

Capítulo VI

TRATAMENTO DO DIGESTATO Remoção de Nitrogênio

Marcelo Bortoli
Marina Celant de Prá
Airton Kunz

Introdução

O digestato muitas vezes é pobre em matéria orgânica biodegradável, mas acaba por ser um efluente rico em nitrogênio e fósforo, uma vez que a maior parte da matéria orgânica biodegradável já foi consumida no processo de digestão anaeróbia. Com isso, quando o uso agrícola for limitado ou inadequado, esse efluente rico em nutrientes apresenta grande potencial de impacto negativo ao meio ambiente.

Os problemas associados ao excesso de nutrientes no meio aquático são preocupantes. Elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal podem ter graves implicações ecológicas como, por exemplo, influenciar fortemente a dinâmica do oxigênio dissolvido no meio, uma vez que para oxidar 1 mg de NH_3 são necessários 4,6 mg de O_2 .

Além disso, quando em ambientes aquáticos, o nitrogênio e o fósforo podem causar a eutrofização, tanto de ambientes lênticos como lóticos, bem como o acúmulo de nutrientes no solo que se não estagnados

no lançamento, entram em um círculo vicioso de difícil recuperação ambiental (Hauck et al., 2016).

Sob o ponto de vista de saúde pública, os compostos de nitrogênio nos seus diferentes estados de oxidação podem constituir graves riscos para a saúde humana. O nitrato pode causar metahemoglobinemia (“síndrome do bebê azul”), fruto da redução do NO_3^- a NO_2^- por bactérias do trato intestinal e consequente oxidação do Fe^{2+} a Fe^{3+} da hemoglobina, formando metahemoglobina que é incapaz de se ligar ao O_2 , impedindo assim as trocas gasosas no organismo humano (Knobeloch et al., 2000).

O nitrito ainda pode se combinar com aminas secundárias, provenientes da dieta alimentar, formando nitrosaminas, que apresentam conhecido poder carcinogênico e mutagênico (Hu et al., 2012; Sadeq et al., 2008). A Tabela 1 apresenta resumidamente os principais impactos que os nutrientes do digestato podem causar quando lançados inadequadamente no ambiente.

Tabela 1. Impactos causados pelas formas mais comuns do nitrogênio em efluentes líquidos.

Estado de oxidação	Efeito no meio	Consequência
Formas reduzidas como amônia e amônio	Aumento do requisito de oxigênio	A oxidação da amônia que é descarregada no ambiente aquático diminui a concentração do O_2 no meio líquido
	Toxicidade aquática	A amônia na forma não iônica é tóxica para muitos organismos aquáticos
Formas oxidadas como nitrito e nitrato	Efeitos na saúde humana	Nitrito pode causar metahemoglobinemia, conhecida por “síndrome do bebê azul”
	Eutrofização	Os nutrientes causam excessivo crescimento de algas que reduzem o O_2 durante a noite e produzem compostos orgânicos que causam odor e sabor à água

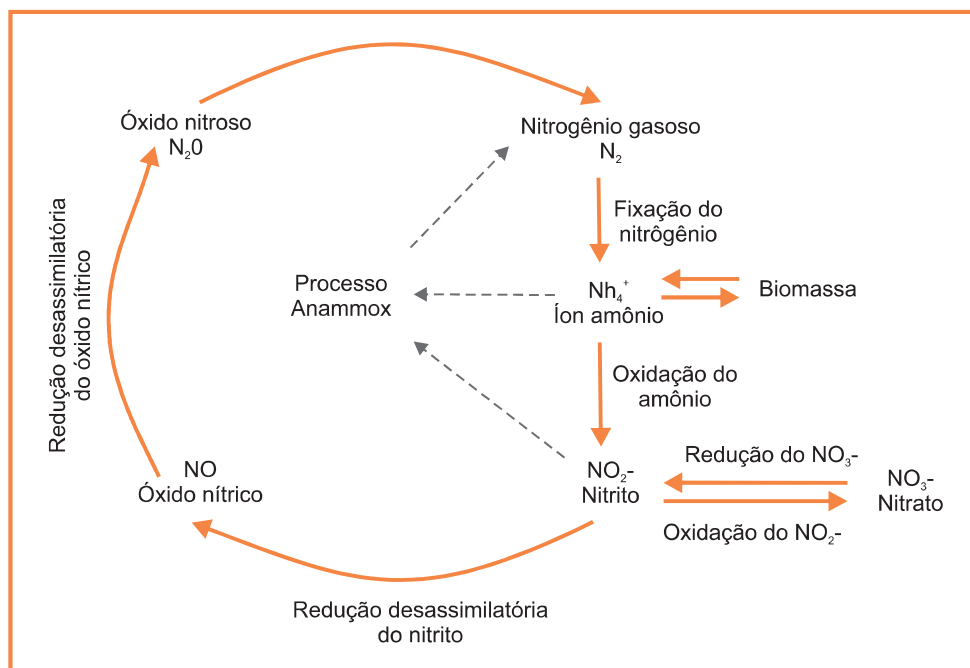
Diante desse cenário e frente aos riscos ambientais, os digestatos necessitam atender a rigorosos padrões de concentração de nitrogênio e fósforo para serem descartados ao final do tratamento. Atualmente, poucos são os sistemas de tratamento que contemplam a remoção de nutrientes e, quando contemplam, são associados a sistemas de lodos ativados onde, no melhor cenário, o nitrogênio é somente convertido a nitrato, sem se preocupar com o impacto ambiental que este pode causar.

As exigências quanto aos critérios de manejo de efluentes de biodigestores são crescentes, tornando-os significativamente mais restritivos e acarretando a necessidade da evolução nos processos de tratamentos de efluentes que conduzam a uma redução satisfatória na concentração de nutrientes (Brasil, 2011; Fatma, 2014).

O nitrogênio no digestato e suas principais transformações químicas

O nitrogênio é um nutriente que está presente no digestato sob duas principais formas e estados de oxidação, sendo o nitrogênio orgânico dissolvido e particulado e o nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$).

O ciclo do nitrogênio é realizado por uma complexa combinação entre vários microrganismos e reações químicas. Na Figura 1, estão representadas as transformações dos compostos nitrogenados no ciclo do nitrogênio, resultantes do metabolismo microbiano nos processos de fixação, nitrificação, redução desassimilatória do nitrito, desnitrificação e Anammox (do inglês *anaerobic ammonia oxidation bacteria*).



Fonte: Adaptado de Ye; Thomas (2001).

Figura 1. Representação esquemática das reações envolvidas no ciclo do nitrogênio.

Durante o ciclo descrito na Figura 1, o nitrogênio atravessa diversas transformações, alterando seu estado de oxidação, da forma mais reduzida à forma mais oxidada. Podemos observar na Tabela 2 as diferentes espécies químicas do nitrogênio que aparecem no digestato e outros efluentes.

Tabela 2. Impactos causados pelas formas mais comuns do nitrogênio em efluentes líquidos.

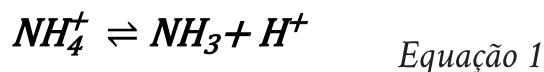
Espécie química	Descrição	Número de oxidação do nitrogênio (Nox)	Observação
$\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$	Nitrogênio amoniacal total (NAT)	-3	Independente do pH do meio
NH_3	Amônia ou amônia livre	-3	Varia conforme o pH do meio
NH_4^+	Íon amônio	-3	Varia conforme o pH do meio
$\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+ + \text{N}_{\text{orgânico}}$	Nitrogênio total kjeldahl (NTK)	Indefinido	Nitrogênio amoniacal total somado ao nitrogênio presente na matéria orgânica
NO_2^-	Nitrito	+3	Gerado através da oxidação do NAT
NO_3^-	Nitrato	+5	Gerado através da oxidação do NO_2^-

A principal fonte de nitrogênio amoniacal é proveniente de reações metabólicas de bactérias que degradam substâncias orgânicas, principalmente a ureia, gerando $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ enquanto que o nitrogênio gasoso (N_2) pode ser convertido em outra forma, principalmente NH_3 , por bactérias fixadoras de nitrogênio (Hocking, 1985).

A amônia formada pode ser oxidada anaerobiamente (junto com o nitrito) pelas bactérias com atividade Anammox ou oxidada a nitrito por processos aeróbios, o que ocorre com certa frequência em efluentes na presença de oxigênio. O nitrito ainda pode ser oxidado a nitrato ou diretamente convertido a nitrogênio gasoso via óxido nítrico e nitroso. O nitrato é a forma mais oxidada do nitrogênio na natureza e é frequentemente encontrado em rios e lagos onde há incorporação do oxigênio oriundo da movimentação das águas (Galloway et al., 2008; Ye; Thomas, 2001).

O nitrogênio na forma amoniacal ainda pode ser assimilado pelas bactérias ou oxidada a nitrito, o que ocorre com certa frequência em efluentes na presença de oxigênio. Outras reações do ciclo microbiológico do nitrogênio, que é apresentado na Figura 1, e que ocorrem comumente em efluentes com concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal são a oxidação do nitrito a nitrato e redução desassimilatória do nitrato a nitrito (Bailey et al., 2002; Gerardi, 2003; Ye; Thomas, 2001).

O pH e a temperatura influenciam a forma em que encontramos o nitrogênio no digestato. A relação entre a concentração das duas formas de nitrogênio amoniacal, amônia e amônio e a relação entre a concentração de nitrito e ácido nitroso variam com o pH e a temperatura do meio. Os equilíbrios de dissociação entre as formas mencionadas seguem descritos nas Equações 1 e 2.



Esse equilíbrio entre as concentrações das formas de nitrogênio amoniacal em meio aquoso a 25°C ocorre em pH de 9,25, onde se observa 50% de ambas as formas. Em pH abaixo do ponto de equilíbrio, há a predominância do íon amônio. Já em valores de pH acima de 9,25, o equilíbrio é deslocado para formação de amônia, como pode ser observado na Figura 2.

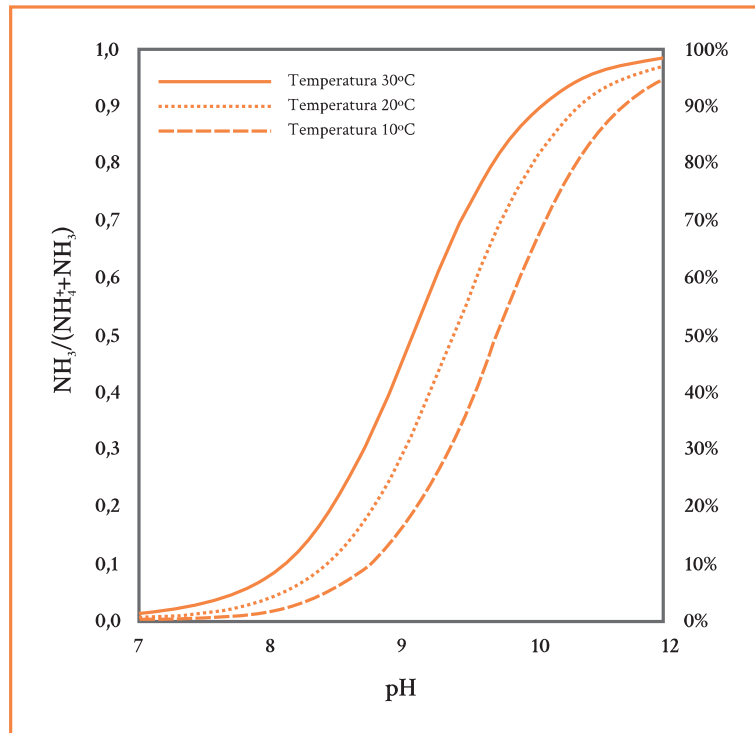


Figura 2. Influência da temperatura e do valor do pH no equilíbrio das espécies NH_3 e NH_4^+ .

Para calcular as concentrações de amônia e amônio a qualquer pH e temperatura, pode-se utilizar a Equação 3.

$$[\text{N-NH}_3] = \frac{[\text{NAT}]}{(1 + K_{d, \text{NH}_3} \cdot 10^{\text{pH}})} \quad \text{Equação 3}$$

Sendo:

$$K_{d, \text{NH}_3} = e^{\frac{6344}{273+T}} \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

T = Temperatura do meio em °C

$[\text{N-NH}_3]$ = Concentração de amônia

$[\text{NAT}]$ = Nitrogênio amoniacal total

pH = Potencial hidrogeniônico do meio

Da mesma forma, a formação do ácido nitroso é função da temperatura e pH do meio. Na Figura 3, observa-se as concentrações de NO_2^- e HNO_2 variando com o pH e a temperatura.

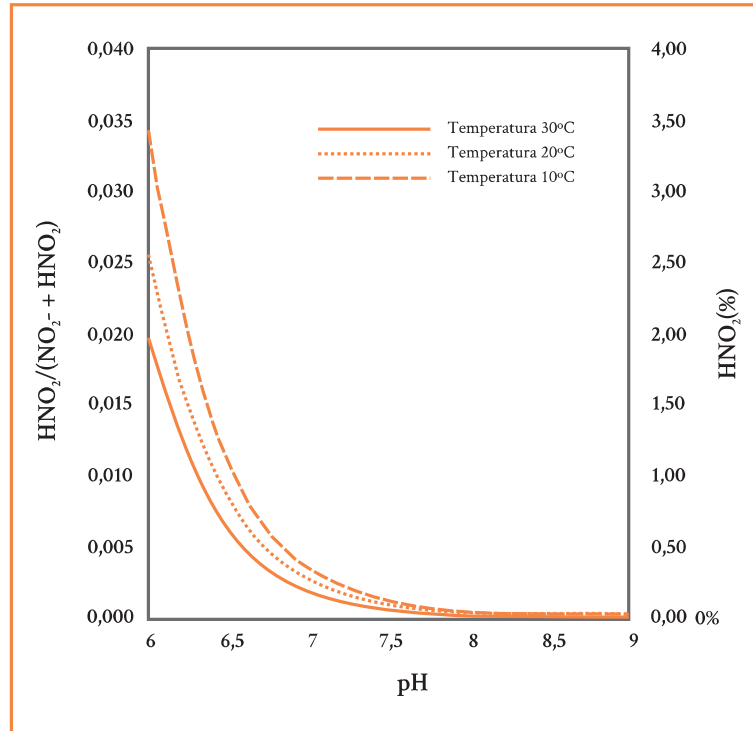


Figura 3. Influência da temperatura e do valor do pH no equilíbrio das espécies NO_2^- e HNO_2 .

Para calcular as concentrações de NO_2^- e HNO_2 a qualquer pH e temperatura, pode-se utilizar as Equações 5 e 6.

$$[N\text{-HNO}_2] = \frac{[N\text{-NO}_2]}{(1 + K_{d, \text{HNO}_2} \cdot 10^{\text{pH}})} \quad \text{Equação 5}$$

Sendo:

$$K_{d, \text{HNO}_2} = e^{\frac{-2300}{(273+T)}} \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

T = Temperatura do meio em °C

$[N-HNO_2]$ = Concentração de nitrogênio na forma de ácido nitroso

$[N-NO_2^-]$ = Concentração de nitrogênio na forma de nitrito

pH = Potencial hidrogeniônico do meio

Saber as concentrações reais de NH_3 e HNO_2 são de extrema importância para o controle dos processos biológicos. Primeiramente, acredita-se que tanto amônia como ácido nítrico são os reais doadores de elétrons, ou seja, são efetivamente os substratos envolvidos nos processos de oxidação do nitrogênio por microrganismos em meio aquoso, pois demandam menos energia para serem transportados para dentro da célula quando comparadas com as formas ionizadas (Wiesmann et al., 2007).

Além de substrato, a importância de conhecer as concentrações de NH_3 e HNO_2 é relacionada com o potencial tóxico dessas duas espécies de nitrogênio aos microrganismos oxidadores de amônia e nitrito (De Prá et al., 2016).

Dados demonstraram que mesmo em pH próximo da neutralidade, dependendo da concentração de nitrogênio amoniacal e nitrito do meio, pode existir inibição de microrganismos pela presença de amônia ou ácido nitroso em excesso (Anthonisen et al., 1976).

Estudo de caso 1 – Frações de nitrogênio amoniacal em efluentes

Um biodigestor operando em fluxo contínuo é alimentado com $250 \text{ m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$ de dejetos de suínos. O digestato desse biodigestor apresenta a concentração de NAT de $1.450 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e está à temperatura de $26 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH 8,4. Considerando o equilíbrio entre amônia e amônio, determine a distribuição das frações de nitrogênio amoniacal, conforme o equilíbrio químico entre as espécies.

- $[NAT] = 1.450 \text{ mg.L}^{-1}$
- “ $T = 26 \text{ }^\circ\text{C}$ ”
- “ $\text{pH} = 8,4$ ”

Utilizando as Equações 3 e 4 e substituindo a Equação 4 na Equação 3 temos a Equação 7, onde podemos calcular a concentração de nitrogênio na forma de amônia presente na amostra.

$$[N-NH_3] = \frac{[NAT]}{\left(1 + e^{\frac{6344}{273+T}} \cdot 10^{\text{pH}}\right)} \quad \text{Equação 7}$$

$$[N-NH_3] = \frac{1450}{\left(1 + e^{\frac{6344}{(273+26)}} \cdot 10^{-8,4}\right)}$$

$$[N-NH_3] = \frac{1450}{(1 + 16,39 \cdot 10^8 \cdot 10^{-8,4})}$$

$$[N-NH_3] = \frac{1450}{(1 + 6,525)}$$

$$[N-NH_3] = \frac{1450}{7,525}$$

$$[N-NH_3] = 192,7 \text{ mg.L}^{-1}$$

$$[N-NH_3] = \frac{192,7}{1450} \cdot 100 = 13,29\%$$

$$[N-NH_4^+] = \frac{1450 - 192,7}{1450} \cdot 100 = 86,71\%$$

Estudo de caso 2 – Concentração de ácido nitroso livre

Um reator de lodos ativados, tratando digestato de um biodigestor, encontra-se à temperatura de 33,4 °C e pH 6,42. Ao coletar uma amostra do meio líquido do reator, observou-se a concentração de 572,3 mg.L⁻¹ de N-NO₂. Com base nesses dados, calcule a concentração de HNO₂ presente no meio no momento da coleta.

- [NO₂-] = 572,3 mg.L⁻¹
- T = 33,4 °C
- pH = 6,42

Utilizando as Equações 5 e 6 podemos calcular a concentração de HNO₂ na amostra coletada. Substituindo a Equação 6 na Equação 5, temos a Equação 8.

$$[N-HNO_2] = \frac{[N-NO_2]}{\left(1 + e^{\frac{-2300}{273+T}} \cdot 10^{pH}\right)} \quad \text{Equação 8}$$

$$[N-HNO_2] = \frac{[N-NO_2]}{\left(1 + e^{\frac{-2300}{273+T}} \cdot 10^{pH}\right)}$$

$$[N-HNO_2] = \frac{572,3}{\left(1 + e^{\frac{-2300}{(273+33,4)}} \cdot 10^{6,42}\right)}$$

$$[N-HNO_2] = \frac{572,3}{(1 + 5,495 \cdot 10^{-4} \cdot 10^{6,42})}$$

$$[N-HNO_2] = \frac{572,3}{(1 + 1445)}$$

$$[N-HNO_2] = \frac{572,3}{1446}$$

$$[N-HNO_2] = 0,3958 \text{ mg.L}^{-1}$$

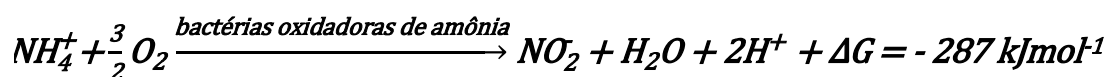
Tecnologias consolidadas para remoção biológica de nitrogênio

Atualmente existem inúmeras alternativas na remoção de compostos nitrogenados tanto biológicas como físico-químicas. Sabe-se que os processos biológicos normalmente são de baixo custo e demandam menos mão de obra do que os demais, motivo pelo qual têm sido amplamente utilizados para o tratamento de digestatos.

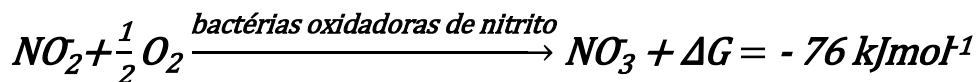
Dentre os principais processos biotecnológicos para remoção de nitrogênio, cita-se: a nitrificação-desnitrificação, conhecido como processo convencional, do qual os primeiros estudos datam de 1890 (Khin; Annachhatre, 2004); processo de nitrificação parcial, uma das alternativas da nitrificação propostas mais recentemente (Hellings et al., 1998); processo Anammox, oxidação anaeróbia do íon amônio (Mulder et al., 1995); e processos combinados de desamonificação, que visam combinar os dois últimos processos em um único reator (Third et al., 2001).

Processo de nitrificação

A nitrificação convencional é uma reação microbiológica de oxidação do nitrogênio com o oxigênio como acceptor final de elétrons. Essa reação acontece em duas etapas. A primeira etapa é onde bactérias oxidadoras de amônia (BOAs) oxidam N-NH₃ (-III) a N-NO₂⁻ (III) com hidroxilamina como um produto intermediário (Equação 9). O gênero nitrossomonas é referenciado muitas vezes na literatura como sendo o gênero de BOAs mais comum encontrado no meio ambiente. Na segunda etapa, bactérias oxidadoras de nitrito (BONs) oxidam N-NO₂⁻ (III) a N-NO₃⁻ (V) (Equação 10). Nessa etapa, o gênero de BONs mais comumente encontrado no meio ambiente é o nitrobacter (Grady et al., 2011).



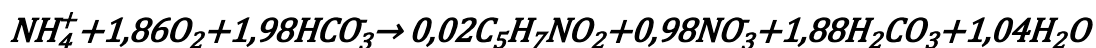
Equação 9



Equação 10

O crescimento das BOAs é mais favorecido frente às BONs. Isso comprova que o crescimento celular é proporcional à energia liberada na reação e em função de que a reação de oxidação da amônia pode ser, aproximadamente, 3,8 vezes termodinamicamente mais favorecida do que a oxidação do nitrito (Wiesmann et al., 2007).

Segundo Henze (2010), a equação que determina a reação da oxidação da amônia a nitrato, como sendo uma única etapa, é apresentada na Equação 11.

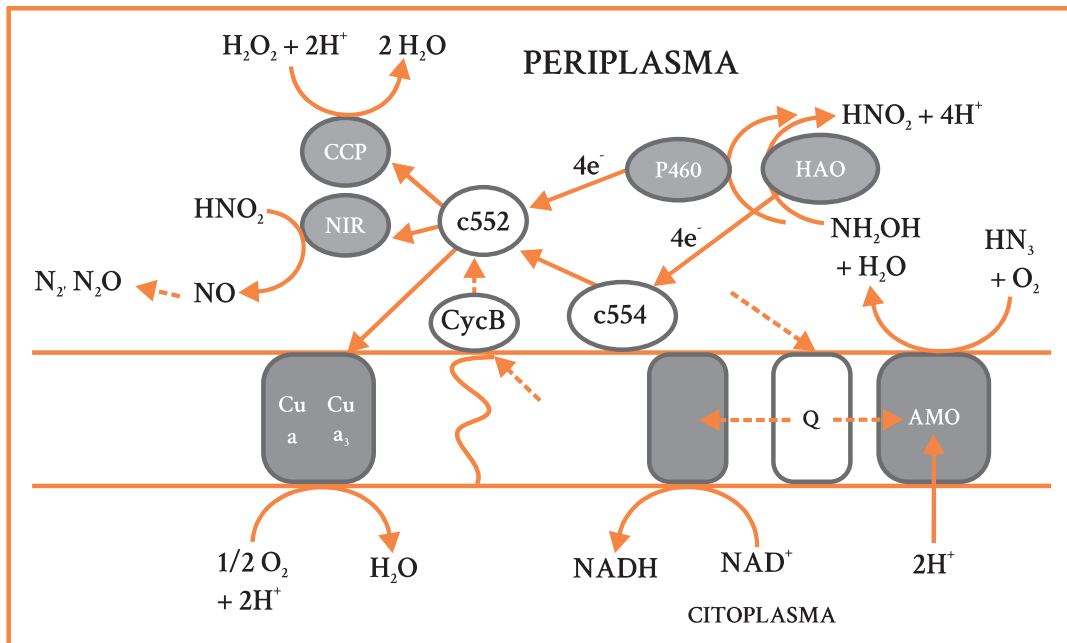


Equação 11

Bioquímica da nitrificação

Nas diferentes etapas da oxidação da N-NH₃ (Nox -3) a N-NO₃⁻ (Nox +5), as reações são catalisadas por enzimas específicas. As reações mais complexas ocorrem na primeira etapa, a nitritação ou oxidação da N-NH₃ a N-NO₃⁻, onde aparecem intermediários como NH₂OH (hidroxilamina). Duas enzimas que participam dessas reações são as mais importantes: a amônia mono-oxigenase, que age na conversão de NH₃ para NH₂OH, e a hidroxilamina oxidoreductase, que age na conversão de NH₂OH para HNO₂.

Existem outras enzimas catalisando reações na região da parede celular das bactérias oxidadoras de amônia, conforme representado na Figura 4, como a nitrito redutase, que age na redução do HNO₂ a NO, a óxido nítrico redutase, que catalisa a redução do NO a N₂O, e por fim a óxido nitroso redutase, que catalisa a reação de redução do N₂O a N₂ (Hooper et al., 1997); (Klotz; Stein, 2008); (Bock; Wagner, 2013).



Fonte: Adaptado de HOOPER et al., 1997(HOOPER et al., 1997).

Figura 4. Componentes do sistema de oxidação de nitrogênio e transporte de elétrons em Nitrosomonas. AMO – amônia mono-oxigenase; HAO – hidroxilamina oxidoreductase; P460 – citocromo P460; Q – ubiquinona-8; CycB – tetrahemo citocromo c da membrana; c552 – citocromo c552; ccp – dihemo c553 peroxidase; NiR – nitrito reductase; NOR óxido nítrico reductase; N2OR – óxido nitroso reductase. As linhas sólidas representam mecanismos conhecidos e as linhas pontilhadas representam mecanismos não completamente conhecidos, portanto, hipotéticos.

Em uma segunda etapa, apresentada na Figura 5, ocorre a oxidação do nitrito-N (III) a nitrato-N (V), ou seja, nitratação. Nesta etapa, participam as bactérias do gênero *Nitrobacter*. A reação é catalisada pela enzima nitrito oxidoreductase (NXR). Essa enzima se encontra ligada na parte interna da parede celular da célula e age tanto na oxidação do nitrito a nitrato como na redução do nitrato a nitrito. Portanto, a reação é reversível.

Outra enzima de papel importante nessa reação é a HCO (hemo-cobre oxidase) do citocromo a3, grupo de proteínas, contendo um átomo de cobre no grupo hemo, que fazem parte do sistema transportador de elétrons das mitocôndrias e agem como coenzimas intermediárias da cadeia respiratória celular (Hooper, et al. 1997 (Hooper et al., 1997); Klotz e Stein 2007(Klotz; Stein, 2008); García-Horsman et al., 1994 (García-Horsman et al., 1994)).

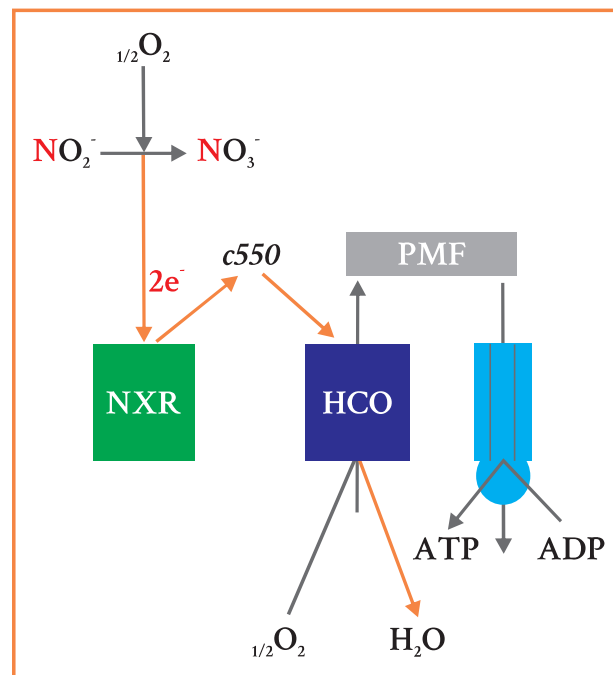


Figura 5. Componentes do sistema da reação de nitratação e suas enzimas correspondentes. NXR – nitrito oxidoreductase; c550 – citocromo c550; HCO – hemo-cobre oxidase; PMF – força motriz de prótons; ATP – adenosina tri-fosfato; ADP – adenosina di-fosfato.

De fato, sabe-se que as bactérias nitrificantes são autotróficas, portanto elas não têm a capacidade de incorporar compostos orgânicos exógenos por obterem energia da oxidação de compostos inorgânicos. Muitas das equações que definem a cinética de crescimento das bactérias nitrificantes não levam em consideração que o dióxido de carbono é a única fonte de carbono necessária. Ainda, a taxa máxima de crescimento das nitrificantes é muito menor quando comparado à taxa de crescimento das heterotróficas (Grady et al., 2011).

Apesar de o processo de nitrificação ser autotrófico, também pode ocorrer pela ação de bactérias heterotróficas, que utilizam o carbono orgânico e oxidam a amônia a nitrato, como *Arthrobacter* e *Thiosfera pantotropa* (Bitton, 2005).

Oxigênio dissolvido, pH e o crescimento da biomassa nitrificante

A taxa de crescimento da biomassa nitrificante é baixa e vai depender das condições de crescimento. Vários são os parâmetros que influenciam na performance de nitrificação de populações de bactérias nitrificantes, tais como oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura (T), tempo de retenção hidráulico (TRH) e tempo de retenção celular (TRC). Destes, OD e pH são os mais importantes (Wiesmann et al., 2007).

O OD deve ser monitorado em um reator onde se objetiva a nitrificação completa, principalmente por poder apresentar uma forma de seleção das diferentes populações. Isso ocorre naturalmente, independente do objetivo.

Sabe-se que as populações de bactérias oxidadoras de nitrito são facilmente inibidas pela limitação do oxigênio dissolvido, tal acontecimento é evidenciado na Tabela 3, onde se percebe que a razão da concentração celular da população de bactérias oxidadoras de amônia em relação às bactérias oxidadoras de nitrito (X_{BOA}/X_{BON}) aumenta consideravelmente quando é restringido o OD do meio (Canziani et al., 2006).

Tabela 3. Parâmetros calculados e medidos das populações de bactérias oxidadoras de amônia e bactérias oxidadoras de nitrito. μ_{BOA} - velocidade específica de crescimento da população de oxidadoras de amônia; μ_{BON} - velocidade específica de crescimento da população de oxidadoras de nitrito; OD - oxigênio dissolvido no meio.

μ_{BOA} (d ⁻¹)	μ_{BON} (d ⁻¹)	X_{BOA}/X_{BON}	Observações
0,625	0,555	2,96	OD > 2,0 mg.L ⁻¹
0,450	0,129	16,54	OD entre 0 mg.L ⁻¹ - 0,5 mg.L ⁻¹
0,468	0,192	25,02	
0,474	0,256	42,43	
0,632	0,395	31,66	OD entre 0,5 mg.L ⁻¹ - 1,5 mg.L ⁻¹
0,582	0,275	18,97	

Fonte: Adaptado de (Canziani et al., 2006).

Quanto ao requisito de oxigênio no processo de oxidação aeróbia da amônia a NO₃⁻, observando a Equação 11, nota-se que são necessários 1,86 mols de oxigênio para a completa oxidação a nitrato de 1 mol de amônio. Convertendo os valores em mols para massa em gramas, obtém-se que a nitrificação completa requer 4,25 g de oxigênio por grama de N-NH₄⁺.

Para o cálculo de requisito de oxigênio em projetos de reatores aeróbios objetivando a nitrificação a nitrato, é necessário se conhecer a concentração e a carga de nitrogênio na forma de amônio na entrada do reator aeróbio.

Estudo de caso 3 - Requisito diário de oxigênio (Rd_{O_2})

Um biodigestor gera $178 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ de digestato, e o digestato é encaminhado para um reator aeróbio nitrificante. Conhecendo a concentração de nitrogênio amoniacal total, que é $1.385 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e DBO (demanda bioquímica de oxigênio) $3.630 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, calcule o requisito diário de oxigênio necessário no reator para que ocorra a oxidação de todo nitrogênio na forma de amônio para nitrato.

Inicialmente, precisa-se saber a carga de nitrogênio na entrada do reator aeróbio, portanto:

$$C = [NAT] \cdot Q \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

c = carga de nitrogênio ($\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)

$[NAT]$ = nitrogênio amoniacal total ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

Q = vazão ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$)

Utilizando a Equação 12 podemos calcular a carga diária de nitrogênio na entrada do reator aeróbio.

$$C = [NAT] \cdot Q$$

$$C = 1385 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}} \cdot 178 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

Considerando:

$$\frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{\text{Kg}}{\text{m}^3}$$

$$C = 246,5 \text{ kg} \cdot \text{d}^{-1}$$

A partir do valor de carga de nitrogênio, podemos calcular o requisito diário de oxigênio (Rd_{O_2}) no reator aeróbio, em função da Equação 12.

$$Rd_{O_2 \rightarrow NAT} = 246,5 \frac{\text{kgNAT}}{\text{d}} \cdot 4,25 \frac{\text{O}_2}{\text{NAT}}$$

$$Rd_{O_2 \rightarrow NAT} = 1047,63 \frac{\text{kgO}_2}{\text{d}}$$

Analogamente, o cálculo do requisito de oxigênio para oxidação da matéria orgânica pode ser realizado. O cálculo do requisito de oxigênio é igual à carga diária de DBO.

$$C = 3630 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}} \cdot 178 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

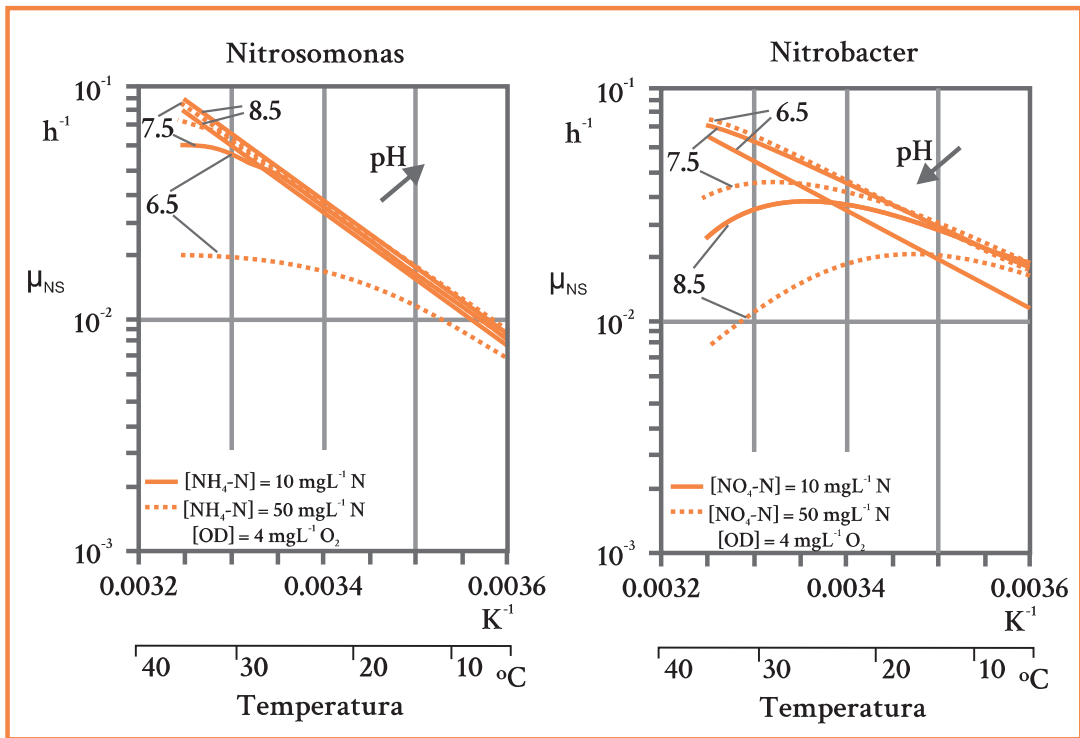
$$c = 646,1 \frac{\text{kg}}{\text{d}}$$

$$Rd_{O_2 \rightarrow DBO} = 646,1 \frac{\text{kgO}_2}{\text{d}}$$

Além do requisito de oxigênio necessário para a completa oxidação do nitrogênio no processo de nitrificação, o pH tem significativa importância quanto ao crescimento celular e estabilidade do processo de nitrificação, conforme se observa na Figura 6.

Na operação de reatores nitrificantes, além de reger o equilíbrio das formas de amônia (NH_3) e amônio (NH_4^+), e nitrito (NO_2^-) e ácido nitroso (HNO_2), como já foi visto anteriormente, o pH contribui com a disponibilização dos reais substratos do processo.

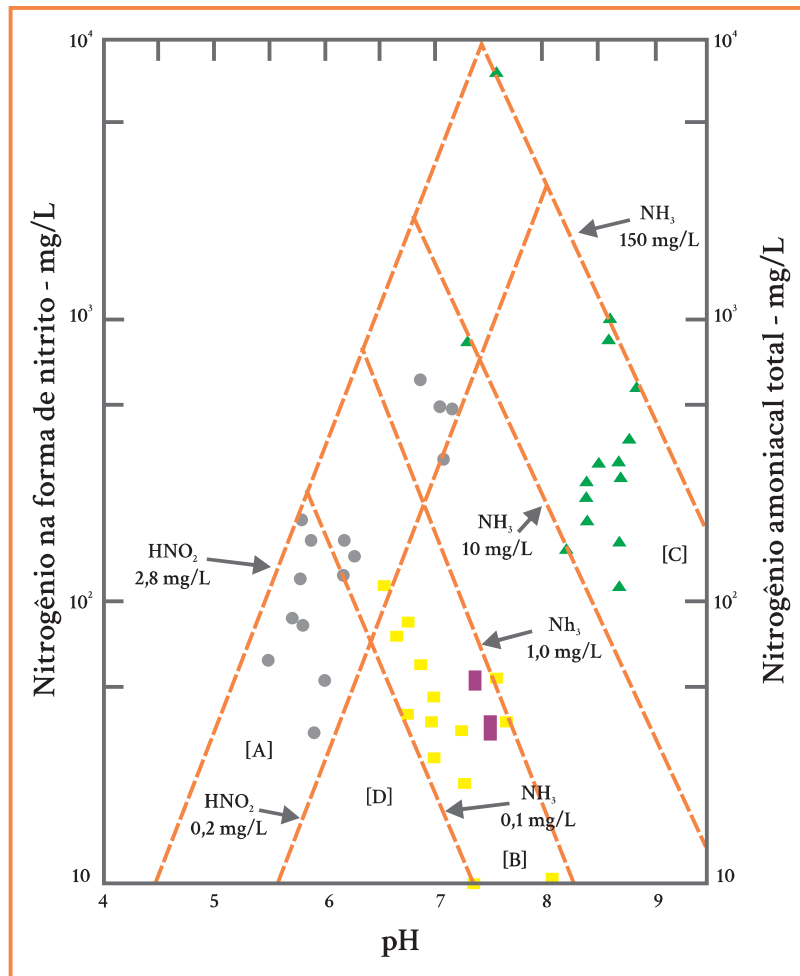
Somente amônia e ácido nítrico são efetivamente os substratos. Isso porque a célula gasta menos energia para transportar essas formas pela parede celular do que as formas ionizadas amônio e nitrito (Wiesmann et al., 2007).



Fonte: Adaptado de (Wiesmann et al., 2007).

Figura 6. Velocidade de crescimento específica das bactérias do gênero *Nitrosomonas* (μ_{NS}) e *Nitrobacter* (μ_{NB}) em função do pH, da Temperatura e Concentração do meio de alimentação.

O efeito inibitório do pH pode ser observado mesmo em valores próximos da neutralidade, dependendo da concentração de amônia total e nitrito do meio. O efeito inibitório da amônia e do ácido nitroso nas populações de *Nitrosomonas* (principal população oxidadoras de amônia) e *Nitrobacters* (principal população oxidadoras de nitrito), em função da variação do pH, pode ser observada na Figura 7.



Fonte: Adaptado de Anthonisen et al. (1976).

Figura 7. Comportamento das bactérias do gênero Nitrosomonas e Nitrobacter em diferentes faixas de concentração de amônia livre e ácido nitroso em função do pH.

Importante destacar na Figura 7 que a área identificada [A], entre $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ a $2,8 \text{ mg.L}^{-1}$, indica o início da inibição por HNO_2 , tanto para bactérias oxidadoras de amônia como oxidadoras de nitrito, sendo que acima de $2,8 \text{ mg.L}^{-1}$ de HNO_2 a inibição é completa. Na área [B], $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ a $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de NH_3 , identifica o início de inibição das bactérias oxidadoras de nitrito e na área [C], 10 mg.L^{-1} a 150 mg.L^{-1} de NH_3 , identifica o início da inibição das bactérias oxidadoras de amônia (Anthonisen et al., 1976).

Sabendo-se que o pH tem grande importância na manutenção do processo de nitrificação, seu controle é imprescindível. Para minimizar as oscilações no pH se faz necessária uma quantidade mínima de alcalinidade, que agirá aumentando o poder de tamponamento do meio.

A necessidade de alcalinidade pode ser determinada através da estequiometria da reação de oxidação do NAT. A necessidade estequiométrica de bicarbonato (HCO_3^-) é 2 mols para oxidação e 1 mol de NH_4^+ , que corresponde a 4,36 gramas de HCO_3^- por grama de NAT (Galí et al., 2007).

Uma vez que a metodologia analítica para alcalinidade total em águas e efluentes determina a alcalinidade em carbonato de cálcio (CaCO_3) (Rice et al., 2012), é necessário convertermos o valor da alcalinidade necessária em HCO_3^- para Ca_2CO_3 . Sendo assim, a necessidade de alcalinidade para oxidação completa de um grama de NAT é 7,14 gramas de CaCO_3 .

Estudo de caso 4 - Cálculo do requisito de alcalinidade

Um reator nitrificante é alimentado com digestato contendo 2.190 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ a uma vazão de $135 \text{ m}^3.\text{d}^{-1}$. Após a quantificação da alcalinidade total presente no digestato, encontrou-se a concentração de $6.450 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$. Com base nos dados, calcule a necessidade diária de complementação de alcalinidade em CaCO_3 para a completa oxidação do NH_4^+ a NO_3^- .

Inicialmente, faz-se necessário calcular a carga diária (C) de nitrogênio e de alcalinidade presentes no digestato que alimenta o reator nitrificante para, posteriormente, determinar a necessidade diária utilizando a Equação 12.

$$C \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) = [\text{NAT}] \cdot Q$$

$$C = 2190 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}} \cdot 135 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

$$C = 2,19 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot 135 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

$$C = 295,65 \frac{\text{kg NAT}}{\text{d}}$$

Analogamente ao cálculo da carga de nitrogênio, podemos calcular a carga de alcalinidade em CaCO_3 que alimenta o reator nitrificante diariamente.

$$C \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) = [\text{CaCO}_3] \cdot Q$$

$$C = 6450 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}} \cdot 135 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

$$C = 6,45 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot 135 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

$$C = 870,75 \frac{\text{kgCaCO}_3}{\text{d}}$$

Assumindo que são necessários 7,14 gramas de CaCO_3 por grama de N-NH_4^+ , podemos calcular a carga diária necessária de alcalinidade através do produto da carga de nitrogênio e necessidade de alcalinidade.

$$\text{Necessidade de alcalinidade} = 295,65 \frac{\text{kgNAT}}{\text{d}} \cdot 7,14 \frac{\text{kgCaCO}_3}{\text{kgNAT}}$$

$$\text{Necessidade de alcalinidade} = 2110,9 \frac{\text{kgCaCO}_3}{\text{d}}$$

Subtraindo a carga diária de alcalinidade presente no digestato da necessidade de alcalinidade baseada na carga de NAT que alimenta o reator nitrificante, obtemos o déficit de alcalinidade diário para nitrificação.

Déficit de alcalinidade = Carga diária de alcalinidade - Necessidade diária de alcalinidade

$$\text{Déficit de alcalinidade} = 870,75 \frac{\text{KgCaCO}_3}{\text{d}} - 2110,9 \frac{\text{KgCaCO}_3}{\text{d}}$$

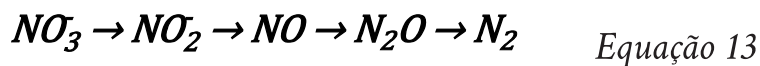
$$\text{Déficit de alcalinidade} = -1240,15 \frac{\text{KgCaCO}_3}{\text{d}}$$

Conclui-se que a alcalinidade presente no digestato não é suficiente para que ocorra a nitrificação desse efluente, fazendo-se necessária a complementação da alcalinidade para que o pH do sistema não diminua a níveis inibitórios.

Em processos com desnitrificação, parte da alcalinidade retorna para o sistema e, quando os processos são acoplados, a alcalinidade gerada na desnitrificação compensa parte do requisito da nitrificação, como será abordado na sequência.

Processo de desnitrificação

A desnitrificação faz parte do ciclo do nitrogênio. É a transformação do NO_3 a N_2 em condições de ausência de O_2 . Este é um processo redutivo e, desta maneira, é uma forma de respiração. Ocorre em quatro estágios, segundo a Equação 13. Os microrganismos oxidam um substrato orgânico como fonte de energia produzindo inúmeros equivalentes de redução.



Cada etapa dessa reação é catalisada por enzimas específicas. As etapas de redução do nitrogênio vêm sendo amplamente estudadas. Já foram visualizadas as estruturas dessas enzimas em alta resolução, com exceção da óxido nítrico redutase. Além disso, já se sabe que podem ser mais de um tipo de redutase por etapa.

Em geral, as enzimas necessárias para a desnitrificação somente são produzidas sob ou próximo às condições anaeróbias e, se as células em crescimento anaeróbio forem expostas ao O_2 , essas enzimas são prontamente inibidas. Ainda, as reações são catabólicas, ou seja, regidas por microrganismos heterótrofos, necessitando de matéria orgânica como fonte de carbono para sua síntese celular (Richardson et al., 2007); (Mendonça, 2002); (Tchobanoglous et al., 2013).

Os microrganismos mais frequentemente encontrados na natureza capazes de realizar a redução do nitrogênio oxidado são dos gêneros *Pseudomonas* e *Alcaligenes*. Porém, existem outros descritos na literatura

como, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, e *Vibrio* entre outros gêneros dessas bactérias (Tchobanoglous et al., 2013).

Bioquímica da desnitrificação

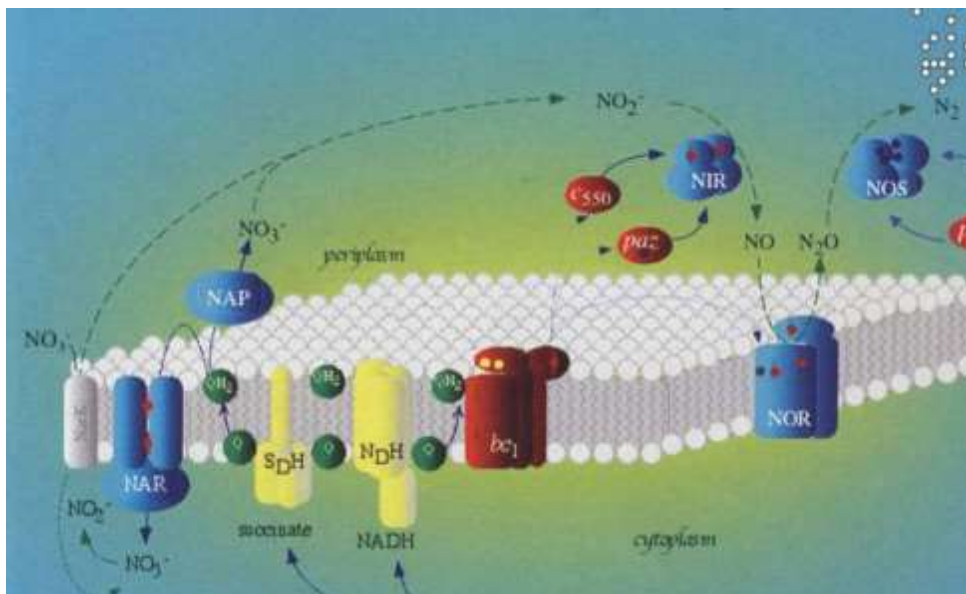
Na maioria das bactérias, as enzimas responsáveis pela desnitrificação recebem elétrons provenientes das correntes dos sistemas respiratórios da membrana citoplasmática. Em outras palavras, a desnitrificação é uma forma de respiração e parte componente da respiração com o sistema de transporte de elétrons.

A desnitrificação ocorre com a participação de componentes específicos. Entre eles o ubiquinol/ubiquinona. A reação de redução do ubiquinona para ubiquinol ocorre utilizando elétrons provenientes de redutores como, NADH, ácidos orgânicos voláteis, succinato, etc. Na desnitrificação, o ubiquinol é oxidado diretamente na parede citoplasmática pela nitrato redutase. Há uma estrutura cristalina correspondente para tal enzima, normalmente conhecida como “Nar”, assim, sabe-se em detalhes como a enzima funciona.

Em resumo, o ubiquinol é oxidado em direção à superfície periplasmática da membrana, com a liberação de H^+ para o periplasma, mas a transferência de elétrons ocorre através da membrana para o sítio ativo, que está localizado em um domínio globular que se projeta para dentro do citoplasma. O ponto fundamental a observar aqui é que a transferência de elétrons por *Nar*, juntamente com a liberação de H^+ e absorção nos dois lados da membrana, gera uma força motriz de prótons através da membrana.

A localização do sítio de redução de NO_3^- no lado citoplasmático da membrana requer um sistema de transporte de NO_3^- conforme na Figura 8. Tal tarefa acredita-se ser a função da proteína NarK que é um transportador tanto de fora para dentro da célula como o inverso. Normalmente, a proteína NarK é a fusão de duas proteínas. Evidências apontam para que uma dessas proteínas catalise a entrada do NO_3^- para a célula com um ou mais H^+ . Isso permitiria a entrada do NO_3^- na célula para iniciar a respiração.

No estado estacionário, a importação do NO_3^- seria em troca da exportação do NO_2^- para o periplasma, um processo que seria o intercâmbio neutro de elétrons e assim não afetando, nem dissipando, a força motriz de prótons. A exportação do NO_2^- para o periplasma é necessária em função de que é onde se localiza a nitrito redutase (NIR em Figura 8) nos sistemas desnitrificantes (Moir; Wood, 2001; Spanning, et al. 2007).



Fonte: Adaptado de Spanning et al., (2007).

Figura 8. Esquema do processo de desnitrificação completa em *Paracoccus denitrificans*. Linhas tracejadas: transportes dos óxidos de nitrogênio; linhas sólidas: transporte de elétrons. SDH, succinato desidrogenase; NDH, NADH desidrogenase; Q, quinona; bc_1 , complexo citocromo bc_1 ; c_{550} , citocromo c ; paz, pseudoazurina; NAR, nitrato redutase da membrana; NIR, nitrito redutase tipo cd_1 ; NOR, óxido nítrico redutase tipo BC; NOS, óxido nítrico redutase; NarK, transportador $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$.

Os elétrons são entregues para o citocromo cd_1 por um monohemo citocromo tipo c , o citocromo c_{550} , ou pela proteína cupredoxina conhecida como pseudoazurina. Estas duas proteínas periplasmáticas e hidrossolúveis são reduzidas pelo complexo integral da membrana, chamado de complexo citocromo bc_1 , que por sua vez é reduzido a ubiquinol. Este complexo não é específico da desnitrificação, ele ocorre em diversos sistemas respiratórios em todas as bactérias e na transferência mitocondrial de elétrons.

O óxido nítrico é gerado pela nitrito redutase, mas em baixas concentrações devido a sua toxicidade. Todavia, este não deixa de ser um intermediário livre da desnitrificação. A óxido nítrico redutase é uma enzima presente na membrana celular, que participa da redução do óxido nítrico a óxido nitroso. Acredita-se, ainda não comprovado em laboratório, ser fornecida pela pseudoazurina ou pelo citocromo c_{550} em comum com a nitrito redutase. A etapa final da desnitrificação é catalisada pela óxido nitroso redutase, outra enzima periplasmática e age na redução do óxido nitroso a nitrogênio gasoso.

Segundo Wrage et al. (2001), os microrganismos responsáveis pela desnitrificação são anaeróbios facultativos, ou seja, são capazes de utilizar tanto o oxigênio como o NO_3^- e NO_2^- . Portanto, o processo de desnitrificação é inibido mesmo em baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

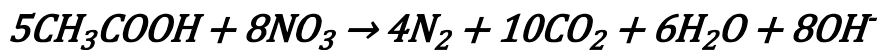
Quanto aos intermediários do processo de desnitrificação, o NO e N_2O são gasosos e se acumulam no meio quando suas enzimas são inibidas principalmente em pH ácido.

Carbono orgânico e alcalinidade na desnitrificação

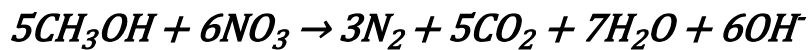
Por ser um processo heterotrófico, a desnitrificação necessita de fonte de carbono orgânico para que seja possível ser realizada. Existem duas formas principais em que os microrganismos desnitrificantes obtêm o carbono orgânico necessário para as reações. Quando a fonte é proveniente do próprio material celular é chamada de endógena. A outra forma é através de uma fonte exógena, ou seja, um substrato orgânico, efluente orgânico, acetato, metanol, entre outros.

Nos efluentes *in natura* em que é encontrado carbono orgânico na sua composição, esse é oriundo basicamente de proteínas, carboidratos e gorduras (Gerardi, 2002). Em geral, em efluentes pós tratamento anaeróbio, observa-se a prevalência de ácidos carboxílicos de cadeia curta, como ácido acético, propiônico e butírico (Miller; Varel, 2003), (Ziemer et al., 2009).

Quando não existe quantidade suficiente de carbono orgânico presente no efluente, necessita-se a adição de uma fonte extra de carbono. Nos processos industriais de tratamento de efluentes, comumente utiliza-se metanol nessa função (Tchobanoglous et al., 2013). Abaixo, podem ser observadas as reações de desnitrificação a partir do acetato (Equação 14) e do metanol (Equação 15).



Equação 14



Equação 15

A disponibilidade de carbono orgânico em determinado efluente é medida pela relação entre a massa de carbono orgânico disponível e a massa de nitrogênio a ser reduzido na desnitrificação. Essa relação é usualmente chamada de relação C/N (carbono/nitrogênio).

A relação C/N tem grande influência na competição entre a redução dissimilatória do nitrato a produtos gasosos (desnitrificação) e a amonificação (Yoon et al., 2015). Em ensaios de laboratório com biomassa adaptada, a eficiência de desnitrificação não é comprometida quando a relação C/N está acima de 1 utilizando metanol e acima de 2 utilizando ácido acético como fonte de carbono (Her; Huang, 1995).

É importante ressaltar que a grandeza carbono orgânico muitas vezes na literatura é expressa como demanda química de oxigênio (DQO), que expressa a quantidade de matéria orgânica presente na amostra de forma indireta, contabilizando a necessidade de oxigênio para oxidação do carbono orgânico presente. Ainda, a relação entre as grandezas COT e DQO é função de fatores como a composição da matéria orgânica e a presença de compostos inorgânicos, que consomem oxigênio, na oxidação da matéria orgânica pelo método de DQO, o que pode não ocorrer em métodos de determinação de COT.

As diferenças observadas quanto à eficiência de desnitrificação, quando comparados diferentes substratos, deve-se a biodisponibilidade do carbono presente em cada substrato. Estudos apontam a preferência dos microrganismos desnitrificantes pela utilização dos ácidos carboxílicos de cadeia curta como fonte de carbono na desnitrificação (Elefsiniotis; Wareham, 2007), (Adouani et al., 2010), (Ahn et al., 2010)).

Além da preferência pelos ácidos carboxílicos de cadeia curta, e a grande afinidade dos microrganismos desnitrificantes principalmente pelo ácido acético, observa-se que a velocidade de desnitrificação utilizando esse ácido como principal fonte de carbono é mais de duas vezes acima da velocidade de desnitrificação utilizando ácido propiônico (Elefsiniotis; Wareham, 2007). Isso sugere que a utilização de ácidos carboxílicos de cadeias maiores por parte dos microrganismos desnitrificantes é complexa e difícil.

Portanto, em se tratando da disponibilidade do carbono orgânico, independente da forma que se encontrar no digestato, é importante que seja observada a relação C/N, levando em consideração somente o carbono orgânico solúvel, descartando o material particulado, ao se utilizar o processo MLE (Ludzak e Ettinger Modificado) objetivando remoção de nitrogênio.

Baseando-se na estequiometria da reação de desnitrificação (Equação 13) a necessidade de carbono orgânico é aproximadamente de 1,1 g por grama de nitrogênio na forma de nitrato. No entanto, no processo de desnitrificação, o carbono orgânico também é consumido para síntese celular e respiração endógena (Henze, 2010). Sendo assim, de maneira bastante segura, se no digestato se observar relação C/N acima de 2 ou relação DQO/N acima de 5, a reação de desnitrificação ocorrerá sem limitações (Velho et al., 2017; Kishida et al., 2004; Chung et al., 2004).

Estudo de caso 5 – Cálculo da relação C/N

Em um digestato de um biodigestor foi observada a concentração de COT de 3.350 mg.L^{-1} e de nitrogênio amoniacal total (NAT) de 1.200 mg.L^{-1} . Suponha que a vazão de alimentação do biodigestor é $10 \text{ m}^3.\text{h}^{-1}$ e são descartados $8 \text{ m}^3.\text{d}^{-1}$ de lodo do biodigestor. Calcule a relação C/N e diga se o processo de desnitrificação pode ser aplicado a esse caso.

Para diminuir a possibilidade de erros quando se calcula a relação C/N, idealmente, calcula-se a carga de carbono e a carga de nitrogênio e, posteriormente, verifica-se a relação entre as cargas.

Sendo assim:

$$C_{\text{COT}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) = Q \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \cdot [\text{COT}] \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

Nesse caso, especificamente, a vazão de alimentação do biodigestor não é a mesma vazão na saída, pois existe um descarte de lodo. Portanto, a vazão de saída é a vazão de alimentação diminuída a vazão de descarte de lodo.

$$C_{\text{COT}} = \left[Q_{\text{alimentação}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} - Q_{\text{descarte de lodo}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot [\text{COT}]$$

$$C_{\text{COT}} = \left[10 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot \frac{24 \text{ h}}{\text{d}} - 8 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot 3350 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}}$$

$$C_{\text{COT}} = \left[240 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} - 8 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot 3,35 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$C_{\text{COT}} = 232 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \cdot 3,35 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$C_{\text{COT}} = 777,2 \frac{\text{kg}}{\text{d}}$$

Analogamente, calcula-se a carga diária de nitrogênio.

$$C_{\text{NAT}} = \left[Q_{\text{alimentação}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} - Q_{\text{descarte de lodo}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot [\text{NAT}] \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$C_{\text{NAT}} = \left[Q_{\text{alimentação}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} - Q_{\text{descarte de lodo}} \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot [\text{NAT}] \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$C_{\text{NAT}} = \left[10 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot \frac{24 \text{ h}}{\text{d}} - 8 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right] \cdot 1200 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}}$$

$$C_{\text{NAT}} = 232 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \cdot 1,2 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$C_{\text{NAT}} = 278,4 \frac{\text{kg}}{\text{d}}$$

A partir das cargas, podemos calcular a relação C/N.

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{C_{\text{COT}}}{C_{\text{NAT}}}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{777,2 \frac{\text{kg}}{\text{d}}}{278,4 \frac{\text{kg}}{\text{d}}}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = 2,79$$

Sendo a relação C/N 2,79, espera-se que o processo de desnitrificação, posteriormente, não tenha sua eficiência prejudicada em função da necessidade de carbono em face da quantidade de nitrogênio ser adequada.

O equilíbrio de alcalinidade no processo de remoção de nitrogênio é uma etapa sensível. No ciclo completo da desnitrificação é possível observar a geração de equivalentes de alcalinidade (Equações 14 e 15). Para cada 5 mols de acetato, são gerados 8 íons hidroxila, ou seja, na redução de 1 g de N-NO₃ são gerados 3,57 g de alcalinidade (como CaCO₃) (Tchobanoglous et al., 2013; (Van Rijn et al., 2006). No entanto, em escala real, observa-se que os valores são menores que o estequiométrico, estando entre 2,95 (Jeris; Owens, 1975) e 2,89 mg (Horstkotte et al., 1974) de CaCO₃ por mg de nitrogênio reduzido.

Sendo assim, considera-se que dentre o valor estequiométrico e os valores observados em reatores em escala real, para projeto de reatores desnitrificantes, é usual atribuir que cada grama de nitrogênio reduzido gere 3 gramas de alcalinidade na forma de CaCO₃ (Scheible et al., 1993).

Uma grande vantagem desse excedente de alcalinidade gerado na desnitrificação é observado quando se pensa no processo global de remoção de nitrogênio via nitrificação e desnitrificação. Uma vez que alcalinidade é consumida na nitrificação e alcalinidade é gerada na desnitrificação, quando os processos são acoplados ocorre uma compensação da necessidade total de alcalinidade.

Processo combinado de nitrificação e desnitrificação

A primeira configuração objetivando a remoção de nitrogênio foi o processo proposto por Ludzak e Ettinger (1962), que posteriormente recebeu modificações e convencionou-se chamar de Ludzak e Ettinger Modificado, MLE (do inglês *Modified Ludzak and Ettinger*) apresentado na Figura 9. É um dos processos mais utilizados para remoção de nitrogênio no tratamento de efluentes, sendo que o processo consiste de um tanque anóxico anterior ao tanque aeróbio onde ocorre a nitrificação. O nitrato produzido no tanque aeróbio retorna ao tanque anóxico.

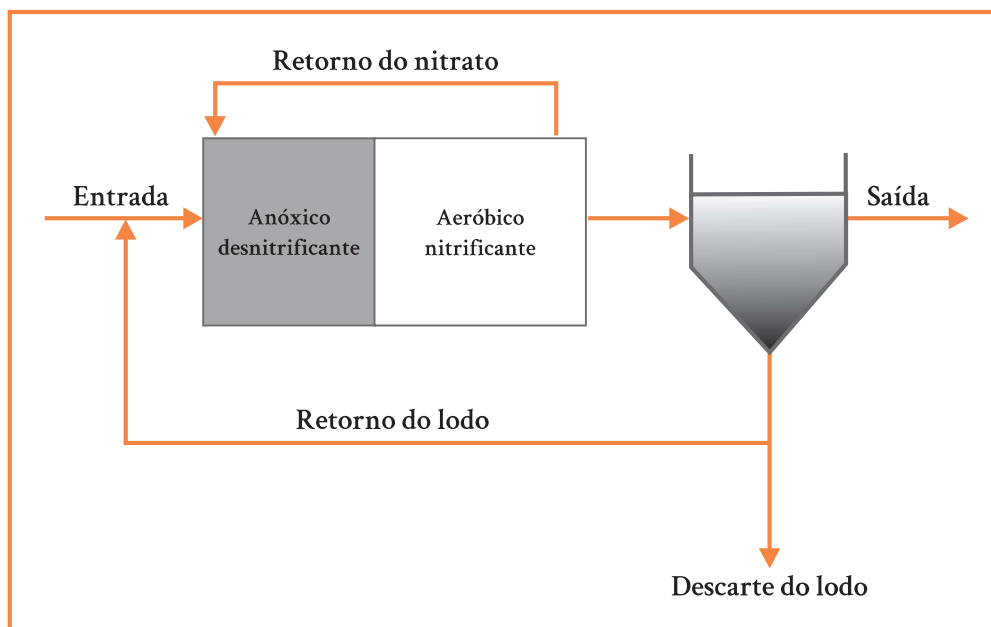


Figura 9. Esquema ilustrativo de um sistema de reatores de mistura completa utilizando o processo Ludzak-Edinger Modificado.

No tanque anóxico, estão os microrganismos heterotróficos e a maior quantidade de carbono orgânico que servirá de doadores de elétrons na redução do nitrato. Em função do tanque anóxico preceder o

tanque de aeração, o processo também é conhecido como “pré-desnitrificação anóxica” (Tchobanoglous et al., 2013; Wiesmann et al., 2007).

A taxa de recirculação do meio líquido do reator nitrificante para o desnitrificante deve ser controlada. Sabe-se que quanto maior a taxa de recirculação, maior será a remoção de nitrogênio, sendo que a eficiência global do sistema pode ser calculada pela Equação 16.

$$E = 1 - \frac{[N_T]_s}{[N_T]_e} \quad \text{Equação 16}$$

Onde:

$[N_T]_e$ = concentração de nitrogênio total na entrada do sistema MLE (mg L^{-1})

$[N_T]_s$ = concentração de nitrogênio total na saída do sistema MLE (mg L^{-1})

No sistema MLE, ambos os reatores são de mistura completa e fluxo contínuo, e a eficiência de remoção de nitrogênio é dependente da razão entre a vazão total de recirculação do reator nitrificante para o reator desnitrificante pela vazão de alimentação do sistema (Equação 17). A vazão total de recirculação é a soma da vazão de recirculação entre o reator nitrificante e desnitrificante e a vazão de recirculação do lodo do decantador de lodo para o desnitrificante (Equação 18).

$$R_T = \frac{Q_{RT}}{Q_{\text{Alimentação}}} \quad \text{Equação 17}$$

Onde:

R_T = razão de recirculação total

Q_{RT} = vazão de recirculação ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$)

$Q_{\text{Alimentação}}$ = vazão de alimentação do sistema MLE ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$)

$$Q_{RT} = Q_{R-ND} + Q_{R-L} \quad \text{Equação 18}$$

Onde:

Q_{R-ND} = vazão de recirculação entre o reator nitrificante e desnitrificante ($m \cdot d^{-1}$)

Q_{R-L} = vazão de recirculação de lodo ($m^3 \cdot d^{-1}$)

Portanto, a eficiência teórica máxima na remoção de nitrogênio para a configuração do sistema de reatores MLE é depende diretamente da razão de recirculação total (Q_{RT}) entre os reatores, como apresentado na Equação 19.

$$\frac{[N_T]_s}{[N_T]_e} = \frac{1}{1 + R_T} \quad \text{Equação 19}$$

A razão de recirculação total, por ser base do processo de remoção de nitrogênio, influencia a eficiência do sistema. Pode ser utilizada como parâmetro de controle do processo. No entanto, o valor de Q_{RT} ideal está entre 3 e 6 vezes a vazão de alimentação (Tchobanoglous et al., 2013; Chung et al., 2004), ficando, usualmente, estabelecido em 4,5 vezes a vazão de alimentação ($Q_{Alimentação}$). Uma vez que a vazão de recirculação de lodo (Q_{R-L}), tem como único objetivo evitar a perda excessiva de biomassa do sistema, a razão de recirculação de lodo é fixada em 1.

O processo MLE é bastante versátil e resultados demonstram eficiência acima de 90% de remoção de nitrogênio em efluentes da suinocultura. No entanto, esses efluentes possuem alta concentração de sólidos suspensos totais, o que pode ocasionar transtornos na operação dos reatores, evidenciando o cuidado com relação a esse fator a fim de evitar acúmulo de sólidos fixos nos tanques reacionais.

Por se basear no processo de remoção de nitrogênio via nitrificação e desnitrificação, existe a necessidade de equilíbrio entre a quantidade de carbono orgânico e nitrogênio, como já foi visto anteriormente, sendo a relação C/N fundamental nesse processo.

Na maioria dos dejetos animais existe carbono suficiente para a desnitrificação por haver grande quantidade de carbono orgânico disponível, ou seja, relação C/N elevada. No entanto, no digestato, a quantidade de carbono orgânico disponível é menor que nos dejetos brutos.

Após efluentes e/ou dejetos animais passarem por um processo de digestão anaeróbia, a relação C/N pode diminuir 20 vezes (Rico et al., 2011), podendo inviabilizar a remoção de nitrogênio do digesto pelo processo MLE. Na situação em que ocorre a falta de carbono orgânico disponível para desnitrificação, faz-se necessária a suplementação de carbono ou o *by pass* (desvio) do biodigestor diretamente para o reator desnitrificante.

Em se tratando de dimensionamento, além dos pontos já abordados, o sistema MLE necessita de atenção em relação a dois pontos; o primeiro é a carga volumétrica de nitrogênio (C_{vN}) e o segundo o tempo de retenção hidráulica (TRH).

A carga orgânica volumétrica de nitrogênio expressa a massa de nitrogênio que alimenta o sistema MLE por dia em função do volume do reator nitrificante, conforme a Equação 20. A carga volumétrica de nitrogênio influencia na eficiência de remoção de nitrogênio do sistema. Observa-se que o sistema MLE opera com eficiência de remoção de nitrogênio acima de 95% com C_{vN} entre $0,26 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ e $0,41 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$. Sendo assim, orienta-se que, para o dimensionamento de sistemas MLE, seja utilizada a C_{vN} de $0,35 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ (Bortoli, 2014; Vanotti et al., 2009; Park et al., 2004; Chung et al., 2004).

$$C_{vN} = \frac{[NAT] \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \cdot Q \frac{\text{m}^3}{\text{d}}}{V_{\text{reator nitrificante}} (\text{m}^3)} \quad \text{Equação 20}$$

Para o dimensionamento do reator desnitrificante, usualmente se utiliza o mesmo volume do reator nitrificante, podendo esse ser dimensionado com volume até 20% menor que o reator nitrificante, sem ocorrer perda de eficiência (Park et al., 2004; Chung et al., 2004).

Por fim, o cálculo do decantador de lodo (Equação 21) é realizado através da taxa de escoamento superficial (TES), que é baseada na vazão aplicada pela área do decantador. Convencionalmente, adotam-se valores entre $1,5 \text{ m}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ e $4,33 \text{ m}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Recomenda-se que, como parâmetro de segurança, após o dimensionamento do decantador de lodo o volume do mesmo esteja entre 5% e 10% do volume do reator nitrificante.

Levando em consideração que o lodo do sistema é em grande parte biomassa, e sua sedimentação é rápida, pode-se estabelecer que o decantador de lodo não exceda 3 horas de TRH, quando possível, a fim de evitar flotação de lodo e perda de biomassa (Wiesmann et al., 2007).

$$S_{decantador} = \frac{Q_{alimentação}}{TES} \quad \text{Equação 21}$$

Estudo de caso 6 - Dimensionamento de reatores nitrificantes/desnitrificantes

Uma unidade produtora de leitões com 4.800 matrizes possui um biodigestor para geração de biogás e utiliza o biofertilizante em áreas agricultáveis de parceiros próximos à propriedade. Na nova etapa de licenciamento ambiental, foi destacada a necessidade de tratamento do digestato para fins de lançamento em corpo hídrico receptor. Considerando que cada matriz produz em média 32 L de dejetos por dia, e com base nos dados das características do digestato apresentados abaixo, determine o volume do reator nitrificante, o volume do reator desnitrificante e as dimensões do decantador de lodo. Expresse também as vazões de alimentação, de recirculação do reator nitrificante para o desnitrificante e de recirculação de lodo do decantador para o nitrificante. Por fim, determine o TRH de cada reator e do decantador de lodo.

Característica do digestato

Nitrogênio amoniacal total (NAT) (mg.L⁻¹) 2.200

Carbono orgânico total (COT) mg.L⁻¹ 6.000

Para o cálculo dos volumes, existe a necessidade de estabelecer alguns pressupostos baseados na literatura.

1. A razão total de recirculação (RT) será 5,0;
2. A carga de nitrogênio não deverá ultrapassar 0,35 kg.m⁻³.d⁻¹;
3. O reator desnitrificante deverá ser 20% menor que o reator nitrificante;

4. Adotar a taxa de escoamento superficial (TES) de $4 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, com máximo de TRH de 1 hora.

Primeiramente, calcula-se a vazão de dejetos.

$Q = N^\circ \text{ de animais} \cdot \text{Produção de dejetos por animal}$

$$Q = 4800 \cdot 32 \frac{\text{L}}{\text{d}}$$

$$Q = 153.600 \frac{\text{L}}{\text{d}} \frac{\text{m}^3}{1000\text{L}}$$

$$Q = 153,6 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

Também é importante verificar a relação C/N no digestato para avaliar a viabilidade da utilização do processo de nitrificação e desnitrificação.

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} \geq 2$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{\text{C}_{\text{COT}}}{\text{C}_{\text{NAT}}}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{Q \cdot [\text{COT}]}{Q \cdot [\text{NAT}]}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{[\text{COT}]}{[\text{NAT}]}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = \frac{6000 \text{ mg/L}}{2200 \text{ mg/L}}$$

$$\text{Relação } \frac{\text{C}}{\text{N}} = 2,72$$

Como a relação C/N é maior que 2, existe a potencialidade de utilização do processo de nitrificação/desnitrificação acoplado (MLE).

Posteriormente, utiliza-se a Equação 20 para o cálculo do volume do reator nitrificante.

$$C_{vN} = \frac{[\text{NAT}] \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \cdot Q \frac{\text{m}^3}{\text{d}}}{V_{\text{reator nitrificante}} (\text{m}^3)}$$

Rearranjando a Equação 20, temos:

$$V_{\text{reator nitrificante}} = \frac{[\text{NAT}] \frac{\text{Kg}}{\text{m}^3} \cdot Q \frac{\text{m}^3}{\text{d}}}{C_{vN}}$$

$$V_{\text{reator nitrificante}} = \frac{2200 \frac{\text{g}}{\text{m}^3} \cdot 153,6 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}}{0,35 \text{ Kg/m}^3 \cdot \text{d}}$$

$$V_{\text{reator nitrificante}} = \frac{2200 \frac{\text{g}}{\text{m}^3} \cdot \frac{\text{Kg}}{1000 \text{ g}} \cdot 153,6 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}}{0,35 \text{ Kg/m}^3 \cdot \text{d}}$$

$$V_{\text{reator nitrificante}} = 965,5 \text{ m}^3$$

A partir do cálculo do volume do reator nitrificante, atendendo ao pressuposto estabelecido, o volume do reator desnitrificante será 20% menor.

Portanto:

$$V_{\text{reator desnitrificante}} = V_{\text{reator nitrificante}} - (V_{\text{reator nitrificante}} \cdot 0,20)$$

$$V_{\text{reator desnitrificante}} = 965,5 \text{ m}^3 - (965,5 \text{ m}^3 \cdot 0,20)$$

$$V_{\text{reator desnitrificante}} = 965,5 \text{ m}^3 - 193,1 \text{ m}^3$$

$$V_{\text{reator desnitrificante}} = 772,4 \text{ m}^3$$

Por fim, calcula-se o volume do decantador de lodo do sistema. Para o cálculo do volume do decantador, inicialmente, necessita-se do valor da área superficial, utilizando a Equação 21.

$$S_{\text{decantador}} = \frac{Q_{\text{alimentação}}}{\text{TES}}$$

$$S_{\text{decantador}} = \frac{153,5 \text{ m}^3/\text{d}}{4 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}}$$

$$S_{\text{decantador}} = 38,4 \text{ m}^2$$

Estabelecendo o volume através do TRH máximo de três horas, o volume máximo será:

$$V_{\text{decantador}} = 153,5 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \cdot 3 \text{ h}$$

$$V_{\text{decantador}} = 153,5 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \cdot 3 \text{ h} \cdot \frac{\text{d}}{24 \text{ h}}$$

$$V_{\text{decantador}} = 19,18 \text{ m}^3$$

Em função do valor do volume calculado do decantador ser menor que 5% do volume do reator nitrificante, adota-se, por motivo de segurança, o maior valor. Portanto, o decantador de lodo terá o volume de:

$$V_{\text{dec}} = V_{\text{reator nitrificante}} \cdot 5\%$$

$$V_{\text{dec}} = 965,5 \text{ m}^3 \cdot 5\%$$

$$V_{\text{dec}} = 48,3 \text{ m}^3$$

Dividindo o volume pela área de superfície, temos a altura do leito de decantação.

$$h = \frac{V_{\text{dec}}}{S_{\text{dec}}}$$

$$h = \frac{48,3 \text{ m}^3}{38,4 \text{ m}^2}$$

$$h = 1,26 \text{ m} \rightarrow h = 1,3 \text{ m}$$

Por fim, calcula-se o diâmetro do decantador, através da área de superfície, considerando um decantador circular.

$$S_{\text{dec}} = \pi \cdot r^2$$

$$r = \sqrt{\frac{S_{\text{dec}}}{\pi}}$$

$$r = \sqrt{\frac{38,4}{3,14}}$$

$$r = 3,5 \rightarrow D = 7,0 \text{ m}$$

Portanto, a partir dos volumes, o dimensionamento do sistema finalizado é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Dimensionamento de reatores nitrificantes/desnitrificantes e decantador de lodo.

	Volume (m ³)	TRH (d)
Reator nitrificante	965,5	6,3
Reator desnitrificante	772,4	5
Decantador de lodo	48,3	0,3

Nitrificação e desnitrificação via nitrito

Diferente do processo convencional de nitrificação/desnitrificação via nitrato, no processo de nitrificação/desnitrificação via nitrito, a nitrificação e a desnitrificação são mediadas pela presença de NO₂⁻. Esse processo é baseado no fato de que o nitrito é o produto intermediário, tanto do processo de nitrificação quanto do processo de desnitrificação, por isso, pode ser produzido durante a nitrificação e, subsequentemente, reduzido a N₂ na desnitrificação seguinte (Ciudad et al., 2005; Ruiz et al., 2006).

Através da Figura 10, é possível visualizar os caminhos da nitrificação/desnitrificação via nitrato e desnitrificação via nitrito. Pode-se observar que, na desnitrificação via nitrito, tem-se uma redução no ca-

minho de oxidação da amônia, não se fazendo necessária a oxidação do NO_2^- para NO_3^- . Como vantagem, tem-se 25% de redução no consumo de oxigênio na fase aeróbia, o que implica em 60% de economia de energia em todo o processo.

Além disso, a demanda de doadores de elétrons, ou seja, de carbono orgânico para a desnitrificação, é 40% menor e a velocidade de desnitrificação via nitrito é de 1,5 a 2 vezes maior do que a velocidade de desnitrificação via nitrato, o que é tecnicamente viável e economicamente favorável, especialmente quando se trata de efluentes com alta concentração de amônia ou baixa relação C/N (Yang; Yang, 2011). Portanto, a relação C/N ideal passa de 2, para desnitrificação convencional, para relação C/N de 1,2 para desnitrificação via nitrito.

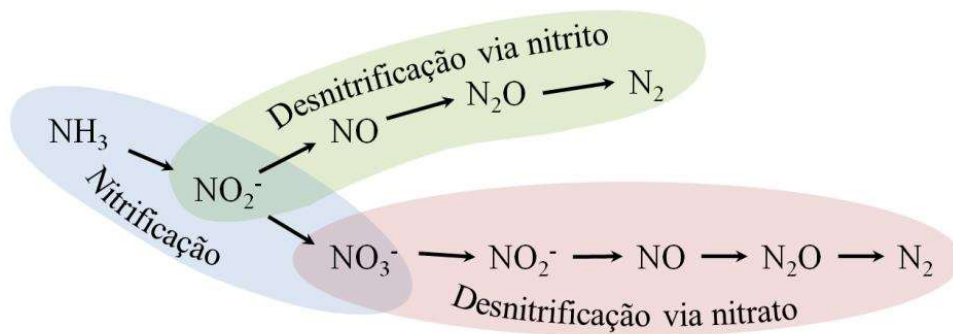


Ilustração: Marcelo Bortoli

Figura 10. Esquema representativo do caminho da nitrificação, desnitrificação via nitrito e desnitrificação via nitrato.

Estudo de caso 7 - Cálculo de requisito diário de oxigênio nitrificação ($\text{Rd}_{\text{O}_2-\text{NO}_2^-}$) e relação C/N para nitrificação/desnitrificação

Um biodigestor gera $26 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ de digestato, sendo que opera por oito horas diárias. O digestato é encaminhado para um reator aeróbio com o processo de nitrificação e desnitrificação via nitrito. Conhecendo a concentração de nitrogênio amoniacal total, que é de $1.640 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e a concentração de carbono orgânico total (COT) de $2.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, calcule o requisito diário de oxigênio necessário no reator para que ocorra a oxidação de todo nitrogênio na forma de amônio para nitrito e calcule a

relação C/N, destacando se atenderia ao processo de desnitrificação via nitrito.

Inicialmente, precisa-se saber a carga de nitrogênio na entrada do reator aeróbio, portanto:

$$c = [NAT] \cdot Q$$

Sendo:

$$c = \text{carga de nitrogênio} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right)$$

$$[NAT] = \text{concentração de nitrogênio amoniacal total} \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)$$

$$Q = \text{vazão} \left(\frac{\text{m}^3}{\text{d}} \right)$$

Utilizando a Equação 12, podemos calcular a carga diária de nitrogênio na entrada do reator aeróbio.

$$c = [NAT] \cdot Q$$

$$c = 1640 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \frac{\text{g}}{1000 \text{ mg}} \cdot 26 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot 8 \frac{\text{h}}{\text{d}}$$

$$c = 1,64 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot 208 \frac{\text{m}^3}{\text{d}}$$

Considerando:

$$\frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$c = 341,1 \frac{\text{KgN-NH}_4^+}{\text{d}}$$

A partir do valor de carga de nitrogênio, podemos calcular o requisito diário de oxigênio ($Rd_{O_2-NO_2^-}$) no reator aeróbio, em função da Equação 12.

$$Rd_{O_2-NO_2^-} = 341,2 \frac{\text{kgNAT}}{\text{d}} \cdot \left[3,43 \frac{\text{gO}_2}{\text{gNAT}} \right]$$

$$Rd_{O_2-NO_2^-} = 1170,3 \frac{\text{kgO}_2}{\text{d}}$$

Para o cálculo da relação C/N:

$$\text{Relação } \frac{C}{N} = \frac{C_{COT}}{C_{NAT}}$$

$$\text{Relação } \frac{C}{N} = \frac{Q[COT]}{Q[NAT]}$$

$$\text{Relação } \frac{C}{N} = \frac{26 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot 8 \frac{\text{h}}{\text{d}} \cdot 2000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{26 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot 8 \frac{\text{h}}{\text{d}} \cdot 1640 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$\text{Relação } \frac{C}{N} = 1,22$$

Sendo a relação C/N 1,22, espera-se que o processo de desnitrificação via nitrito não tenha sua eficiência prejudicada.

Tecnologias recentes para remoção biológica de nitrogênio

Fundamentos e mecanismos

Digestatos oriundos de sistemas eficientes de digestão anaeróbia estão cada vez mais apresentando baixas concentrações de carbono, resultando em um efluente com baixa relação carbono/nitrogênio (C/N). A tendência na ausência de carbono dificulta a remoção do nitrogênio solúvel pelo processo convencional de nitrificação/desnitrificação detalhado nos tópicos anteriores. Isso porque efluentes que apresentam uma baixa relação C/N podem não ter carbono orgânico biodisponível suficiente (e necessário) para realizar a desnitrificação. Nesses casos, muitas

vezes é necessária a adição de uma fonte externa de carbono orgânico, o que implica em aumento do custo operacional do processo convencional de nitrificação/desnitrificação.

Quando se tem efluentes muito concentrados em nitrogênio e pouco concentrados em carbono, há dificuldades no dimensionamento e operação do sistema convencional, conforme visto nos tópicos anteriores. Por este motivo, novas propostas têm surgido para realizar essa tarefa. As pesquisas recentes em remoção de nitrogênio estão voltadas para melhorar a eficiência e reduzir custos, otimizando as estratégias de tratamento disponíveis ou buscando implementar novos processos e, possivelmente, novos microrganismos capazes de converter nitrogênio amoniacal em nitrogênio gasoso, sua forma inerte.

Todos esses novos processos buscam realizar a eliminação do nitrogênio utilizando nitrito como acceptor de elétrons e não o nitrato, pois há economia clara de oxigênio para oxidação do amônio. Calculando o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (kLa) para distintos valores de tempo de retenção hidráulica, é possível observar que o valor do kLa é aproximadamente 25% menor para a oxidação a nitrito do que para nitrato, o que resulta em economia de energia para esse processo (De Prá et al., 2013).

Para garantir a disponibilidade de nitrito, é necessário realizar a nitrificação (ou nitrificação parcial), em que a subsequente oxidação do nitrito para nitrato seja impedida. Segundo Wiesmann et al. (2007), a reação de oxidação da amônia é de 3 a 3,8 vezes mais termodinamicamente favorável (240 KJ.mol^{-1} a 350 KJ.mol^{-1}) do que a oxidação do nitrito (65 KJ.mol^{-1} a 90 KJ.mol^{-1}). Assumindo que o crescimento celular das bactérias envolvidas nesse processo é proporcional à energia liberada na reação das mesmas, pode-se afirmar que o crescimento das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) é mais favorecido do que o das bactérias oxidadoras de nitrito (BON), o que acaba sendo vantajoso quando o objetivo é acumular nitrito no reator.

Devido ao controle requerido, algumas dificuldades quanto ao estabelecimento desses processos são encontradas, principalmente em se tratando de longos períodos de operação. Também, a fase estacionária normalmente é difícil de ser atingida. Por isso, alguns cuidados devem ser tomados com a maioria desses processos quanto à possível elimina-

ção de nitrito remanescente para o meio ambiente, em virtude da considerável toxicidade do mesmo.

As novas propostas de processos para remoção de nitrogênio via nitrito presentes na literatura serão mencionados com maiores detalhes na sequência.

Processo de nitrificação parcial

O processo de nitrificação parcial é uma tecnologia baseada na seleção e favorecimento de bactérias oxidadoras de amônia (BOA) que funciona como um pré-tratamento capaz de produzir um efluente com características ideais para alimentação de reatores com atividade Anammox (que veremos na sequência).

A estratégia para eficácia desse processo consiste em interromper a oxidação da amônia em nitrito (impedindo a oxidação a nitrato) e, em paralelo, em controlar a proporção de amônia oxidada, de forma que se mantenha uma parcela de amônia residual. Em termos microbiológicos, isso significa desfavorecer a atividade das BON, da qual se destacam as do gênero *Nitrobacter*, permitindo apenas a atividade das BOA, da qual se destacam as bactérias do gênero *Nitrosomonas* (De Prá et al., 2013; Yamamoto et al., 2006).

Em síntese, a nitrificação parcial deve, além de evitar a conversão de NO_2^- em NO_3^- pela inibição das BON, limitar a quantidade de amônia oxidada pela atividade das BOA. A fim de tornar a estequiometria de acordo com a reação Anammox, é desejável que apenas 50% do nitrogênio amoniacal seja oxidado a nitrito, conforme descrito na Equação 22.



Equação 22

Neste contexto, não havendo a completa oxidação do NH_4^+ em NO_2^- , estimando uma conversão de apenas 50%, o efluente deste reator, contendo NH_4^+ e NO_2^- , estaria apto para alimentação de um reator posterior com atividade Anammox, a fim de completar a degradação pretendida (Yamamoto et al., 2011).

No entanto, devido à seletividade, algumas dificuldades quanto ao estabelecimento desse processo são encontradas, principalmente em se tratando de longos períodos de operação. Devido a essa condição, as diferenças fisiológicas entre as BOA e BON se tornam extremamente importantes na estabilidade do processo. Isso porque, devido à maior sensibilidade das BON a determinadas condições do meio, algumas estratégias operacionais podem ser utilizadas para influenciar a geração de nitrito pelo favorecimento das BOA (De Prá et al., 2013; Volcke et al., 2005).

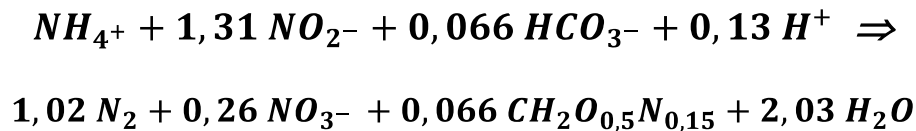
Dentre as alternativas para favorecer o acúmulo de nitrito nos sistemas biológicos, as principais se baseiam na regulação apropriada de parâmetros de controle como oxigênio dissolvido (OD), tempo de aeração, temperatura, tempo de retenção hidráulica (TRH), tempo de retenção de sólidos (TRS), pH, amônia livre (AL), ácido nitroso livre (ANL) e inibidores químicos (Cui, 2012; De Prá, 2013). Contudo, é necessário avaliar, além das vantagens e limitações, a viabilidade econômica do processo quando da utilização destas estratégias.

Neste sentido, para a conversão de nitrogênio utilizando digestatos não é possível generalizar uma única estratégia para a seletividade das BOA. Isso porque as características físico-químicas do efluente variam de acordo com o processo produtivo e são dependentes de sua origem. Por isso, dependendo do tipo de produção, o processo pode se apresentar mais ou menos eficiente.

Processo Anammox

Com base nas metodologias de identificação de microrganismos e no tipo de metabolismo desenvolvido por populações específicas, foi descoberta, na década de 1990, a existência de um novo segmento do ciclo do nitrogênio, conhecido como oxidação anaeróbia do íon amônio (Anammox) (Mulder et al., 1995). Durante os anos seguintes, o processo Anammox evoluiu de uma parte bastante inexplorada do ciclo biológico do nitrogênio, tornando-se uma peça chave no ciclo global do mesmo. Atualmente, é vista como uma tecnologia revolucionária para o tratamento de águas residuais (Scheeren et al., 2011).

Este processo envolve uma rota alternativa que consiste na oxidação anaeróbia do íon amônio, via microrganismos específicos, diretamente a N_2 , utilizando nitrito como acceptor de elétrons, com uma pequena produção de nitrato. A energia livre para esta reação está na mesma ordem de grandeza que a energia livre do processo de nitrificação aeróbia, demonstrando que o processo de oxidação anaeróbia do amônio é tão favorável quanto o processo de nitrificação aeróbia. A estequiometria da oxidação anaeróbia do íon amônio está apresentada na Equação 23 (Jetten et al., 2009).



Equação 23

Os microrganismos responsáveis por essas reações são quimio-litoautotróficos, anaeróbios e aderem facilmente a qualquer superfície sólida, não existindo de forma uniforme dentro dos biorreatores (Isaka et al., 2006). Também, a cultura de microrganismos Anammox possui excelentes propriedades de granulação, o que permite o uso das tecnologias dos reatores de fluxo ascendente, a fim de trabalhar com intenso reciclo de células proporcionando menores tempos de partida de reatores (KARTAL et al., 2011; Lotti et al., 2015).

Combinando a máxima atividade das bactérias e o fator de conversão de substrato em biomassa, Strous et al. (1998) estimaram o tempo de duplicação das bactérias com atividade Anammox entre 9 e 11 dias. Devido a essa baixa velocidade de crescimento, o processo produz pouco volume de lodo, além de preservar aproximadamente 60% do oxigênio utilizado no processo, reduzindo os custos com tratamento, em comparação ao método convencional de nitrificação/desnitrificação (Ali et al., 2015; Jetten et al., 2001; Wang et al., 2016).

Desde a descoberta da oxidação anaeróbia de amônia, vários processos utilizando bactérias com atividade Anammox têm sido implementados para otimizar a remoção autotrófica de nitrogênio em águas residuais. Casagrande et al. (2013) atingiram elevadas cargas de remoção de nitrogênio (até $20 \text{ kgN.m}^{-3}\text{d}^{-1}$) trabalhando com reatores com ativida-

de Anammox, chegando a valores 66 vezes maiores quando comparado ao processo convencional. Esses resultados demonstram a potencial eficiência que esses processos são capazes de atingir e justifica a tendência mundial de utilização desses microrganismos no tratamento de efluentes concentrados em nitrogênio.

Como qualquer processo biológico, bactérias com atividade Anammox podem ser inibidas em determinadas condições operacionais ou sob a presença/ausência de algum composto específico. Além do oxigênio, o processo pode ser afetado pelos efeitos do pH, temperatura, tensão de cisalhamento e concentração de substratos e produtos. Por isso, o controle e otimização do processo quando aplicado é extremamente importante para eficiência global do sistema de remoção de nutrientes.

Processos combinados de desamonificação

As discussões apresentadas nos itens anteriores permitem a reflexão a respeito da combinação dos processos de nitrificação parcial e Anammox, em termos de uma nova proposta de tecnologia para remoção de nitrogênio. Dá-se o nome de desamonificação a toda tecnologia que opere simultaneamente com ambos os processos: nitrificação parcial e Anammox (De Prá et al., 2012; Dosta et al., 2015; Gilbert et al., 2015; Magrí et al., 2012).

Essa tecnologia surge como uma alternativa promissora para a eliminação de altas cargas de nitrogênio em digestatos e pode ser realizada utilizando dois ou até mesmo um único reator. Como já mencionado anteriormente, as bactérias responsáveis pelo processo de nitrificação parcial são aeróbias e, portanto, necessitam de oxigênio durante sua atividade metabólica.

Por outro lado, as bactérias responsáveis pelo processo Anammox são anaeróbias, tendo sua atividade estagnada quando submetidas a determinadas concentrações de oxigênio dissolvido. Devido a essa condição, esses dois processos costumam ser operados separadamente, objetivando maior controle operacional e eficiência na remoção de nitrogênio.

No entanto, com a evolução e desenvolvimento de novas tecnologias, os últimos estudos têm proposto que ambas as bactérias possam coexistir em um único reator, desde que o sistema seja mantido em condições limitadas de oxigênio dissolvido (Wett et al., 2007).

Um esquema dos processos combinados de desamonificação está reproduzido na Figura 11.

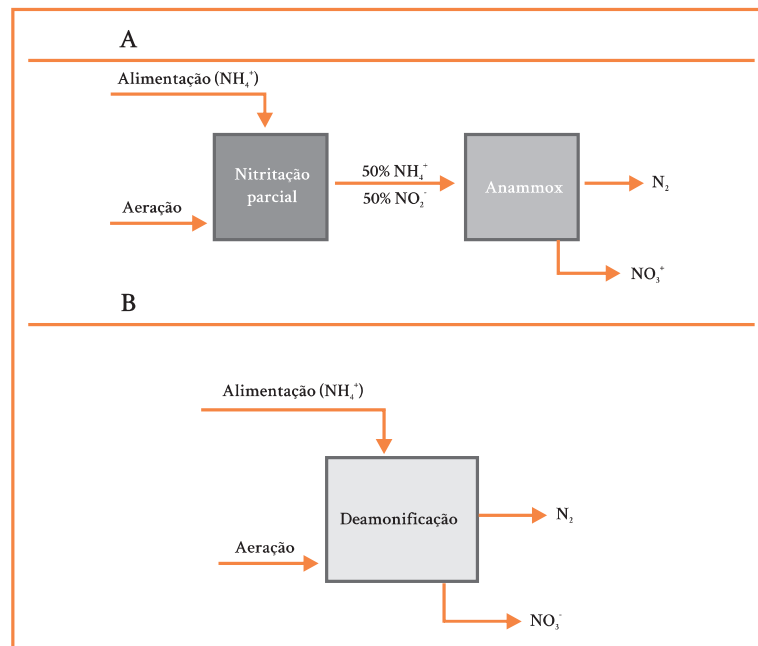


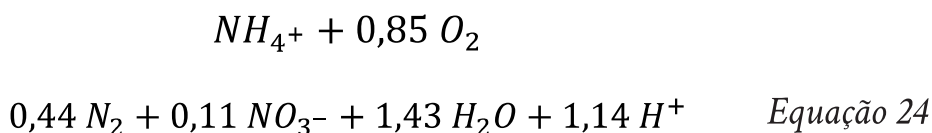
Figura 11. Esquema do processo de nitritação parcial + Anammox utilizando dois (A) e um único (B) reator para operação da tecnologia de desamonificação.

De fato, é fácil imaginar uma situação conforme a Figura 11A, onde existe um primeiro reator operando em condições de aerobiose, com apenas atividade das BOA, e um segundo operando em anaerobiose, com apenas atividade de bactérias Anammox. No entanto, essa relação de oxidação da amônia no primeiro reator de nitritação parcial pode ser difícil de manter, ocasionando problemas posteriores no reator Anammox (Cho et al., 2011). Dessa forma, a eficiência global de eliminação do nitrogênio nesses sistemas é totalmente limitada pelo processo de nitritação do primeiro reator. Isso porque, além da oxidação da amônia, existe uma exigência grande de controle operacional do oxigênio, de modo que o processo de NP consuma todo o oxigênio dissolvido do líquido antes de entrar no reator Anammox subsequente.

Caso algum desequilíbrio ocorra e uma concentração maior de oxigênio entre no reator Anammox, a eficiência global de remoção de nitrogênio será comprometida. Isso demonstra a importância no controle operacional do processo, de modo a manter a estabilidade da atividade das bactérias oxidadoras de amônia para não diminuir a eficiência de remoção de nitrogênio no processo Anammox.

Apesar de parecer contraditório, a demanda pelo controle operacional e exigência técnica diminui quando operamos em vez de dois, em um único reator, conforme o esquema representativo da Figura 11B. Nesta tecnologia, as bactérias aeróbias oxidadoras de amônia encontram-se em situação de simbiose com as bactérias anaeróbias Anammox, de forma a perfazerem um consórcio único para eliminação do nitrogênio.

Em termos de reação, esse processo consiste na oxidação parcial da amônia a nitrito (pela atividade das BOA) sob condição de oxigênio limitado e, subsequentemente, na conversão do nitrito produzido junto com parte do amônio remanescente a nitrogênio gasoso (pela atividade de bactérias Anammox), formando uma pequena quantidade de nitrato. A combinação reacional de ambos os processos resulta na reação global de remoção de nitrogênio descrita na Equação 24.

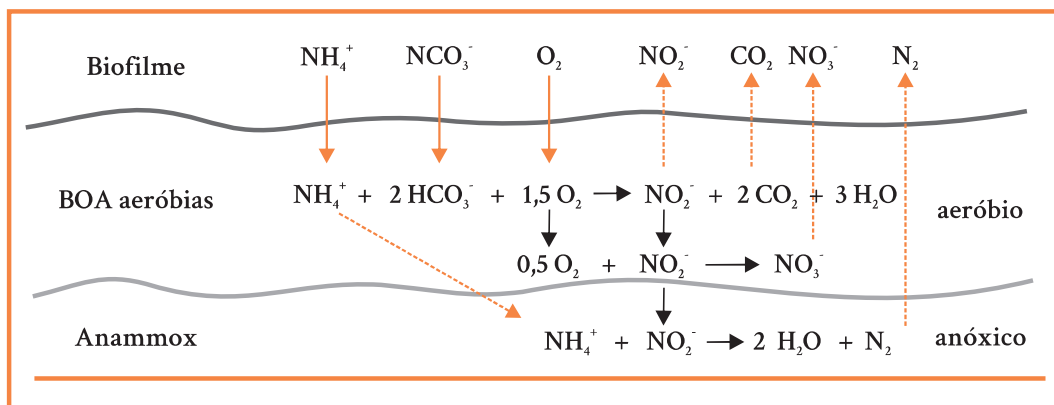


O processo Canon (do inglês *Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) é um conhecido processo de desamonificação em etapa única, e foi inicialmente proposto para operar reatores do tipo batelada sequencial (SBR, do inglês *sequence batch reactor*) a 35 °C (Figuerola et al., 2012; Third et al., 2001). No entanto, nos últimos anos, novas configurações têm sido propostas para realizar a remoção de nitrogênio sob temperaturas menores de operação (Chang et al., 2013; González-Martínez; Gonzalez-Lopez, 2016; Laurení et al., 2016; Veys et al., 2010), todas objetivando a redução dos custos produtivos e simplicidade de operação para o aumento de escala do processo.

Configuração de reatores

O processo de desamonificação foi originalmente proposto em reatores do tipo SBR mas atualmente as tecnologias evoluíram e a proposta também é válida para sistemas contínuos, com biofilme e reatores *airlift* (Egli et al., 2003; Leix et al., 2017; Reino et al., 2016).

Nos sistemas com biofilme, os reatores eliminam o nitrogênio pela formação de uma película, onde na parte externa estão concentradas as BOA e no interior do biofilme as bactérias com atividade Anammox. Assim, teoricamente, na parte superficial do biofilme irá ocorrer a conversão parcial do nitrogênio amoniacal para nitrito e subsequentemente na zona anóxica do biofilme, o nitrito e o restante da amônia residual serão convertidos a N₂ pela atividade das Anammox, conforme ilustra a Figura 12.



Fonte: Adaptado de Zhu et al. 2008

Figura 12. Esquema representativo das transformações bioquímicas do nitrogênio no processo de desamonificação em biofilmes.

No mesmo contexto dos sistemas com biofilme, os reatores que trabalham com biomassa em suspensão também possuem um gradiente de concentração de substrato e OD, ou seja, enquanto a parte externa do grânulo permanece em condições aeróbias para realizar a nitrificação parcial, a parte interna mantém condição de anaerobiose para que ocorra atividade das Anammox (Figura 13).

Essa configuração de reator, devido a maior área superficial para transferência de massa, vem tomando destaque e preferência de utilização pela capacidade em alcançar cargas maiores de remoção de N. Essa

condição abre possibilidade para aplicação da desamonificação a baixas temperaturas, sem perder significativamente a eficiência na remoção de nitrogênio quando comparado aos sistemas com biofilme a 30 °C- 35 °C.

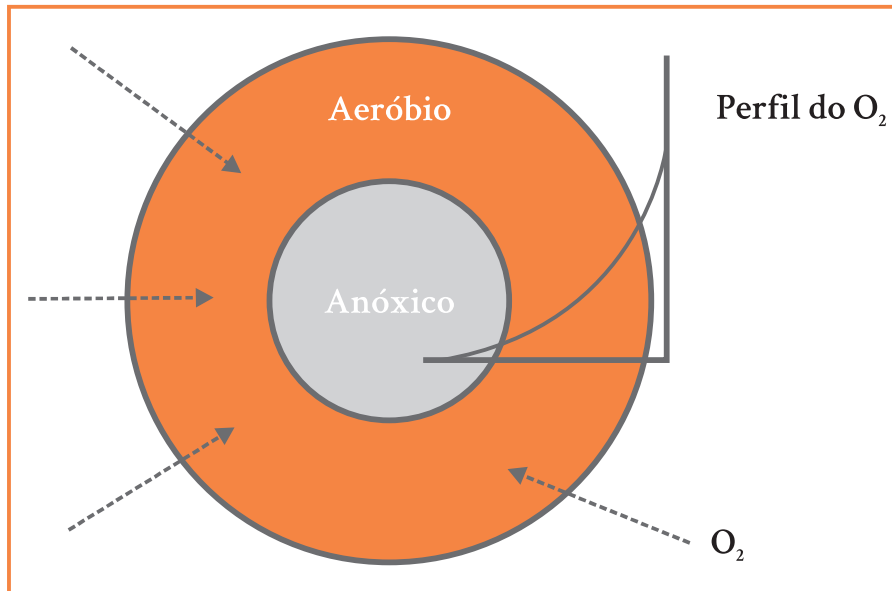


Figura 13. Esquema do perfil de concentração de oxigênio em um floculo microbiano.

É importante salientar que reatores que trabalham com biomassa em suspensão podem ser limitados pela resistência na transferência de massa. Como o nitrito produzido na camada externa do grânulo é consumido pelas bactérias que se encontram na parte interna, o oxigênio acaba sendo o principal fator para controle da taxa global, o que pode ser atribuído à difusão no grânulo ou a transferência de gás-líquido no meio.

Parâmetros de controle

O controle do processo de desamonificação obedece quase que totalmente aos parâmetros referentes ao processo de nitrificação parcial e ao processo Anammox. A diferença irá residir na escolha do parâmetro utilizado para inibição seletiva das BON e nos efeitos que este pode causar para as bactérias Anammox. Apesar disso, usualmente, a eficiência do processo de desamonificação está ligada diretamente a três fatores principais: à concentração de oxigênio dissolvido, à concentração de amônia e ao controle da população de BOA.

Quanto ao oxigênio dissolvido, por ser o aceptor de elétrons no processo de nitrificação parcial, acaba sendo o principal fator para controle da estequiometria global do processo, além de estar diretamente relacionado à transferência de massa e à conversão da amônia para nitrito. Elevadas concentrações de oxigênio dissolvido podem causar a inibição do processo de desamonificação tanto para as bactérias Anammox (que são anaeróbias), como por suprimir as BOA, com a produção excessiva de nitrito, que por sua vez, dependendo da concentração, também apresenta-se tóxico para a atividade Anammox (De Prá et al., 2016).

A concentração de amônia está diretamente relacionada com a disponibilidade de oxigênio, mas pode ser crítica para o processo, pois serve como substrato tanto para as BOA como para as Anammox. Assim, caso haja acúmulo de amônia no reator, ou toda amônia seja oxidada a nitrito, o processo terá sua eficiência reduzida substancialmente devido ao desequilíbrio no sistema. Existe um grande número de estudos do processo de desamonificação em escala laboratorial onde, devido às condições operacionais, a carga volumétrica aplicada é mais baixa do que a aplicada ao Anammox. Contudo, como somente um reator é requerido, há economia significativa que pode ser vantajosa dependendo do efluente a ser tratado.

Quanto às populações microbianas, a interação entre as bactérias aeróbias e anaeróbias presentes no sistema desempenham papel fundamental para o desenvolvimento da desamonificação. Enquanto as BOA demandam amônia e oxigênio como fonte de substrato e elétrons, as Anammox exigem amônia e nitrito. Sabendo que as BON exigem nitrito e oxigênio, caso estejam presentes no meio, podem interromper o processo de desamonificação devido à competição por oxigênio com as BOA e por nitrito com as Anammox. Por isso, manter a seletividade e inter-relação das populações microbianas é fundamental no processo de desamonificação.

Usualmente, as pesquisas têm sido conduzidas principalmente a elevadas temperaturas. Isso porque temperaturas superiores a 25 °C favorecem a atividade Anammox, bem como agem expandindo as diferenças entre a velocidade de crescimento das BOA em relação as BON. Segundo Veys et al. (2010), a temperatura ideal para operação do pro-

cesso de desamonificação é 30 - 35°C, no entanto, devido à dificuldade e custos energéticos, estudos recentes vêm mostrando maiores vantagens em operar reatores com menores cargas aplicadas, mas à temperatura ambiente (20 °C-25 °C) (Chang et al., 2013; Cui, 2012; Wett et al., 2015).

Esse processo têm se mostrado uma tecnologia revolucionária para a remoção de nitrogênio. No entanto, ainda é necessária a realização de maiores investigações e trabalhos de pesquisa que possam contribuir para que esse processo ganhe ampla difusão e se consolide totalmente.

Tendências e outros processos em desenvolvimento

Conforme já mencionado, o processo de desamonificação têm se mostrado uma das mais inovadoras alternativas para o tratamento biológico de águas residuárias nos últimos anos. Com a sua descoberta na década de 2000, uma forma completamente nova de remoção de nitrogênio se tornou disponível. Ao longo dos últimos anos, muitas tecnologias foram desenvolvidas e estudadas para a sua aplicabilidade em efluentes reais e várias já conseguiram transferir essa tecnologia para a escala real de operação.

Desde o primeiro reator Anammox implantado em escala real (para o tratamento de águas residuárias em Dokhaven, Rotterdam, Holanda) e estabilizado em 2002, existem 114 (incluindo dez em construção e oito na fase de projeto) relatadas unidades de desamonificação ao redor do mundo (Lackner et al., 2014) e esse número está aumentando rapidamente. A maioria das plantas (88 de 114) foram construídas na Europa, seguido da China e da América do Norte, dados de 2014.

Embora o primeiro reator Anammox implantado tenha apenas 70 m³ de volume (Lackner et al., 2014; Van Der Star et al., 2007), a capacidade para reatores de desamonificação tem aumentado rapidamente. Plantas em escala real com mais de 142.000 m³ de capacidade de volume estão atualmente em operação, que pode tratar 134 toneladas por dia de carga de nitrogênio. A maioria destas estações de tratamento em escala real foi implantada para tratar águas residuárias municipais. Até agora, ainda não foram aplicadas em escala real para o tratamento de efluentes agroindustriais ou agropecuários.

Inicialmente, visando melhor controle operacional, as plantas utilizaram o processo de desamonificação em duas etapas e em dois reatores, fazendo uso de sistemas já consolidados de nitrificação parcial. Com a experiência de implantação, o foco mudou principalmente para a desamonificação em etapa única e, desde então, a tendência de implantação de um único reator vem aumentando ano após ano. Segundo Lackner et al. (2014), aproximadamente 88% das plantas operando em escala real atualmente são operadas em uma configuração e etapa única de desamonificação.

Várias plantas têm implementado suas próprias estratégias de desamonificação e as diferenças residem principalmente no ciclo de alimentação (intermitente *vs.* contínuo), na disposição da biomassa (suspensa *vs.* fixa) e no controle da aeração (intermitente *vs.* contínua). Outro fato a ser salientado é que tecnologias tradicionais também têm sido modificadas e utilizadas eficientemente para aplicação do processo de desamonificação em etapa única.

Devido às reduções de custos que foram alcançadas, à estabilidade das instalações, bem como a facilidade de seu controle, em combinação com requisitos de remoção mais rigorosas de nitrogênio a ser implementado, o processo de desamonificação é susceptível de ser implementado em maior escala nos próximos anos. Além da aplicação em águas residuárias municipais, efluentes industriais têm uma força potencial de utilização.

Dentro de um pacote tecnológico e visando cumprir com a legislação ambiental vigente, tecnologias de desamonificação serão certamente enquadradas para digestatos. Sua aplicação e demanda de operações unitárias estão diretamente relacionadas com o tipo de efluente e são caminhos a serem explorados cientificamente para em um futuro próximo transformar essa tecnologia em realidade e grande escala de operação no Brasil.

Referências

- ADOUANI, N. et al. Effect of the carbon source on N₂O emissions during biological denitrification. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 54, n. 5, p. 299–302, 2010.
- AHN, J. H. et al. N₂O Emissions from Activated Sludge Processes, 2008–2009: Results of a National Monitoring Survey in the United States. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 12, p. 4505–4511, jun. 2010.
- ALI, M. et al. Physiological characterization of anaerobic ammonium oxidizing bacterium 'Candidatus Jettenia caeni'. **Environmental Microbiology**, v. 17, p. n/a-n/a, 2015.
- ANTHONISEN, A. C. et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 48, p. 835-852, 1976.
- RICE, E. W.; BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; CLESCERI, L. S. (Ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2012.
- BAILEY, R. A. et al. Solid waste disposal and recycling. In: **Chemistry of the Environment**. 2nd ed. Scienc Direct, 2002. p. 769–792.
- BITTON, G. **Wastewater Microbiology**. Hoboken: John Wiley and Sons, 2005.
- BOCK, E.; WAGNER, M. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source. In: **The prokaryotes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 83–118.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res11/res43011.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2019.

CANZIANI, R. et al. Effect of oxygen concentration on biological nitrification and microbial kinetics in a cross-flow membrane bioreactor (MBR) and moving-bed biofilm reactor (MBBR) treating old landfill leachate. **Journal of Membrane Science**, v. 286, n. 1–2, p. 202–212, 2006.

CASAGRANDE, C. G.; KUNZ, A.; DE PRÁ, M. C.; BRESSAN, C. R.; SOARES, H. M. High nitrogen removal rate using ANAMMOX process at short hydraulic retention time. **Water Science and Technology**, v. 67, p. 968-975, 2013.

CHANG, X. et al. Performance of a completely autotrophic nitrogen removal over nitrite process for treating wastewater with different substrates at ambient temperature. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 4, p. 688–697, 2013.

CHO, S. et al. Development of a simultaneous partial nitrification and anaerobic ammonia oxidation process in a single reactor. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 652–659, 2011.

CHUNG, Y.-J. et al. Treatment of swine wastewater using MLE process and membrane bio-reactor. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 5–6, 2004.

CIUDAD, G. et al. Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1715–1719, 2005.

CUI, F. **Cold CANON: Anammox at low temperatures**. 2012. 118 f. (Master of Science in Civil Engineering) - Sanitary Engineering Section, Department of Water Management, Faculty of Civil Engineering and Geosciences, Delft University of Technology, Delft.

DE PRÁ, M. C. et al. Partial nitritation + ANAMMOX process for nitrogen removal from swine wastewater. In: ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 2012, Dallas. **Proceedings...** St. Joseph: ASABE, 2012.

DE PRÁ, M. C. et al. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using the partial nitritation process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 88, n. 9, 2013. DOI:10.1002/jctb.3803.

DE PRÁ, M. C. et al. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. **Bioresource Technology**, v. 202, p. 33–41, fev. 2016.

DOSTA, J. et al. Two-step partial nitritation/anammox process in granulation reactors: start-up operation and microbial characterization. **Journal of Environmental Management**, v. 164, p. 196–205, 2015.

EGLI, K. et al. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. **Microbial Ecology**, v. 45, n. 4, p. 419–432, 2003.

ELEFSINIOTIS, P.; WAREHAM, D. G. Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 1–2, p. 92–97, 2007.

FATMA - FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE. **Instrução Normativa n. 11**, Suinocultura. Florianópolis, 2014. 37 p. Disponível em: <http://www.fatma.sc.gov.br/ckfinder/userfiles/arquivos/ins/11/IN%2011%20Suinocultura.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2016.

FIGUEROA, M. et al. Is the CANON reactor an alternative for nitrogen removal from pre-treated swine slurry? **Biochemical Engineering Journal**, v. 65, 2012.

GALÍ, A. et al. Two ways to achieve an anammox influent from real reject water treatment at lab-scale: Partial SBR nitrification and SHARON process. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 715–720, 2007.

GALLOWAY, J. N. et al. **Transformation of the nitrogen cycle**: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, v. 320, n. 5878, p. 889–892, maio 2008.

GARCÍA-HORSMAN, J. A. et al. The superfamily of heme-copper respiratory oxidases. **Journal of bacteriology**, v. 176, n. 18, p. 5587–600, set. 1994.

GERARDI, M. H. **Nitrification and denitrification in the activated sludge process**. [s.l.]: John Wiley & Sons, 2002.

GILBERT, E. M. et al. Comparing different reactor configurations for Partial Nitrification/Anammox at low temperatures. **Water Research**, v. 81, p. 92–100, set. 2015.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, A.; GONZALEZ-LOPEZ, J. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal : effect of protein and amino acids degradation. **Amino Acids**, v. 48, n. 5, p. 1123-1130, maio 2016.

GRADY, C. P. L. et al. **Biological wastewater treatment**. 3rd ed. [s.l.]: CRC Press, 2011.

HAUCK, M. et al. Removing nitrogen from wastewater with side stream anammox: What are the trade-offs between environmental impacts? Resources, **Conservation and Recycling**, v. 107, p. 212–219, fev. 2016.

HELLINGA, C. et al. The sharon process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 9, p. 135–142, 1998.

HENZE, M. **Wastewater treatment: biological and chemical processes**. [s.l.]: Springer, 2010.

HER, J. J.; HUANG, J. S. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. **Bioresource Technology**, v. 54, n. 1, p. 45–51, 1995.

HOCKING, M. B. Ammonia, nitric acid and their derivatives. In: HOCKING, M. B. **Modern chemical technology and emission control**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1985. p. 205–233.

HOOVER, A. B. et al. Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrate by bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 71, p. 59–67, 1997.

HORSTKOTTE, G. A. et al. Full-Scale testing of a water reclamation system. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 46, n. 1 p. 181-197, 1974.

HU, Z. et al. Metagenome analysis of a complex community reveals the metabolic blueprint of anammox bacterium “candidatus jettienia asiatica”. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 366, 2012.

ISAKA, K. et al. Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtrated reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 70, n. 1, p. 47–52, 2006.

JERIS, J. S.; OWENS, R. W. Pilot-scale, high-rate biological denitrification. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 47, n. 8, p. 2043–2047, aug. 1975.

JETTEN, M. S. M. et al. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 283–288, 2001.

JETTEN, M. S. M. et al. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 44, n. 2–3, p. 65–84, 2009.

KARTAL, B. et al. Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation. **Nature**, v. 479, n. 7371, p. 127–130, 2011.

KHIN, T.; ANNACHHATRE, A. P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 519–532, set. 2004.

KISHIDA, N. et al. Effect of C/N ratio on nitrous oxide emission from swine wastewater treatment process. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 5–6, 2004.

KLOTZ, M. G.; STEIN, L. Y. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. **FEMS microbiology letters**, v. 278, n. 2, p. 146–56, jan. 2008.

KNOBELOCH, L. et al. Blue babies and nitrate-contaminated well water. **Environmental health perspectives**, v. 108, n. 7, p. 675–8, jul. 2000.

LACKNER, S. et al. Full-scale partial nitrification/anammox experiences – An application survey. **Water Research**, v. 55, p. 292–303, maio 2014.

LAURENI, M. et al. Mainstream partial nitrification and anammox: long-term process stability and effluent quality at low temperatures. **Water Research**, v. 101, p. 628–639, 2016.

LEIX, C. et al. Strategies for enhanced deammonification performance and reduced nitrous oxide emissions of experiment (DoE) nitrogen removal Nitrous oxide (N_2O) emissions N_2O mitigation strategies Single-stage deammonification. **Bioresource Technology**, v. 236, p. 174–185, 2017.

LOTTI, T. et al. Pilot-scale evaluation of anammox-based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater. **Environmental Technology**, v. 36, n. 9, p. 1167–1177, 3 maio 2015.

MAGRÍ, A. et al. Partial nitrification of swine wastewater in view of its coupling with the anammox process. **Journal of Environment Quality**, v. 41, n. 6, p. 1989–2000, 2012.

MENDONÇA, L. C. **Microbiologia e cinética de sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbico de leito expandido**. 2002. 240 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MILLER, D. N.; VAREL, V. H. Swine manure composition affects the biochemical origins, composition, and accumulation of odorous compounds. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 9, p. 2131–2138, 2003.

MOIR, J. W. B.; WOOD, N. J. Nitrate and nitrite transport in bacteria. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 58, n. 2, p. 215–224, fev. 2001.

MULDER, A. et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor *Fems Microbiology Ecology*, 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1574-6941.1995.tb00281.x>>. Acesso em: 20 fev. 2019.

PARK, S.-M. et al. Biological nitrogen removal using bio-sorbed internal organic carbon from piggery wastewater in a post-denitrification MLE process. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 5–6, 2004.

REINO, C. et al. Kinetic and microbiological characterization of aerobic granules performing partial nitrification of a low-strength wastewater at 10°C. **Water Research**, v. 101, p. 147–156, 2016.

RICHARDSON, D. J.; VAN SPANNING, R. J. M.; FERGUSON, S. J. The prokaryotic nitrate reductases. In: BOTHE, H.; FERGUSON, S. J.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Biology of the nitrogen cycle**. [s.l.]: Elsevier, 2007. p. 21–35.

RICO, C. et al. Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure in pilot plant for biogas production: Residual methane yield of digestate. **Waste Management**, v. 31, n. 9–10, p. 2167–2173, set. 2011.

RUIZ, G. et al. Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 2, p. 330–335, 2006.

SADEQ, M. et al. Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 211, n. 5–6, p. 546–554, 2008.

SCHEIBLE, O. K. et al. **Manual: Nitrogen Control**. [s.l.] Environmental Protection Agency, 1993.

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

SPANNING, R. J. M. VAN; RICHARDSON, D. J.; FERGUSON, S. J. Introduction to the Biochemistry and Molecular Biology of Denitrification. In: BOTHE, H.; FERGUSON, S. J.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Biology of the nitrogen cycle**. [s.l.]: Elsevier, 2007. p. 3–20.

STROUS, M. et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, p. 589–596, 1998.

TANG, C. J. et al. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 135–144, 2011.

TCHOBANOGLOUS, G. et al. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th ed. New York: Ed. McGraw Hill USA, 2003. 1819 p.

THIRD, K. A et al. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: interaction and competition between three groups of bacteria. **Systematic and applied microbiology**, v. 24, n. 4, p. 588–596, 2001.

VAN DER STAR, W. R. L. et al. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale anammox reactor in rotterdam. **Water Research**, v. 41, n. 18, p. 4149–4163, 2007.

VAN RIJN, J.; TAL, Y.; SCHREIER, H. J. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 364–376, maio 2006.

VELHO, V. F. et al. Effect of COD/N ratio on N₂O production during nitrogen removal by aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 76, n. 12, p. 3452–3460, dez. 2017.

VEYS, P. et al. Performance analysis and optimization of autotrophic nitrogen removal in different reactor configurations: a modelling study. **Environmental technology**, v. 31, n. 12, p. 1311–1324, 2010.

VOLCKE, E. I. P. et al. Coupling the SHARON process with anammox: model-based scenario analysis with focus on operating costs. **Water Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 107–115, 2005.

WANG, Z. et al. Gene expression and biomarker discovery of anammox bacteria in different reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 115, p. 108–114, 2016.

WETT, B. et al. Key parameters for control of DEMON deammonification process. **Water Practice**, v. 1, n. 5, p. 1–12, 2007.

WETT, B. et al. Expanding DEMON sidestream deammonification technology towards mainstream application. **Water Environment Research**, v. 87, n. 12, p. 2084–2089, 2015.

WIESMANN, U.; CHOI, I.; DOMBROWSKI, E. **Fundamentals of biological wastewater treatment**. Weinheim: Wiley-VCH, 2007.

WRAGE, N. et al. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 12–13, p. 1723–1732, out. 2001.

YAMAMOTO, T. et al. Novel partial nitrification treatment for anaerobic digestion liquor of swine wastewater using swim-bed technology. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 102, n. 6, p. 497–503, 2006.

YAMAMOTO, T. et al. Partial nitrification and anammox of a livestock manure digester liquor and analysis of its microbial community. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 2342–2347, 2011.

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

YE, R. W.; THOMAS, S. M. Microbial nitrogen cycles: physiology, genomics and applications. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 307–312, 2001.

YOON, S. et al. Denitrification versus respiratory ammonification: environmental controls of two competing dissimilatory $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ reduction pathways in *Shewanella loihica* strain PV-4. **The ISME Journal**, v. 9, n. 5, p. 1093–1104, maio 2015.

ZIEMER, C. J. et al. Dietary protein and cellulose effects on chemical and microbial characteristics of swine feces and stored manure. **Journal of Environment Quality**, v. 38, n. 5, p. 2138, 2009.

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