, em um valor baixo, em torno de 0,1 a 0,3 $\text{mg N-NO}_2^-\text{.L}^{-1}$. Foi feito também um acompanhamento do pH do meio, o qual oscilou entre 7.0 e 7.6.

Estes resultados demonstram que, embora o período de alimentação com uma concentração de $23 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ tenha sido longo, ao se aumentar as concentrações, entretanto, houve uma boa resposta dos microrganismos, no sentido de consumirem o substrato rapidamente, o que demonstra uma boa aclimatação destes, mesmo para o efluente não diluído, cuja concentração variou em torno de 150-170 mg.L^{-1} N-NH_4^+ . Este longo período para aclimatação inicial de 75 dias de alimentação com concentração de 23 mg.L^{-1} foi necessário tanto para multiplicação da biomassa como para a aclimatação inicial do lodo. Provavelmente este tempo poderia ter sido reduzido, pois, existem exemplos, como o já citado no item 3.5, onde GUPTA & SHARMA (1996), utilizando um sistema do tipo lodos ativados de mistura completa conseguiram em um período de 30 dias aclimatar lodo nitrificante variando as concentrações de nitrogênio (orgânico e amoniacal, NTK) de 500 para 1000 mg.L^{-1} .

5.2 . Teste de Nitrificação Utilizando-se Diferentes Relações S_o/X_o , Mantendo-se S_o constante e Variando-se X_o

O objetivo deste teste, como já comentado anteriormente no item 4.4 (a), foi verificar, qual, dentre as relações testadas, apresentava melhor coeficiente de atividade específica (μ_s , μ_p). Os gráficos apresentados na Figura 5.2 exibem o decaimento da amônia, a formação de nitrato e a presença de nitrito durante um período de 6 horas.

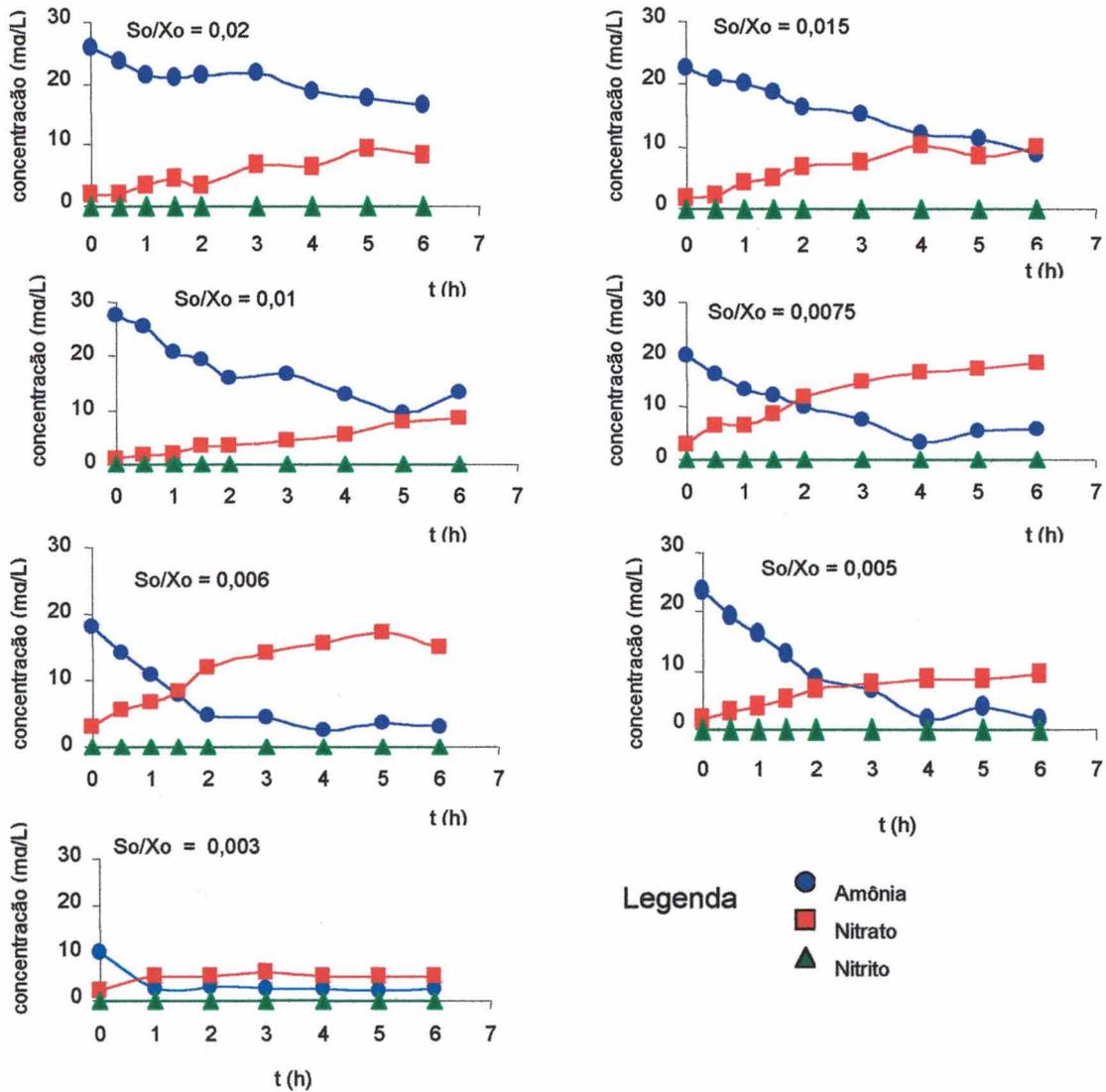


Figura 5.2 - As velocidades de consumo do substrato ($N-NH_4^+$) e de formação de produto ($N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$) em função do tempo, aumentam à medida em que diminui a relação S_o/X_o .

Observa-se nestes gráficos que a velocidade com a qual o substrato é consumido, assim como a velocidade de formação de produtos, aumenta com a diminuição da relação S_0/X_0 e conseqüente aumento da concentração de microrganismos (X_0), tal fato é numericamente confirmado através dos valores das velocidades de consumo do substrato e formação do produto (v), calculadas a partir dos gráficos apresentados na Figura 5.2, e exibidas nas Tabelas 5.1 e 5.2 para o consumo de amônia e para a formação de nitratos respectivamente.

Tabela 5.1 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v aumentam, enquanto os valores de μ_s diminuem, à medida em que a relação S_0/X_0 diminui.

So/Xo	0,02	0,015	0,01	0,0075	0,006	0,005	0,003
μ_s (mg N-NH ₄ /gSSV.h)	1,36	1,47	1,40	1,15	1,31	1,21	0,76
v (mg N-NH ₄ /L.h)	2,29	2,94	4,19	4,58	6,57	7,29	7,63

Tabela 5.2 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v aumentam, enquanto os valores de μ_p diminuem, à medida em que a relação S_0/X_0 diminui.

So/Xo	0,02	0,015	0,01	0,0075	0,006	0,005	0,003
μ_p (mg N-NO ₃ /gSSV.h)	1,13	1,24	0,82	1,02	0,83	0,74	0,73
v (mg N-NO ₃ /L.h)	0,75	2,47	2,47	4,09	4,14	4,46	2,94

Os valores apresentados nas Tabelas 5.1 e 5.2 foram organizados na forma gráfica afim de facilitar a visualização e análise dos resultados obtidos neste ensaio, os quais estão apresentados nas Figuras 5.3 e 5.4, respectivamente.

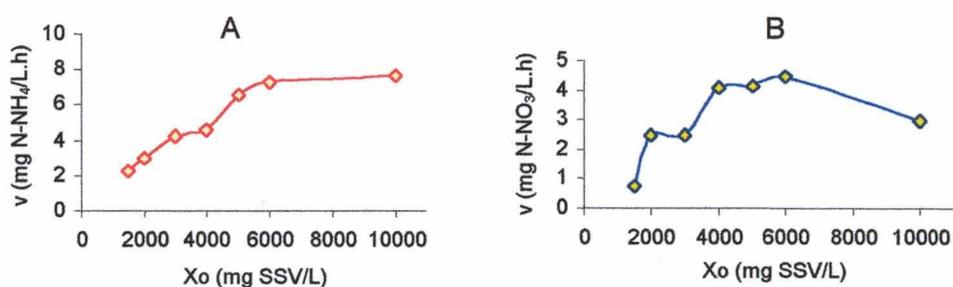


Figura 5.3 - As velocidades de consumo de amônia (A) e de formação de nitrato (B), aumentam com o aumento da concentração inicial de microrganismos, X_o .

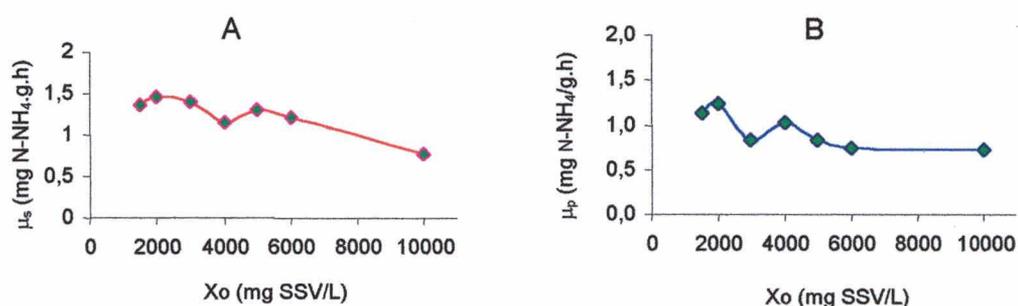


Figura 5.4 - As velocidades específicas (μ_s) de consumo de amônia (A) e de formação de nitrato (μ_p) (B) diminuem com o aumento da concentração inicial de microrganismos, X_o .

Na Figura 5.3 (A), observa-se a curva crescente do aumento da velocidade (v) com o aumento de X_o (diminuição de S_o/X_o). Comportamento similar é observado também para a formação de produtos (nitrato) Figura 5.3 (B). O mesmo não ocorre nos gráficos de μ_s e μ_p em função de X_o , onde se observa haver uma região onde a velocidade específica de consumo de amônia μ_s (Figura 5.4 - A), ou formação de nitratos μ_p (Figura 5.4 - B) por grama de SSV.h, ou seja, a velocidade específica, é maior na faixa de X_o entre 1500 ($S_o/X_o = 0,0200$) e 2000 ($S_o/X_o = 0,0100$) $\text{mg de SSV}\cdot\text{L}^{-1}$, diminuindo para valores maiores de X_o , conseqüentemente menores de S_o/X_o . O valor máximo da velocidade específica

(μ_s , μ_p). foi obtido para X_o igual a 2000 mg SSV.L⁻¹, correspondendo a relação S_o/X_o igual a 0,0150. A explicação para tais fatos é óbvia, pois, quando se mantém uma determinada concentração de substrato constante (S_o) e vai-se aumentando a concentração de microrganismos afim de consumirem igual quantidade de substrato, logicamente estes o farão com maior rapidez por estarem em maior número. Isto não significa que haja um melhor aproveitamento do substrato por parte dos microrganismos, em termos de velocidade específica, ou seja, a velocidade por grama de SSV, quando aumenta-se a concentração dos mesmos; o que é demonstrado pelo comportamento da velocidade específica em relação a X_o (Figura 5.4), onde há uma faixa de concentração de microrganismos com valores maiores de velocidade, havendo, depois, uma queda da mesma com o aumento do X_o .

A partir de então, utilizou-se este valor de X_o (2000 mg.L⁻¹) para os testes posteriores, nos quais a concentração de microrganismos foi mantida constante.

Observando-se as Tabelas 5.1 e 5.2, realizou-se aqui uma comparação dos valores de v , nelas exibidos, obtidos neste experimento, com alguns exemplos encontrados na literatura. Como anteriormente comentado no item 3.5, TOKUDA et al. (1999), utilizando um sistema tipo lodos ativados, cujo tanque de nitrificação continha uma concentração de microrganismos entre 5000-6000 mg.L⁻¹, obteve uma taxa de conversão de N-NH₄⁺ em N-NO₃⁻ de 0,3 Kg.m⁻³d⁻¹. Transformando-se os valores de v obtidos na Tabela 5.1 das concentrações de 5000 e 6000 mg SSV/L para as mesmas unidades utilizadas por TOKUDA et al (Kg de N.L⁻¹.dia⁻¹), afim de comparação, encontra-se $v = 0,16$ e $v = 0,17$, respectivamente, os quais apresentam-se na mesma ordem de grandeza do valor obtido pelo autor. JÖNSSON et al (2000) realizou testes de nitrificação em batelada utilizando culturas puras de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* e obteve para as *Nitrosomonas* taxas entre 6.5 - 5.5 mg N/L.h, enquanto que para *Nitrobacter* as taxas variaram entre 8.8 - 6.0 mg N.L⁻¹.h⁻¹, as quais, se aproximam dos valores encontrados neste experimento para as concentrações de microrganismos iguais a 5000, 6000 e 10000 mg SSV.L⁻¹.h⁻¹, os quais são respectivamente: 6.57; 7.29 e 7.63.

a) Consumo de Alcalinidade

Segundo von SPERLING (1997), a oxidação de 1 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ consome $7,1 \text{ mg}$ de alcalinidade, expressa como CaCO_3 . De acordo com este dado, calculou-se teoricamente o consumo de alcalinidade para as relações testadas: 0,0150; 0,0075 e 0,0060.

Para a relação de 0,0150 a concentração de N-NH_4^+ em $t = 0$ medida foi de $22,47 \text{ mg.L}^{-1}$, e após as 6h (tempo de duração do teste) restavam ainda $8,79 \text{ mg.L}^{-1}$ de N-NH_4^+ . Neste caso, houve um consumo de $13,68 \text{ mg.L}^{-1}$ de N-NH_4^+ , que teoricamente deveria consumir a quantidade de $97,13 \text{ mg.L}^{-1}$ de CaCO_3 . Na prática, porém, obteve-se um valor muito acima deste (1160 mg de CaCO_3/L).

Para a relação de 0,0075 o consumo de N-NH_4^+ foi de $13,97 \text{ mg.L}^{-1}$, o que corresponde a um consumo teórico de alcalinidade de $99,18 \text{ mg.L}^{-1}$ de CaCO_3 .

Para a relação de 0,0060 o consumo de N-NH_4^+ foi de $14,98 \text{ mg.L}^{-1}$, que corresponde a um consumo teórico de alcalinidade de $106,36 \text{ mg.L}^{-1}$ de CaCO_3 .

A Tabela 5.3 abaixo, apresenta tanto os valores teóricos calculados para as quantidades de substrato consumidas (anteriormente comentados), quanto os valores obtidos no ensaio prático.

Tabela 5.3 - Medidas de alcalinidade

Relação S_0/X_0	X_0 (mg.L^{-1} de SSV)	Valor medido mg.L^{-1} de CaCO_3	Valor teórico de CaCO_3 (mg.L^{-1})
0,0150	2000	1160,0	97,13
0,0075	4000	1190,0	99,18
0,006	5000	1200,0	106,36

A Tabela 5.3 está apresentada em forma de gráfico (Figura 5.5) e observando-se ambos, pode-se notar que os valores para a alcalinidade obtidos na prática são quase 12 vezes maiores do que aquele o qual deveria obter-se teoricamente. Provavelmente, isto ocorreu pelo fato do meio no início do teste ter uma baixa alcalinidade; o seu pH estava em torno de 5.0, sendo necessário adicionar-se uma quantidade maior de carbonato não só para fornecer a alcalinidade necessária ao meio, como também afim de se ajustar o pH ao valor de 7.5 e depois, ao longo do teste, para mantê-lo em torno de 7.5 e também fornecer alcalinidade.

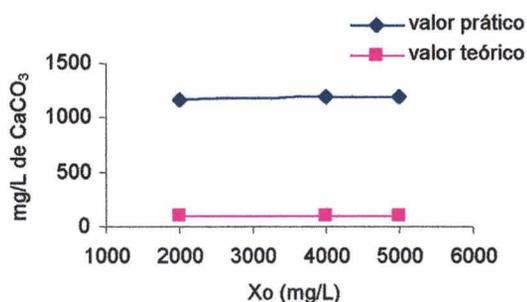


Figura 5.5 - Consumo de alcalinidade em função da concentração de microrganismos (X_0).

O procedimento adotado para medir-se o consumo da alcalinidade consistiu em inicialmente pesar-se uma determinada quantidade de carbonato e ao final das 6h do teste pesar-se novamente e calcular por diferença a quantidade gasta de carbonato para manter o pH do meio em 7.5. Na literatura, encontram-se também exemplos, os quais medem a alcalinidade gasta por intermédio de titulação da alcalinidade da suspensão no início e no final, sendo a diferença, o valor gasto de alcalinidade.

5.3 . Testes para verificação do comportamento do pH

Observando-se o gráfico mostrado na Figura 5.6, que apresenta a variação do pH em função do tempo de ensaio para as várias estratégias de controle do mesmo (procedimentos 1 a 8) pode-se notar que o melhor resultado, do ponto de vista da nitrificação, foi obtido para o procedimento 8 (P8) (item 4.4(b)), onde, inicialmente ajustou-se o pH em 7,0 e logo depois, adicionou-se o valor calculado teoricamente (0,203 g de bicarbonato) para a concentração de nitrogênio adicionada inicialmente ao meio (23,33 mg de N-NH_4^+). Deste modo, houve, no início, um pequeno aumento no valor do pH, mantendo-se, mesmo assim, em torno de 7,8, e o baixando lentamente até alcançar, ao final das 6 h do teste, um valor de 6.5, o qual não é o ideal para a nitrificação, porém ainda se mantém dentro da faixa não inibitória para a nitrificação, pois segundo BITTON (1994), a mesma cessa em pH 6.0.

Conseqüentemente, utilizou-se então, este procedimento para ajuste do pH, ao se trabalhar com o reator fechado, adotando-se, a partir daí, em vez do carbonato de cálcio, o bicarbonato de sódio, que mostrou ter um efeito tampão melhor que o carbonato. Além disso, o bicarbonato de sódio dissolvia-se, na suspensão, bem melhor que o carbonato de cálcio.

Quanto aos outros procedimentos, estes não foram satisfatórios, devido a que, ao adicionar-se o CaCO_3 , o pH aumentava para valores bem além daqueles considerados ideais para a nitrificação, ou, quando não, ao final do teste o pH do meio caía bastante.

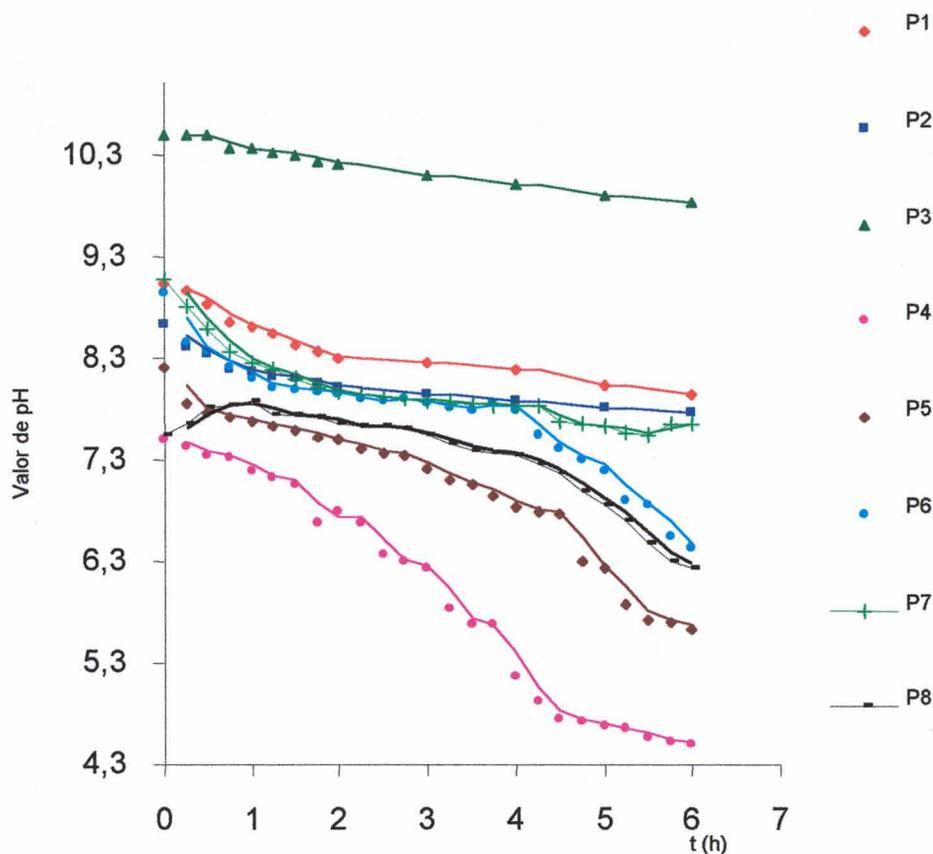


Figura 5.6 - Valor de pH em função do tempo de ensaio.

5.4 . Teste de Nitrificação Variando-se S_o/X_o Mantendo-se X_o Constante

Neste teste, como descrito no item 4.4(c), além da medição da atividade dos microrganismos, variando-se S_o e conseqüentemente a relação S_o/X_o , e mantendo-se X_o constante ($2000 \text{ mg SSV.L}^{-1}$), foi medida também a perda de amônia por volatilização. Apenas para lembrar, este teste foi realizado utilizando-se efluente sintético e lodo CASAN não adaptado,

Os resultados, exibindo o decaimento da amônia a formação de nitrato e presença de nitrito estão apresentados sob forma de gráficos na Figura 5.7.

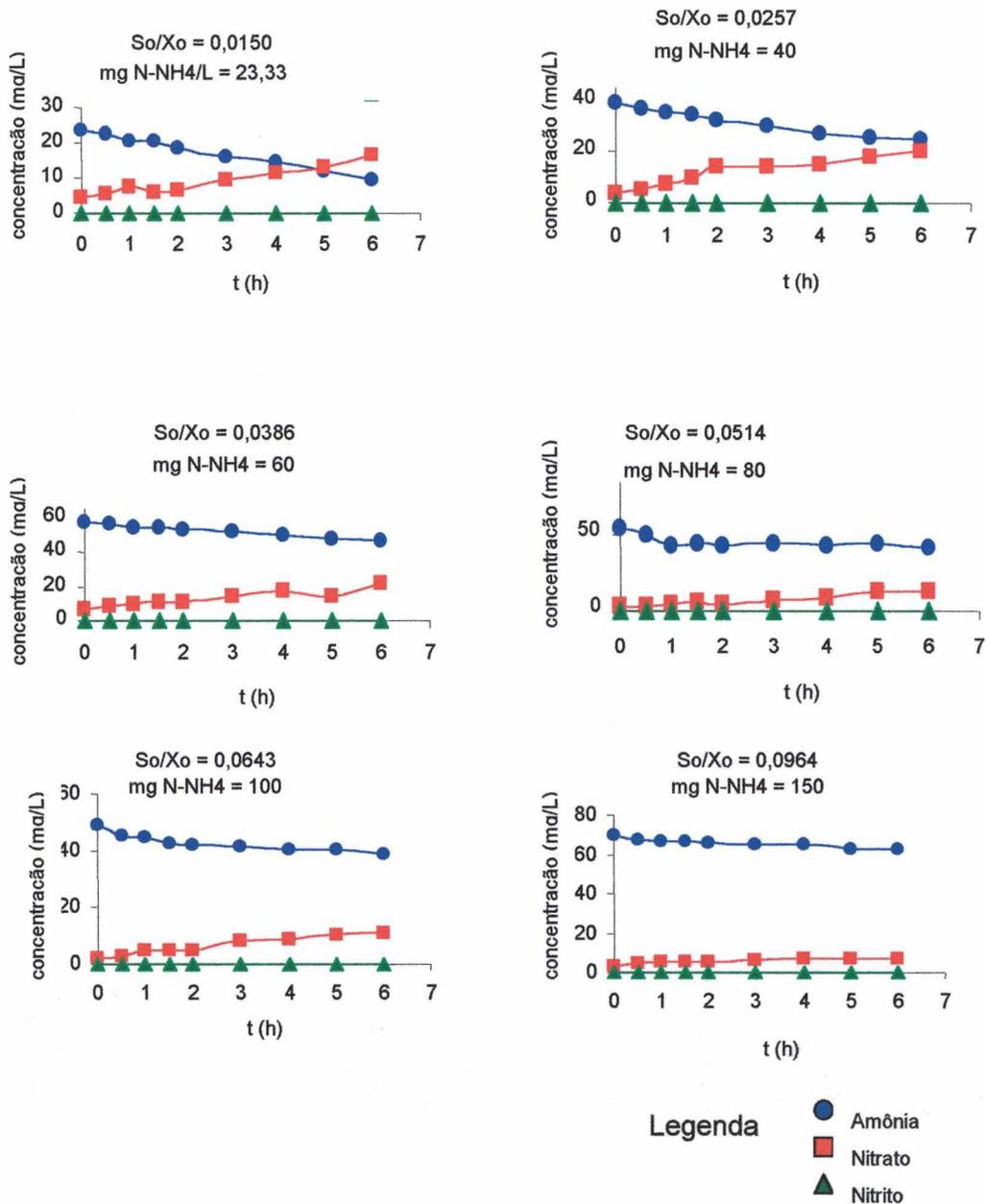


Figura 5.7 - As velocidades de consumo do substrato (N-NH_4^+) e de formação de produto (N-NO_3^- e N-NO_2^-) em função do tempo, diminuem à medida em que aumenta-se a concentração de amônia inicialmente aplicada e conseqüentemente aumentando-se a relação So/Xo .

Observando-se tais gráficos, é possível perceber uma queda na velocidade de consumo do substrato e conseqüente formação de produtos à medida em que se aumenta a concentração de $N-NH_4^+$.

A seguir, as Tabelas 5.4 e 5.5 exibem os parâmetros cinéticos (μ_s , μ_p e v), calculados a partir dos gráficos de concentração em função do tempo. As mesmas estão apresentadas sob a forma de gráficos nas Figuras 5.8 e 5.9, respectivamente.

Tabela 5.4 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v e μ_s , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_0) e conseqüente aumento da relação S_0/X_0 . Consta também aqui, os valores numéricos para a perda de amônia por volatilização.

mg de N-NH4 (valor S_0/X_0)	23 (0,015)	40 (0,0257)	60 (0,0386)	80 (0,0514)	100 (0,0643)	150 (0,0964)
μ_s (mg N-NH ₄ /gSSV.h)	1,15	1,13	0,90	0,73	0,69	0,44
v (mg N-NH ₄ /L.h)	2,30	2,26	1,79	1,37	1,38	0,84
Perda Amônia (mg N-NH ₃ /L)	0,43	0,91	1,47	0,56	1,38	3,13

Tabela 5.5 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v e μ_p , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S_0) e conseqüente aumento da relação S_0/X_0 .

mg de N-NH4 (valor S_0/X_0)	23 (0,015)	40 (0,0257)	60 (0,0386)	80 (0,0514)	100 (0,0643)	150 (0,0964)
μ_p (mg N-NH ₄ /gSSV.h)	1,14	1,13	1,01	0,97	0,74	0,28
v (mg N-NO ₃ /L.h)	2,28	2,25	2,02	1,94	1,49	0,44

Os gráficos exibidos nas Figuras 5.8 e 5.9 demonstram um comportamento semelhante entre os parâmetros cinéticos μ_s , μ_p e v , onde pode-se perceber uma queda na velocidade de consumo do substrato e conseqüente formação de produtos, à medida em que se aumenta a concentração do $N-NH_4^+$, atingindo-se

valores muito baixos de μ_s , μ_p e v e, quando a concentração de $N-NH_4^+$ chegou a 150 mg.L^{-1} , indicando assim, haver um aumento da inibição dos microrganismos nitrificantes devido ao efeito da toxicidade do substrato, ou seja, os mesmos não estavam adaptados a tais concentrações de amônia.

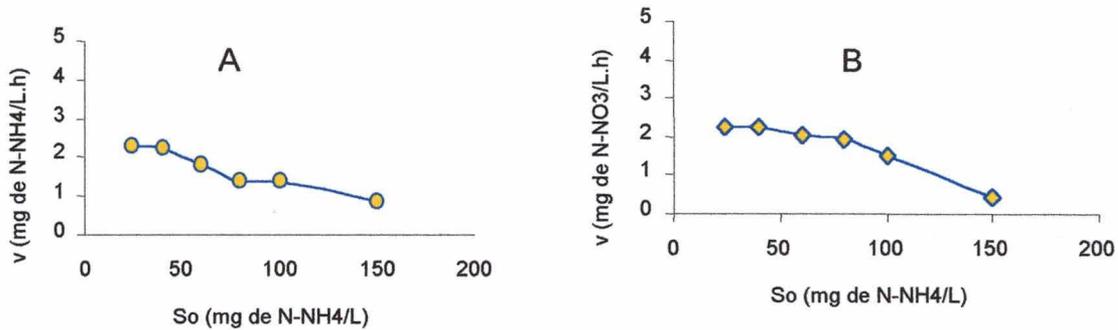


Figura 5.8 - Os valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.

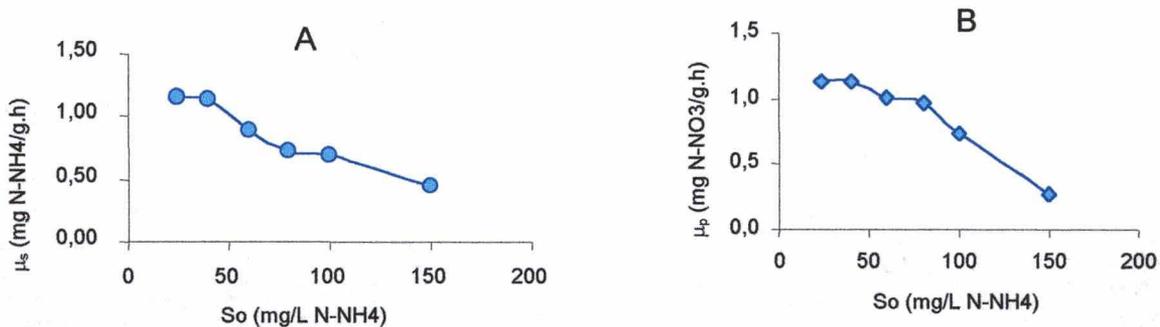


Figura 5.9 - Os valores de μ_s , para o decaimento da amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.

O gráfico apresentado na Figura 5.10 exibe o percentual de inibição, o qual aumenta à medida em que eleva-se a concentração do substrato (S_o), onde este

percentual de inibição chega a alcançar 62% para o valor de S_0 igual a 150 mg.L^{-1} N-NH_4^+ .

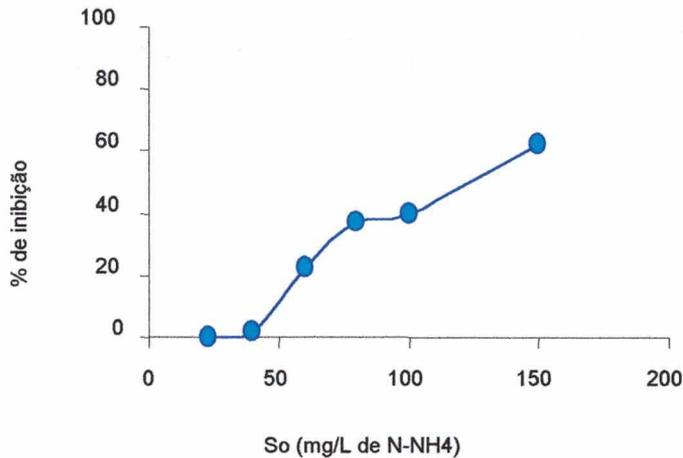


Figura 5.10 - O percentual de inibição das nitrificantes aumenta com o aumento da concentração de substrato inicialmente aplicada, alcançando um valor de 62% para o valor de S_0 igual a 150 mg.L^{-1} de N-NH_4 .

a) Medição da Perda de Amônia

A Figura 5.11 ilustra os resultados obtidos durante o teste para se medir a perda de amônia por volatilização. O percentual de perda, para as concentrações utilizadas, e sob as condições em que se realizou o teste, foi relativamente baixo, onde o mesmo não chegou a ultrapassar o valor de 2,5 %, utilizando-se uma taxa de fluxo de ar comprimido nos reatores entre 2-3 L.min^{-1} , e assumindo-se que toda a amônia livre contida no meio foi expelida completamente por "stripping". Os valores numéricos das concentrações de amônia (N-NH_3) perdidas por aeração estão ilustrados na Tabela 5.4. GUPTA & SHARMA (1996), utilizando um reator de fluxo contínuo agitado (CSTR) e aplicando uma carga inicial em torno de 1050 mg.L^{-1} de NTK, e taxa de aeração entre 3-4 L.min^{-1} , também encontraram valores percentuais relativamente baixos, os quais não ultrapassaram o valor de 3% do NTK inicialmente aplicado.

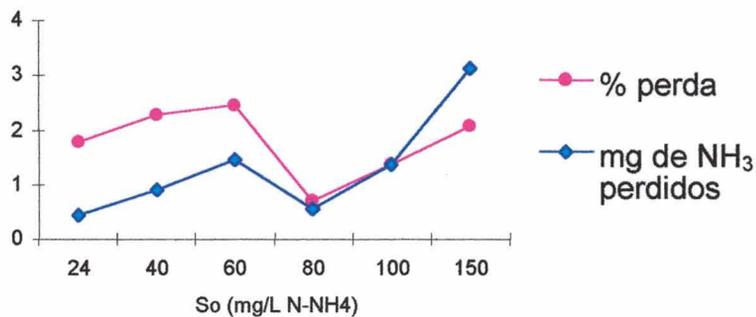


Figura 5.11 - Os valores percentuais para a perda de amônia por volatilização obtidos para os testes de atividade nitrificante realizados não ultrapassaram o valor de 2,5 %.

5.5 . Teste de Nitrificação para Avaliação da Atividade nitrificante do Lodo CASAN com Efluente Sadia

Utilizou-se neste teste o lodo proveniente da CASAN e como fonte de substrato o efluente Sadia. Variou-se, então, a concentração inicial do substrato (S_o) através de diluições do efluente concentrado, e manteve-se o X_o constante ($2000 \text{ mg SSV.L}^{-1}$).

Os gráficos mostrando o consumo de substrato e a formação de produtos estão apresentados na Figura 5.12.

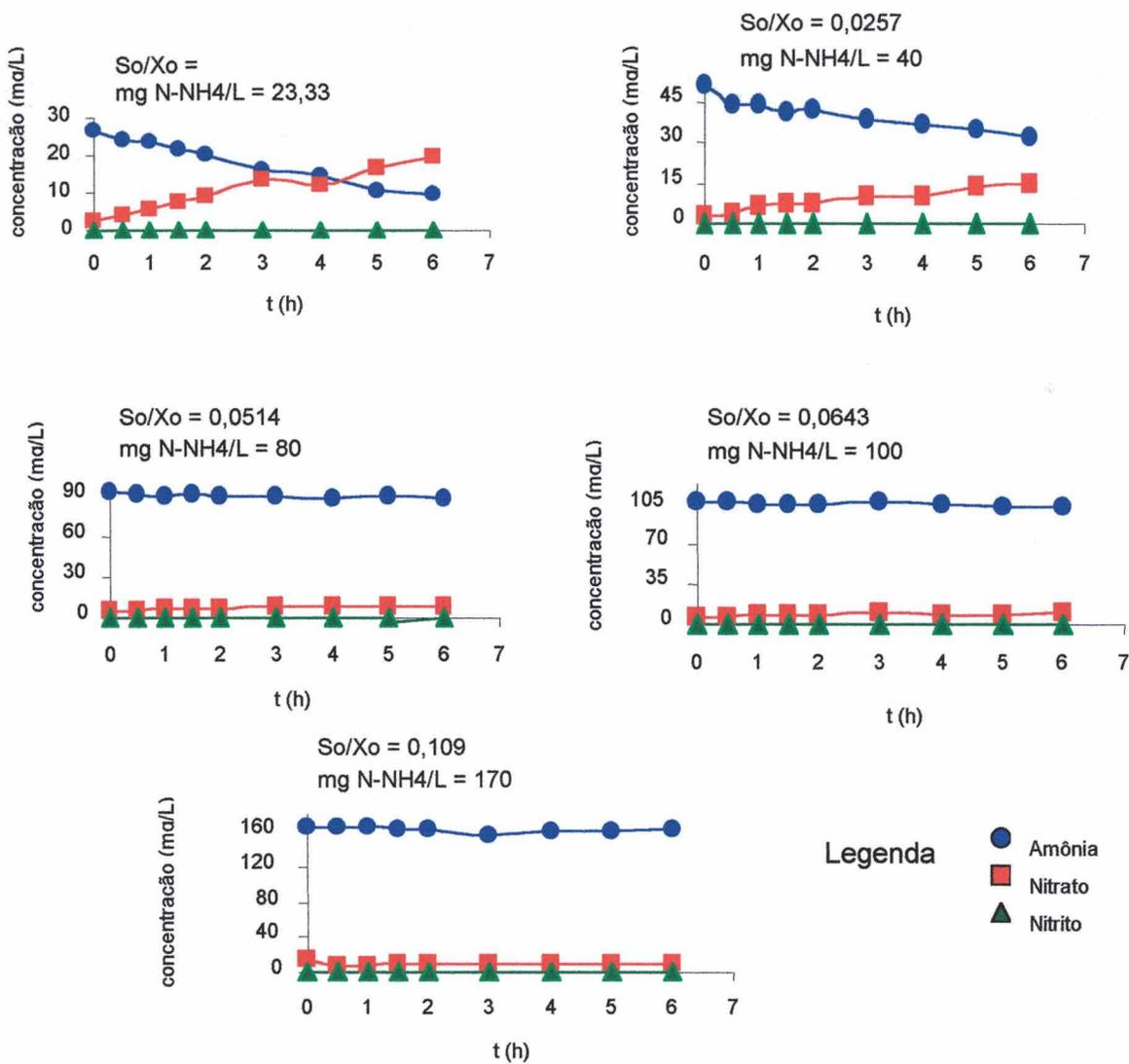


Figura 5.12 - As velocidades de consumo do substrato (N-NH_4^+) e de formação de produto (N-NO_3^- e N-NO_2^-) em função do tempo, diminuem à medida em que aumenta-se a concentração de amônia inicialmente aplicada e conseqüentemente aumentando-se a relação S_o/X_o .

Observando-se os gráficos desta Figura 5.12, e comparando-se com os da Figura 5.7, nota-se um comportamento semelhante entre as curvas onde se utilizou a mesma concentração inicial de amônio (S_o), ou seja, a velocidade de consumo de substrato vai diminuindo à medida em que se aumenta o S_o , sendo praticamente nula a formação de produtos para concentrações maiores do que 40

mg.L⁻¹ N-NH₄. As Tabelas 5.6 e 5.7 contêm os valores de μ_s , μ_p e v calculados para o consumo de substrato e para a formação de produtos para as concentrações de amônio (S₀) testadas.

Tabela 5.6 - Valores cinéticos para o decaimento da amônia. Os valores de v e μ_s , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S₀) e conseqüente aumento da relação S₀/X₀.

mg de N-NH ₄ (valor S ₀ /X ₀)	23 (0,0150)	40 (0,0257)	80 (0,0386)	100 (0,0643)	170 (0,0964)
μ_s (mg N-NH ₄ /gSSV.h)	1,45	1,09	0,27	0,25	0,23
v (mg N-NH ₄ /L.h)	2,90	2,17	0,54	0,50	0,99

Tabela 5.7 - Valores cinéticos para a formação do nitrato. Os valores de v e μ_p , diminuem com o aumento da concentração inicial de amônia aplicada (S₀) e conseqüente aumento da relação S₀/X₀.

mg de N-NH ₄ (valor S ₀ /X ₀)	23 (0,0150)	40 (0,0257)	80 (0,0386)	100 (0,0643)	170 (0,0964)
μ_p (mg N-NO ₃ /gSSV.h)	1,36	1,00	0,28	0,20	0,24
v (mg N-NO ₃ /L.h)	2,73	2,01	0,56	0,40	0,48

A seguir são apresentados nas Figuras 5.13 e 5.14 os gráficos referentes às Tabelas 5.6 e 5.7, respectivamente.

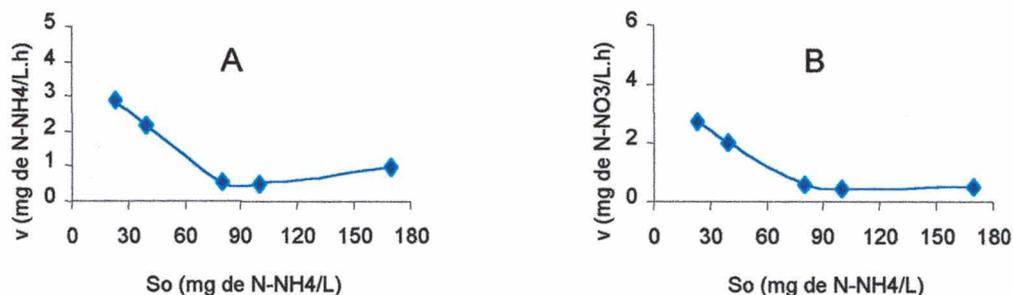


Figura 5.13 - Os valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S₀), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.

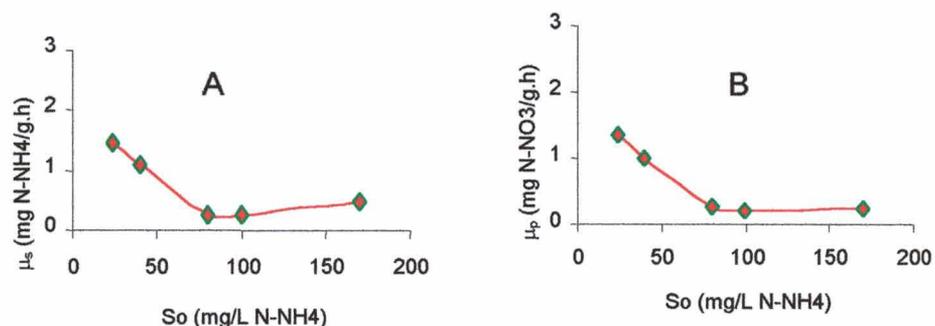


Figura 5.14 - Os valores de μ_s , para o decaimento da amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B), diminuem com o aumento da concentração de amônia aplicado inicialmente (S_o), indicando, assim, haver um efeito de inibição das nitrificantes exercido pelo substrato.

Ao se observar tais gráficos, nota-se que, os valores, tanto de v quanto de μ diminuem com o aumento de S_o , chegando a valores próximos de zero, para o efluente nas concentrações de 80, 100 e 170 mg N-NH₄, indicando haver inibição dos microrganismos nitrificantes pelo substrato. O grau de inibição aproxima-se de 85% para o efluente Sadia sem diluição, conforme apresentado na Figura 5.15.

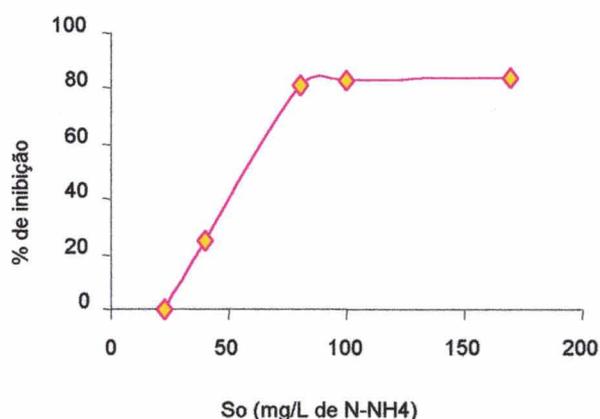


Figura 5.15 - Grau de inibição em função da concentração inicial de substrato (S_o) para teste utilizando-se Iodo CASAN com Efluente Sadia. O percentual de inibição aproxima-se de 85% para o efluente Sadia não diluído.

Isto demonstra que o lodo CASAN apresentou comportamento semelhante, tanto para efluente sintético como para o efluente Sadia, ou seja, para concentrações de ambos os efluentes em torno de 150 - 170 mg.L⁻¹ de amônia, houve inibição dos microrganismos nitrificantes reduzindo-se o consumo de amônia e conseqüente formação de nitratos a praticamente zero.

5.6 . Teste de nitrificação para avaliação da atividade do lodo adaptado com efluente sintético e efluente Sadia

Este teste foi realizado com efluentes sintético e Sadia com concentração de N-NH₄ (S₀) igual a 23,3 mg e X₀ = 2000 mg.L⁻¹ SSV, e com efluente Sadia não diluído. Apenas para relembrar, o lodo utilizado foi o lodo aclimatado no reator como descrito no item 4.2; e estes valores de S₀ e X₀, e conseqüente relação S₀/X₀ = 0,0150, foram utilizados neste teste pelo motivo explicado no item 5.2, ou seja, estes foram os valores para os quais se obteve melhor resposta dos microrganismos, em relação à velocidade específica (μ).

Abaixo, na Figura 5.16 são apresentados os gráficos concentração de amônia nitrato e nitrito em função do tempo.

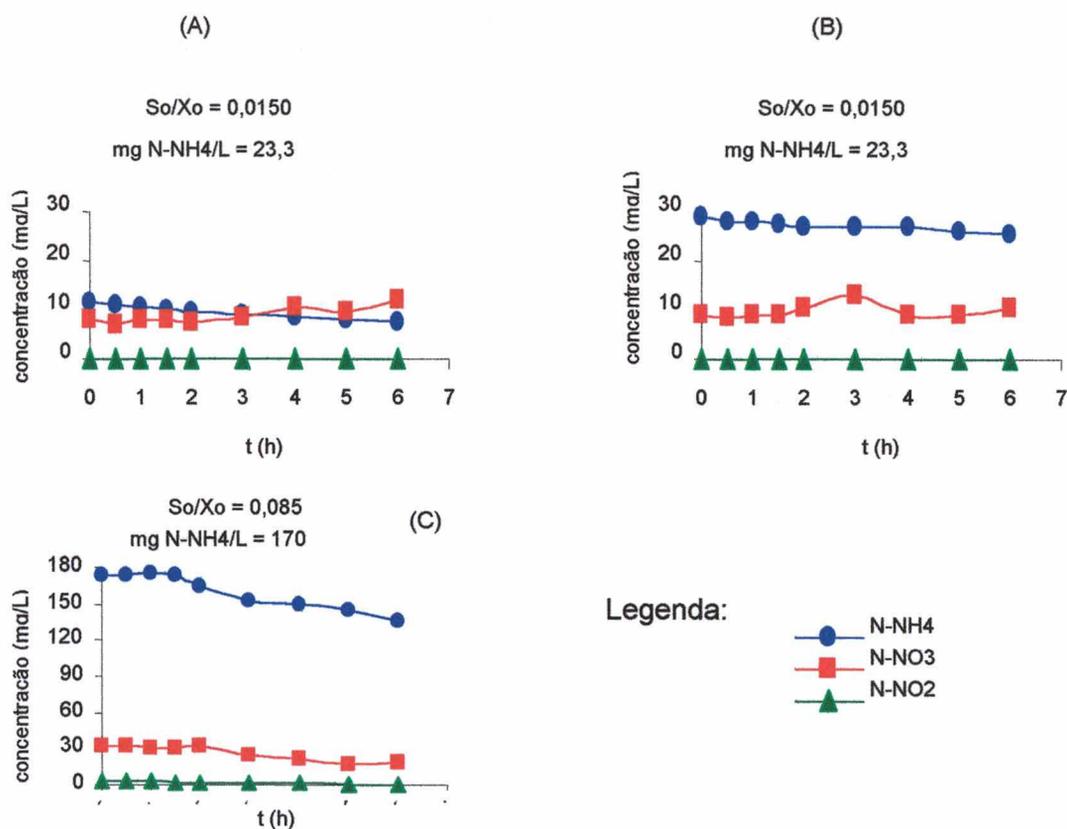


Figura 5.16 - Concentração em função do Tempo. Onde: (A) - Efluente sintético; (B) - Efluente Sadia diluído; (C) - Efluente Sadia sem diluição.

Observando-se os gráficos da Figura 5.16, assim como as Tabelas 5.8 e 5.9, contendo os valores dos parâmetros cinéticos μ_s , μ_p e v para o decaimento da amônia e a formação de nitrato, nota-se que, tanto para o efluente sintético como para o efluente Sadia diluídos, os comportamentos de μ_s , μ_p e v foram semelhantes e bem abaixo dos valores esperados, pois, observando-se os resultados dos valores cinéticos para todos os outros testes anteriormente realizados para a relação $So/Xo = 0,0150$, utilizando-se lodo CASAN não aclimatado (Tabelas 5.8 e 5.9) estes encontravam-se na faixa de (1,15 - 1,45 mg N-NH₄.gSSV⁻¹.h⁻¹) para os valores de μ_s e de (2,3 - 2,9) para os valores de v . Os resultados de μ_s , μ_p e v obtidos para o efluente Sadia não diluído foram bem mais

altos do que para o efluente diluído. Além disso, quando comparado com os resultados dos ensaios anteriores, estes valores são bem superiores.

É possível que tal fato seja devido a que os microrganismos em questão perderam a sensibilidade para baixas concentrações de amônia e já estariam adaptados ao consumo de amônia nesta mesma faixa de concentração (150-170 mg.L⁻¹) do efluente não diluído, pois, segundo NOTO et al. (1998) em revisão bibliográfica, foi demonstrado haver diferenças entre culturas isoladas de lodos ativados em relação à cinética de oxidação da amônia. As bactérias oxidantes de amônia que predominam na maioria dos sistemas de tratamento de esgotos, tipicamente apresentam baixos valores de K_m . As mesmas, provavelmente removem o nitrogênio amoniacal de efluentes com baixas concentrações, e conseqüentemente uma melhor qualidade de água tratada seria obtida. Foram identificados outros tipos de bactérias oxidantes de amônia apresentando valores de K_m e V_{max} muito mais altos, oxidando, assim, a amônia mais rapidamente. Isto indica que o grupo anterior é favorável ao tratamento de amônia em baixas concentrações (o que seria o caso dos microrganismos contidos no lodo CASAN), e os últimos para altas concentrações (caso do lodo aclimatado).

É interessante observar-se o gráfico (C) da Figura 5.16, o qual aparenta ter ocorrido um processo de desnitrificação aeróbia, pois ao mesmo tempo em que a amônia é consumida, ocorre a diminuição da concentração de nitrato na suspensão, sem que houvesse formação de nitrito. É importante ressaltar que durante tal ensaio, em momento algum, houve interrupção do fluxo de ar nos reatores, afim de descartar-se a possibilidade de ter havido uma desnitrificação anaeróbia através do processo ANAMMOX. GUPTA & SHARMA (1996), utilizando um reator de fluxo contínuo agitado (CSTR) e aerado, observaram acontecimento semelhante. Os autores explicam tal fato como sendo causado através da contaminação da suspensão por *Thiosphaera pantotropha*, a qual é uma bactéria capaz de realizar a desnitrificação sob condições completamente aeróbias.

Ainda no gráfico (C) da Figura 5.16, observa-se ter havido, durante a primeira 1 1/2 hora, um pequeno acúmulo de nitrito, o que pode talvez ter sido

causado por uma leve inibição das Nitrobacter, e segundo SHISKOWSKI & MAVINIC (1998) também das *Nitrosomonas*, devido à presença de amônia livre (NH_3) no meio, e que com a continuação da aeração do meio essa amônia foi sendo liberada, reestabelecendo o processo de nitrificação. Outra possibilidade, é que as bactérias nitrificantes, segundo revisão bibliográfica realizada por GUPTA & SHARMA (1996), podem também ter-se aclimatado a altas concentrações de amônia livre. Não foi entretanto, feita uma medição da concentração da amônia livre no meio durante tal experimento, conseqüentemente, tal fato deve, futuramente, ser melhor investigado.

É importante ressaltar que em todos os testes de nitrificação realizados nesta pesquisa, não foi observado o acúmulo de nitrito, ou seja, a concentração de nitrito sempre manteve-se em valores próximos de zero, mesmo quando houve uma forte evidência de inibição dos microrganismos nitrificantes por toxicidade do substrato nos testes relatados nos itens 5.4 e 5.5. Apenas neste teste, com lodo adaptado, é que foi possível detectar um ligeiro acúmulo de nitrito, cuja concentração variou em torno de 2,92 a 1,5.

Tabela 5.8 - Os valores de μ_s e v são baixos para o consumo de amônia, para teste utilizando-se lodo adaptado e efluente sintético e Sadia diluídos e mais altos para o efluente sadia concentrado.

mg de N-NH ₄ (valor S ₀ /X ₀)	23,3 (0,0150) Sint	23,3 (0,0150) Sadia	170 (0,085) Sadia
μ_s (mg N-NH ₄ /gSSV.h)	0,32	0,25	3,58
V (mg N-NH ₄ /L.h)	0,64	0,50	7,16

Tabela 5.9 - Os valores de μ_p e v são baixos para a formação de nitrato, para teste utilizando-se lodo adaptado e efluente sintético e Sadia diluídos e mais altos para o efluente sadia concentrado.

mg de N-NH ₄ (valor S ₀ /X ₀)	23,3 (0,0150)	23,3 (0,0150) Sadia	170 (0,085) Sadia
μ_p (mg N-NO ₃ /gSSV.h)	0,33	0,27	1,40
V (mg N-NO ₃ /L.h)	0,66	0,54	2,79

5.7 . Teste de nitrificação com lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se constante a relação S_o/X_o em 0,0150, e variando-se S_o e X_o .

As Tabelas 5.10 e 5.11 apresentam os resultados obtidos para os valores de v e μ para o consumo de amônia e a formação de nitrato nestes ensaios. É possível observar nestas tabelas que os valores mais altos tanto de v quanto de μ_s e μ_p foram obtidos para a concentração de $N-NH_4^+$ igual a $23,3 \text{ mg.L}^{-1}$, embora que a relação S_o/X_o tenha sido mantida constante em 0,0150, relação esta para a qual se obteve em todos os testes realizados anteriormente, os melhores resultados, porém é preciso ressaltar que em tais testes, a relação $S_o/X_o = 0,0150$ era sempre realizada com a concentração de nitrogênio amoniacal igual a $23,3 \text{ mg N-NH}_4.L^{-1}$, concentração esta, a qual o lodo CASAN já estava adaptado, por ser um lodo proveniente de uma estação de tratamento de esgotos domésticos, onde a faixa de concentração de NTK não difere muito deste valor. Entretanto, no momento em que se varia tanto S_o como X_o , porém, mantendo a relação $S_o/X_o = 0,0150$ poder-se-ia levar a conclusão de que o fator, o qual influencia na resposta dos microrganismos para obtenção dos valores de μ_s , μ_p e v não é a relação S_o/X_o e sim a concentração de nitrogênio aplicada, porém, é preciso que sejam realizados mais estudos em relação a este assunto.

Tabela 5.10 - Valores de μ_s e v para o consumo de amônia, para teste utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.

mg de N-NH4 (valor S_o/X_o)	23 (0,0150)	40 (0.0150)	60 (0.0150)
μ_s (mg N-NH4/gSSV.h)	1,56	1,53	1,25
v (mg N-NH4/L.h)	3,12	3,07	2,51

Tabela 5.11 - Valores de μ e v para a formação de nitrato, para teste utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.

mg de N-NH ₄ (valor S_o/X_o)	23	40	60
μ_s (mg N-NO ₃ /gSSV.h)	3,39	1,81	1,21
v (mg N-NO ₃ /L.h)	6,77	3,63	2,42

A seguir, são apresentadas as Figuras 5.17 e 5.18 contendo os gráficos obtidos das tabelas acima. Nelas, é possível verificar-se que tanto v quanto μ_s e μ_p diminuem com o aumento de S_o , o que denota haver uma inibição dos microrganismos nitrificantes pela toxicidade do substrato.

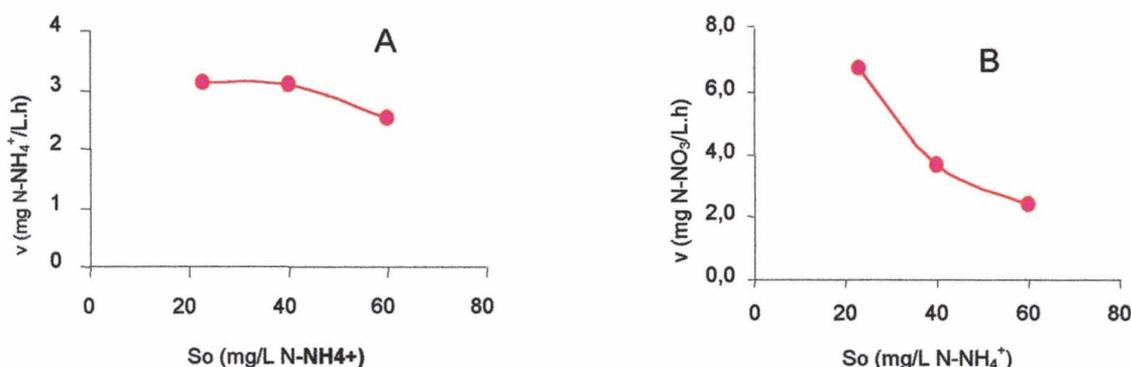


Figura 5.17 - Valores de v , para o decaimento da amônia (A) e para a formação de nitrato (B), utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.

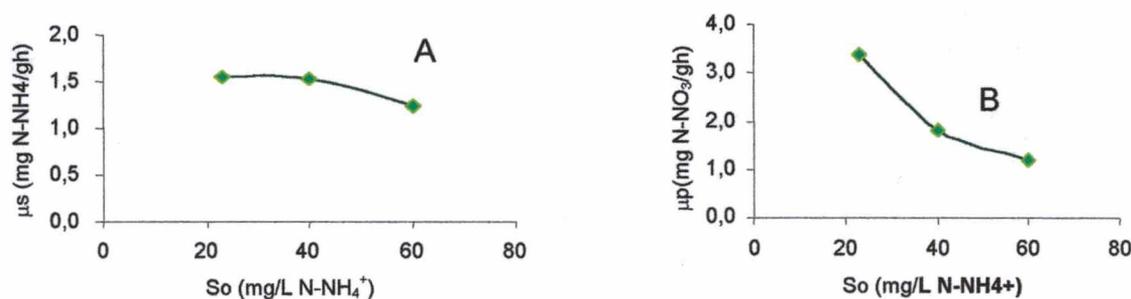


Figura 5.18 - Valores de atividade específica (μ_s) em função da concentração inicial de substrato (S_o) para o consumo de amônia (A) e μ_p para a formação de nitrato (B) utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_o/X_o constante.

6 . CONCLUSÕES

O lodo CASAN apresentou uma adaptação considerada satisfatória ao efluente Sadia não diluído.

O consumo de alcalinidade medido foi em torno de dez vezes maior do que aquele apresentado na literatura para crescimento celular, sendo atribuído às necessidades de ajuste do pH do meio.

Os valores de μ_s e μ_p diminuem, enquanto os valores de v aumentam com a diminuição da relação S_o/X_o , em condições onde se mantém constante a concentração inicial de substrato (S_o) e varia-se a concentração inicial de microrganismos (X_o).

Os valores de μ_s e μ_p , assim como os de v , diminuem com o aumento da relação S_o/X_o , em condições onde se mantém constante a concentração inicial de microrganismos (X_o) e varia-se a concentração inicial de substrato (S_o).

O efluente sintético, assim como o efluente Sadia causaram inibição ao lodo CASAN. O grau de inibição causado pelo efluente sintético foi de 62% para o valor de S_o igual a 150 mg $N-NH_4^+/L$, enquanto que para o efluente Sadia na mesma concentração (não diluído) a inibição foi mais forte e alcançou um valor de 85%.

A perda de amônia por volatilização não foi relevante, apresentando uma perda máxima de 2,5 %, para a faixa de concentração inicial de $N-NH_4^+$ testada: 23, 40, 60, 80 100 e 150 mg.L⁻¹ e velocidade de aeração entre 2-3 L.min⁻¹.

Em todos os testes de nitrificação realizados com lodo CASAN não aclimatado, os melhores valores obtidos para a velocidade específica (μ_s e μ_p) foi

para a relação $S_o/X_o = 0,0150$, que variaram, nos diferentes ensaios entre 1,15 a 1,56 $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot (\text{gSSV.L.h})^{-1}$.

Lodos de diferentes origens podem apresentar atividade diferenciada frente à concentração do substrato.

Apesar de ainda faltarem subsídios para o estabelecimento de parâmetros a serem adotados em testes de atividade específica de bactérias nitrificantes, os resultados obtidos no presente trabalho, representam um avanço neste sentido, onde: a melhor relação S_o/X_o para os testes de nitrificação utilizando-se lodo CASAN foi estabelecida; elaborou-se uma estratégia para a manutenção do pH, dentro da faixa em que ocorre a nitrificação, durante a realização do teste; foi possível verificar a inibição causada, tanto pelo efluente sintético, como pelo efluente Sadia, ao lodo CASAN; verificou-se que a perda de amônia por volatilização não chega a ser relevante nas condições em que os ensaios foram conduzidos.

7 . SUGESTÕES PARA ESTUDOS COMPLEMENTARES

- Realizar ensaios de nitrificação em batelada utilizando-se lodo CASAN e efluente sintético, mantendo-se a relação S_0/X_0 em 0,015 e variando-se S_0 e X_0 afim de verificar melhor o efeito da relação S_0/X_0 sobre os coeficientes cinéticos.
- Realizar mais ensaios de nitrificação utilizando-se lodo adaptado e água residuária natural com o intuito de se estudar os fatores de inibição das bactérias nitrificantes.
- Dar continuidade aos estudos cinéticos afim de melhor verificar o efeito da relação S_0/X_0 sobre a nitrificação.

8 . BIBLIOGRAFIA

- ABREU, L.M. de. (1994). Aspectos Microbiológicos de los procesos de nitrificación-denitrificación. In: **Taller y Seminario Latinoamericano de Tratamiento Anaeróbico de Aguas Residuales Anais** - Montevideo, p.55-63.
- APHA (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th edn, Am. Publ. Hlth. Assoc., Washington, D.C.
- AZEVEDO, B. (1993). The effect of ammonia loading and operating temperature on the biological nitrification and denitrification of high ammonia landfill leachate. *Canadian Journal of Civil Engineering*, v. 22, n. 3, p. 524-534.
- BITTON, G. (1994). *Wastewater microbiology*. John Wiley & Sons, inc. Publication.
- DURÁN, J. *Remoção de nutrientes (N e P)*. CBAB, MCT/CNPq, ALFA, FURB, CPGENQ / UFSC, material didático referente In: *IV curso de tratamento biológico de resíduos*. Florianópolis - SC, 1999.
- ECKENFELDER W. and MUSTERMAN J. (1995). Activated sludge treatment of industrial wastewater. *Water Environment*. vol. 46, p. 145-147.
- ENGEL, M.S. and ALEXANDRE M. (1958). Growth and metabolism of *Nitrosomonas europaea*. *Journal Bacteriology*, n. 76, p. 217-222.
- FIGUEROA, L.A. & SILVERSTEIN J. (1992). The effect of particulate organic matter on biofilm nitrification. *Wat. Environ. Res.*, v. 7, p. 728-730.
- FUNDAÇÃO do Meio Ambiente - FATMA. Legislação ambiental do Estado de Santa Catarina, atualizada em maio de 1995. Decreto N°. 14.250 de 05 de junho de 1981, regulamenta dispositivos da Lei N°. 5.793, de 15 de outubro de 1980, referentes à proteção e a melhoria da qualidade ambiental.
- GIANOTTI, E.P. *Desnitrificação em uma lagoa marginal do Rio Mogi-Guaçu, Lagoa do Inferno (estação ecológica de Jataí-Luiz Antônio - SP)*. Dissertação (Mestrado), Curso de pós-graduação em ecologia e recursos naturais da UFSCar, São Carlos, 1994.
- GLASS, C. & SILVERSTEIN, J. (1997). Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation. *Water Research*, v. 32, n. 3, p. 831-839.
- van de GRAAF, A.A.; de BRUIJN, P.; ROBERTSON, L.A.; JETTEN, M.S.M.; KUENEN, J.G. (1996). Autotrophic growth of anaerobic, ammonium-oxidising micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology (UK)*, v. 142, p. 2187-2196.

- GRUNDITZ, C.; GUMAELIUS L.; DALHAMMAR, G. (1998). Comparison of inhibition assays using nitrogen removing bacteria: application to industrial wastewater. *Water Research*, v. 32, n. 10, p. 2995-3000
- GRUNDITZ, C. & DALHAMMAR, G. (2001). Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Research*, v. 35, n. 2, p. 433-440.
- GUILLEN-JIMENEZ, E.; ALVAREZ-MATEOS, P.; ROMERO-GUZMAN, F.; PEREDAMARIN, J. (2000). Bio-mineralization of organic matter in dairy wastewater, as affected by pH. The evolution of ammonium and phosphates. *Water Research*, v. 34, n. 4, p. 1215-1224.
- GUPTA, S.K. & SHARMA (1996). Biological oxidation of high strength nitrogenous wastewater. *Water Research*, v. 30, n. 3, p. 593-600.
- GUTERSTAM, B.; FORSBERG, L.E.; BUCZYNSKA, A.; FRELEK, K.; RILHAITYTE, R.; RECZEK, L.; RUCEVSKA, I. (1998). Stensund wastewater aquaculture: studies of key factor for its optimization. *Ecological Engineering*, n. 11, p. 87-100.
- HAGOPIAN, D.S. & RILEY, J.G. (1998). A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural Engineering*, n. 18, p. 223-244.
- HELMER, C.; TROMM, C.; HIPPEN, A.; ROSENWINKEL, K.-H.; SEYFRIED, C.F.; KUNST, S. (19__). Single stage biological nitrogen removal by nitrification and anaerobic ammonium oxidation in biofilm systems. Institute of Sanitary Engineering and Waste Management, University of Hannover, Germany.
- HOROWITZ, A; SAMOCHA, T.M.; GANDY, R.L.; HOROWITZ, S. (2001). Toxicity tests to assess the effect of a synthetic tank liner on shrimp survival and nitrification in a recirculating superintensive production system. *Aquacultural Engineering*, n. 24, p. 91-105.
- JETTEN, M. SM.; WAGNER, M. FUERST, J.; van LOOSDRECHT, M.; KUENEN, G.; STROUS, M. (2001). Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. *Current Opinion in Biotechnology*, n.12 p. 283-288.
- JETTEN, M. SM; STROUS, M.; van de PAS-XCHOONEN, K.T.; SCHALK, J.; van DONGEN, U.G.J.M.; van de GRAAF, A.A.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; van LOOSDRECHT M.C.M.; KUENEN, J.G. (1999). The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews*, n. 22, p. 421-437.
- JONES, H.R. (1974). Pollution control in the dairy industry. Noyes Data Corporation, Park Ridge, New Jersey.
- JÖNSSON, K. (1999). Occurrence of nitrification inhibition in Swedish municipal wastewaters. *Water Research*, v. 34, n. 9, p. 2455-2462.
- KONG, Z.; VANROLLEGHEM, P.; WILLEMS, P. VERSTRAETE, W. (1996). Simultaneous determination of inhibition kinetics of carbon oxidation and nitrification with a respirometer. *Water Research*, v. 33, n. 4, p. 825-836.

- KOOPS, H. & POMMERENING-RÖSER, A. (2001). Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology*, n. 37, p. 1-9.
- LIU, Y. (2000). The S_0/X_0 dependent dissolved organic carbon distribution in substrate-sufficient batch culture of activated sludge.
- METCALF & EDDY. *Wastewater Engineering - Treatment disposal reuse*. Ed. McGraw-Hill Publishing, 1991.
- MEYERHOF, O. (1917). Untersuchungen über den atmungsvorgang nitrifizierenden bakterien. *Pflügers Archges Physiol*. n. 166 p. 240-280
- MORENO, G.; CRUZ, A.; BUITRÓN, G. Influence of S_0/X_0 ratio on anaerobic biodegradability test. In: V TALLER Y SEMINARIO LATINOAMERICANO TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES, 1998, Chile.
- MUIR, P. (2001). <http://www.orst.edu/instruction/bi301/eutrophi.htm>. 18/10/2001.
- NOTO, K.; OGASAWARA, T.; SUWA, Y.; SUMINO, T. (1998). Complete oxidation of high concentration of ammonia by retaining incompatible nitrification activities in three-vessel system. *Water Research*, v. 32, n. 3, p. 769-773.
- OKABE, S.; OOZAWA, Y.; HIRATA, K.; WATANABE, Y. (1996). Relation between population dynamics of nitrifiers in biofilms and reactor performance at various C:N ratios. *Water Research*, v. 30, n. 7, p. 1563-1572.
- OLIVEIRA, P.A.V. *Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos*. Concórdia: EMBRAPA/CNPISA. Documento 27, 1983, 188p.
- PELISSER, M.L. *Remoção microbiológica de nitrogênio de águas residuárias da indústria frigorífica*. Dissertação (mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Eng. Química da UFSC - Florianópolis - SC. p. 104. 2001.
- EPA - U.S. Environmental Protection Agency- Technology Transfer. Process design manual for nitrogen control.. Washington - U.S.A., 1975.
- REGINATTO, V. & SOARES, H. Remoção de nutrientes de efluentes de processos agro-industriais para fins de reutilização. Projeto de pesquisa apresentado ao CNPq. Florianópolis, 2000
- SAWYER, C.N.; WILD, H.E. Jr and McMAHON, (1973). Nitrification and denitrification facilities, Wastewater treatment. *Prepared for the EPA Technology Transfer Program*.
- SHEINTUCH, M.; TATTALOVSKY, B.; NARKIS, N.; REBHUN, M. (1995). Substrate inhibition and multiple states in a continuous nitrification process. *Water Research*, v. 29, n. 3, p. 953-963.

SHIKOWSKI, D.M. & MAVINIC, D.S. (1998). Biological treatment of a high ammonia leachate: influence of external carbon during initial startup. *Water Research*, v. 32, n. 8, p. 2533.

SOARES, H.M. & HIRATA, Y.S. (1999). Práticas de laboratório III - CURSO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS. CBAB MTC/CNPq CPGENQ/UFSC CDB. Florianópolis-SC.

STROUS, M.; van GERVEN, E.; ZHENG, P.; KUENEN, J.G. JETTEN, M.S.M. (1997). Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (anammox) process in different reactor configurations. *Water Research*, v. 31, n. 8, p. 1955-1962.

SUZUKI, L. et al., (1974). Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacterio.* n. 120, p. 556-558.

TARTAKOVSKY, B.; LOTLAR, E.; SHEINTUCH, M. (1996). Coupled nitrification-denitrification processes in a mixed culture of coimmobilized cells: analysis and experiment. *Chemical Engineering Science*, v. 51, n. 10, p. 2327-2336.

TIEDJE, J.M. (1986). Denitrification. *Methods of Soil Analysis*, part 2. Chemical and Microbiological Properties - Agronomy Monograph, n. 9, 2nd Edition, USA.

TOKUDA, M.; FUJIWARA, Y.; KIDA, K. (1999). Pilot plant test for removal of organic matter, N and P from whisky pot ale. *Process Biochemistry*, n. 35, p. 267-275.

VAZOLLER, R.F. (1988). *Microbiologia de lodos ativados*. Série Manuais / Secretaria do Meio Ambiente. CETESB, São Paulo, 23p.

VOGEL, A. I. (1981). *Análise Inorgânica Quantitativa*. Quarta edição., Rio de Janeiro, Guanabara.

von SPERLING, M.V. (1997). *Lodos ativados - Princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. v. 4., Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais.

_____. (1996). Princípios básicos do tratamento de esgotos. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. v. 4., Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais.

WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. (1991). Orris E. Albertson (Chairman). Nutrient Control. Manual of practice N°. FD-7. Prepared by task force on nutrient control.

WHAT is Eutrophication? . <http://www.fwr.org/eutract.htm>, 2001. 18/10/2001