



INVESTIGAÇÃO DA EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO EM SISTEMAS
NITRIFICANTES UTILIZANDO REATORES COM BIOMASSA ADERIDA

Renato Rocha Valério

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: João Paulo Bassin
Isabelli Dias Bassin

Rio de Janeiro
Abril de 2021

INVESTIGAÇÃO DA EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO EM SISTEMAS
NITRIFICANTES UTILIZANDO REATORES COM BIOMASSA ADERIDA

Renato Rocha Valério

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Orientadores: João Paulo Bassin

Isabelli Dias Bassin

Aprovada por: Prof. João Paulo Bassin

Profa. Isabelli Dias Bassin

Profa. Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Prof. Renato Pereira Ribeiro

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

ABRIL DE 2021

Valério, Renato Rocha

Investigação da emissão de óxido nitroso em sistemas nitrificantes utilizando reatores com biomassa aderida/
Renato Rocha Valério. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2021.

XXIV, 233 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: João Paulo Bassin

Isabelli Dias Bassin

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2021.

Referências Bibliográficas: p. 159-180.

1. Emissão de óxido nitroso. 2. Reatores de leito móvel com biofilme – *MBBR*. 3. Nitrificação. I. Bassin, João Paulo *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Fatima.

Aos meus Avós Geralda e Aloysio.

A Paulo Roberto e Adalgisa, em memória.

AGRADECIMENTOS

O caminho foi longo, sou eternamente grato a cada um que de alguma forma pôde contribuir para o meu crescimento e por todas as palavras de incentivo. Agradeço a Deus e a todas as boas energias que me mantiveram firmes e abriram os caminhos nos dias bons e nos ruins também.

Sem dúvidas, meu maior agradecimento é para a minha mãe, Fatima Valério. Minha melhor amiga, que hoje, pode estar aqui comigo para ver que tudo o que fez foi recompensado. Nunca vou me esquecer do seu trabalho intenso em prol do meu desenvolvimento, você fez o seu melhor e tenho muito orgulho disso. Foi graças a senhora que percebi que a educação é a solução e que um jovem negro, pobre e periférico pode sim correr atrás dos seus sonhos com muita ética. Meu pai está no outro plano muito orgulhoso de você, te amo!

Agradeço imensamente aos meus avós, Aloysio, Geralda, Adalgisa e à minha madrinha, Heloisa. Vocês também foram essenciais na minha caminhada. Obrigado, Pai, Paulo, que em espírito olhou por mim. Vítor, muito obrigado por estar comigo durante mais essa etapa, todo carinho do mundo para a gente é pouco.

Sou muito grato aos meus professores orientadores João Paulo Bassin e Isabelli Bassin por todo o suporte oferecido. Foram muitas conversas leves e construtivas. Vocês contribuíram muito para o meu desenvolvimento profissional.

Um agradecimento especial a todos os amigos que a vida, de forma muito generosa, colocou no meu caminho. Obrigado por todo abrigo, caronas, abraços, brassagens e carnavais que ajudaram tanto a me manter são. Aos amigos do LabPol, Cyntia, Nicolay, Kalina, Fernanda, Alan, Thainá e Yan, obrigado pelas risadas e momentos incríveis que tivemos. Muito obrigado aos amigos do IFRJ, Alexander, Léo, Sérgio e Michelle. Agradeço, também, ao professor e amigo Renato Ribeiro por todo o auxílio nas análises e atividades de campo na temática de N₂O.

Agradeço aos professores Renato Ribeiro e Márcia Dezotti pela participação na banca avaliadora desse trabalho.

E um agradecimento generoso e fraterno a todos os funcionários do PEQ/COPPE e do LabPol, onde fui muito bem acolhido durante essa jornada.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

INVESTIGAÇÃO DA EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO EM SISTEMAS NITRIFICANTES UTILIZANDO REATORES COM BIOMASSA ADERIDA

Renato Rocha Valério

Abril/2021

Orientadores: João Paulo Bassin

Isabelli Dias Bassin

Programa: Engenharia Química

Neste trabalho, foi avaliada a emissão de óxido nitroso (N_2O), bem como a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N) em dois reatores de leito móvel com biofilme (*MBBR*) (R1 e R2) submetidos a diversas cargas superficiais de NH_4^+-N sob condição autotrófica. O estudo foi realizado em três etapas, de acordo com as faixas de cargas aplicadas: baixas ($0,3 - 4 \text{ g } NH_4^+-N/(m^2.d)$), médias ($4,1 - 8 \text{ g } NH_4^+-N/(m^2.d)$) e altas ($8,1 - 25 \text{ g } NH_4^+-N/(m^2.d)$). Para avaliar o efeito do suporte de adesão microbiana, o R1 foi preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1 e o R2 com o Mutag Biochip. Houve diferença significativa entre o desempenho de remoção de NH_4^+-N dos reatores somente em condições de altas cargas aplicadas. A máxima carga removida no R1 foi de $9,9 \text{ g } NH_4^+-N/(m^2.d)$, superior à observada no R2 ($7,5 \text{ g } NH_4^+-N/(m^2.d)$). Para o R1, a emissão de N_2O aumentou em função do acréscimo da carga nitrogenada aplicada, apresentando fluxo de emissão máximo de $4,6 \text{ g } N_2O-N/(m^2.d)$. Já no R2, a emissão foi menor e menos influenciada pelo aumento da carga afluyente, atingindo fluxo de emissão máximo de $1,4 \text{ g } N_2O-N/(m^2.d)$. Os teores de amônia livre e o acúmulo de nitrito no meio, bem como a forma de adesão microbiana nos suportes, influenciaram na emissão de N_2O . Os fatores de emissão de N_2O variaram entre 0,03 e 1,1 % do NH_4^+-N afluyente, valores inferiores ao proposto pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (*IPCC*) 2019, sugerindo que o sistema *MBBR* é uma alternativa para atingir altos índices de nitrificação com baixa emissão de N_2O mesmo sob elevadas cargas nitrogenadas.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

INVESTIGATION OF THE NITROUS OXIDE EMISSION IN NITRIFIER SYSTEMS USING ATTACHED BIOMASS REACTORS

Renato Rocha Valério

April/2021

Advisors: João Paulo Bassin

Isabelli Dias Bassin

Department: Chemical Engineering

In this work, the emission of nitrous oxide (N_2O) and the ammoniacal nitrogen removal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) were evaluated in two moving-bed biofilm reactors (MBBR) (R1 and R2), subjected to varying $\text{NH}_4^+\text{-N}$ surface loading rates under autotrophic conditions. The study was carried out in three stages, according to the applied load ranges: low ($0.3 - 4 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), medium ($4.1 - 8 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) and, high ($8.1 - 25 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$). To evaluate the effect of the carrier media for microbial adhesion, R1 was filled with AnoxKaldnes K1 media and the R2 with the Mutag Biochip media. A significant difference between the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal performance between the reactors was only observed at high applied loads. The maximum load removed in R1 was $9.9 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, higher than that observed in R2 ($7.5 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$). For R1, the N_2O emission increased as the applied nitrogen load was incremented, showing a maximum emission flux of $4.6 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. In R2, the emission was lower and less influenced by the increase in the influent load, reaching a maximum emission flux of $1.4 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. Free ammonia concentrations and nitrite accumulation in the bulk, as well as the form of microbial adhesion to the carriers, influenced the emission of N_2O . The N_2O emission factors varied between 0.03 and 1.1 % of the influent $\text{NH}_4^+\text{-N}$, lower than the values proposed by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) 2019, suggesting that the MBBR system proved to be an alternative to achieve high nitrification rates with low N_2O emission even under high nitrogen loading rates.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
1- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
1.1 – Introdução	1
1.2 – Objetivos.....	6
1.2.1 – Objetivo geral	6
1.2.2 – Objetivos específicos	6
CAPÍTULO 2	7
2- BASE TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 – Ocorrência e problemas da contaminação de nitrogênio em efluentes.....	7
2.2 – Remoção biológica de nitrogênio	10
2.2.1 – Nitrificação	11
2.2.2 – Desnitrificação	15
2.2.3 – Novos processos para a remoção biológica de N	17
2.3 – Sistemas de tratamento utilizados para a remoção biológica de N em águas residuárias	19
2.3.1 – Sistemas de RBN com biomassa suspensa	21
2.3.2 – Sistemas de RBN com biomassa aderida.....	23
2.3.3 – Formação de biofilmes microbianos em sistemas de tratamento de águas residuárias	23
2.3.4 – Reatores de leito móvel com biofilme (<i>Moving Bed Biofilm Reactor -MBBR</i>)	25
2.4 – Óxido nitroso (N ₂ O).....	30
2.4.1 – Panorama ambiental e fontes de emissão.....	30
2.4.2 – Etapas de formação de N ₂ O na remoção biológica de N.....	36
2.4.3 – Parâmetros operacionais de controle da geração de N ₂ O	38
2.4.4 – Geração de N ₂ O em sistemas de tratamento com biofilmes	41

2.4.5 – Determinação da emissão e dos fatores de emissão de N ₂ O em sistemas de tratamento de efluentes	45
CAPÍTULO 3	55
3- METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	55
3.1 – Descrição dos sistemas reacionais: <i>MBBR</i> nitrificantes	55
3.2 – Efluente	60
3.3 – Planejamento de ensaios experimentais.....	61
3.4 – Detalhamento das análises realizadas	64
3.4.1 – Análise de sólidos aderidos totais (SAT) - Mutag Biochip	66
3.4.2 – Amostragem, quantificação de N ₂ O emitido e determinação de vazão de ar insuflado nos reatores	67
3.4.3 – Procedimento para coleta e análise quantitativa dos grupos microbianos nitrificantes utilizando a técnica de hibridização in situ por fluorescência (<i>FISH</i>)....	70
3.4.4 – Ensaios cinéticos de remoção de N amoniacal em batelada	73
3.4.5 – Análises estatísticas utilizadas	73
3.5 – Principais cálculos efetuados	74
3.5.1 – Balanço de nitrogênio, carga superficial e eficiência de remoção (η).....	74
3.5.2 – Determinação de sólidos aderidos totais e voláteis, atividade específica de remoção de NH ₄ ⁺ -N e taxa de desprendimento de biofilme	76
3.5.3 – Determinação da concentração de amônia livre (NH ₃ -N) e ácido nitroso (HNO ₂ -N)	78
3.5.4 – Determinação da concentração (mg/L) de N ₂ O quantificado, fluxo de emissão de N ₂ O e fator de emissão (FE) de N ₂ O	79
CAPÍTULO 4	82
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
4.1 – Remoção de nitrogênio amoniacal.....	82
4.2 – Balanço de nitrogênio e influência das condições do sistema no processo nitrificante	92
4.3 – Óxido nitroso	102

4.3.1 – Fluxos de emissão e variáveis envolvidas na emissão de N ₂ O.....	102
4.3.2 – Determinação dos fatores de emissão (FE) de N ₂ O.....	117
4.4 – Perfil de biomassa e taxas específicas de remoção de N amoniacal.....	125
4.4.1 – Teor de sólidos suspensos e aderidos e observação do biofilme	125
4.4.2 – Capacidade de remoção específica de NH ₄ ⁺ -N e emissão específica de N ₂ O-N dos <i>MBBR</i> nitrificantes	135
4.5 – Ensaio cinético de remoção de N amoniacal	147
4.6 – Avaliação de organismos nitrificantes através da técnica de <i>FISH</i>	149
CAPÍTULO 5	153
5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	153
5.1 – Conclusões	153
5.2 – Sugestões para trabalhos futuros.....	157
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	159
7- ANEXOS.....	181
Anexo (a)	181
Anexo (b)	187
Anexo (c)	207

LISTA DE FIGURAS

Figura 2-1: Especificação do N amoniacal para temperatura de 25 °C (Fonte: METCALF e EDDY, 2016).....	9
Figura 2-2: Ciclo biogeoquímico do nitrogênio a partir do NH_4^+ presente no sistema (Fonte: Adaptado de Ye e Thomas, 2001).....	10
Figura 2-3: Mecanismos reacionais das etapas de nitrificação e nitratação, explicitando a produção biológica do N_2O , como subproduto da oxidação da hidroxilamina (I) e da desnitrificação autotrófica (II) (Fonte: Adaptado de Li <i>et al.</i> , 2017 e Ribeiro, 2017). .	13
Figura 2-4: Etapas de conversão do N na desnitrificação, onde o N_2O é um intermediário do processo (Fonte: Adaptado de Li <i>et al.</i> , 2017).	15
Figura 2-5: Etapas do processo de nitrificação parcial - <i>anammox</i> (Fonte: Adaptado de Sanchez <i>et al.</i> , 2014).....	18
Figura 2-6: Esquema do sistema de pré-desnitrificação, também denominado Ludzack-Ettinger modificado (Fonte: Adaptado de Desloover <i>et al.</i> 2012).	22
Figura 2-7: Esquemático de sistema de pós-desnitrificação, também conhecido como processo <i>Whurman</i> (Fonte: Adaptado de Desloover <i>et al.</i> , 2010).....	23
Figura 2-8: Etapas de formação do biofilme microbiano acompanhada de fotomicrografias (Fonte: Adaptado de Hadla, 2018).....	24
Figura 2-9: Esquema de reatores <i>MBBR</i> aeróbio à esquerda e anóxico/anaeróbio à direita (Fonte: Adaptada de Rusten <i>et al.</i> , 2006).	26
Figura 2-10: Evolução da concentração de N_2O a partir do início do período da revolução industrial até os anos 2000 (Fonte: Adaptado de <i>UNEP</i> , 2013).....	30
Figura 2-11: Crescimento linear da concentração de N_2O a partir da década de 1980 até o ano de 2020 (Fonte: Adaptado de <i>NOAA</i> , 2020).	31
Figura 2-12: Projeções estimadas para os valores de forçamento radioativo do N_2O até o ano de 2050 (Fonte: Adaptado de <i>UNEP</i> , 2013).	32
Figura 2-13: Perfis de geração de N_2O e CFCs entre os anos de 1970 e 2100 (Fonte: Adaptado de <i>UNEP</i> , 2013).	33
Figura 2-14: Principais fontes de emissão de N_2O (Fonte: Adaptado de <i>UNEP</i> , 2013). 34	
Figura 2-15: Projeção da emissão de N_2O na América do Sul de 1970 a 2050	35

Figura 2-16: Rotas de produção e consumo de N ₂ O na remoção biológica de N em processos de tratamento de efluentes e as enzimas envolvidas em cada conversão (Fonte: Adaptado de Desloover <i>et al.</i> , 2012).	38
Figura 2-17: Principais fatores responsáveis pela emissão de N ₂ O em sistemas que realizam remoção de N. [NO ₂ ⁻] representa a concentração de nitrito, enquanto C/N indica a relação carbono orgânico/nitrogênio (Fonte: Adaptado de Kampschreur <i>et al.</i> 2009 e Bortoli <i>et al.</i> 2012).	39
Figura 2-18: Geração de N ₂ O em biofilmes nitrificantes. A seta indica o gradiente de concentração do N ₂ O em direção ao <i>bulk</i> , salientando-se que não há o consumo de N ₂ O nesse sistema autotrófico (Fonte: Adaptado de Sabba <i>et al.</i> , 2018).	43
Figura 2-19: Geração de N ₂ O em biofilmes desnitrificantes. A seta contínua representa o transporte de N ₂ O produzido no biofilme em direção ao <i>bulk</i> e a seta pontilhada a difusão do N ₂ O para o interior do biofilme (Fonte: Adaptado de Sabba <i>et al.</i> , 2018).	44
Figura 2-20: Geração de N ₂ O em biofilmes que realizam NDS. A seta preta representa transporte de N ₂ O produzido no biofilme em direção ao <i>bulk</i> e a seta preta pontilhada a difusão do N ₂ O para o interior do biofilme (Fonte: Adaptado de Sabba <i>et al.</i> , 2018).	45
Figura 3-1: Esquema dos reatores utilizados nos ensaios de nitrificação	55
Figura 3-2: Suporte (a) AnoxKaldnes K1 e (b) Mutag Biochip TM (Fonte: Rusten <i>et al.</i> (2006) e Multiumwelttechnologie ag (2019b)).	57
Figura 3-3: Esquema dos sistemas nitrificantes estudados. Os reatores R1 e B1 foram preenchidos com o suporte AnoxKaldnes K1 e os reatores R2 e B2 com o Mutag Biochip (Fonte: Elaboração própria, 2020).	59
Figura 3-4: Fotografia dos sistemas nitrificantes (Fonte: Autoria própria, 2019).	59
Figura 3-5: Esquemático relativo à amostragem dinâmica e do encapsulamento do gás emitido pelos reatores para a análise de N ₂ O (Fonte: Elaboração própria, 2020).	68
Figura 4-1: Carga superficial de NH ₄ ⁺ -N removida (em pontos) para as diferentes cargas superficiais amoniacais aplicadas, bem como as linhas indicando diferentes eficiências de remoção teóricas (100, 80, 50 e 30 %) para os reatores R1 e R2.	83
Figura 4-2: Valores médios de cargas superficiais amoniacais removidas e seus respectivos desvios padrão, bem como a eficiência de remoção de N amoniacal (%) para cada faixa de carga de N amoniacal aplicada aos reatores R1 e R2.	84
Figura 4-3: Perfil de concentrações de NH ₄ ⁺ -N afluyente (igual para os dois reatores) e efluente dos reatores R1 e R2.	90

Figura 4-4: Balanço das espécies nitrogenadas solúveis afluyente e efluente nos reatores R1 e R2.	92
Figura 4-5: a) Relação entre NO_2^- -N efluente e NO_x -N efluente e b) Razão entre os produtos nitrogenados oxidados (NO_2^- -N e NO_3^- -N) por NH_4^+ -N removido. N_r indica o nitrogênio amoniacal removido.	95
Figura 4-6: Perfis estimados de a) NH_3 -N livre, b) HNO_2 -N e c) pH para os reatores R1 e R2.	97
Figura 4-7: (a) Fluxos médios de N_2O -N, em $\text{g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e (b) Fluxos médios de N_2O -N com tendências ajustadas com ajuste exponencial. A curva cinza pontilhada é referente ao R1, a curva preta contínua se refere ao R2 e a curva preta pontilhada ilustra os fluxos de N_2O -N teóricos de acordo com FE médio proposto pelo <i>IPCC</i> 2019 para sistemas de tratamento centralizados e com remoção intencional de N (FE <i>IPCC</i> = 1,6 %).	103
Figura 4-8: Perfis de carga de N amoniacal removida e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	106
Figura 4-9: Perfis de concentração de N amoniacal efluente e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	107
Figura 4-10: Perfis de concentrações de NH_3 -N livre e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	109
Figura 4-11: Perfis de concentração de NO_2^- -N efluente (concentração igual ao do interior dos reatores) e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	110
Figura 4-12: Perfis de concentrações de HNO_2 -N e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	114
Figura 4-13: Fatores de emissão de N_2O -N percentuais (FE %) normalizados pela carga de N afluyente ($100 \cdot (\text{g N}_2\text{O-N}/\text{d})/(\text{g NH}_4^+\text{-N}/\text{d})$) para as faixas de cargas superficiais de NH_4^+ -N aplicadas aos reatores R1 e R2, com os respectivos desvios padrão. A linha preta pontilhada horizontal representa o FE % médio pressuposto pelo <i>IPCC</i> 2019, isto é, 1,6 %, para sistemas de tratamento de efluentes centralizados que realizam a remoção intencional de N.	117
Figura 4-14: a) Correlação entre o fator de emissão de N_2O -N (%) e a carga superficial de N amoniacal média aplicada, em $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, para cada grupo de ensaio (GE) estudado e b) valores médios de FE de N_2O -N (%) para cada GE e seus respectivos desvios padrão amostrais.	118

Figura 4-15: Perfis de SST, SSV e da fração SSV/SST para as cargas superficiais aplicadas aos reatores R1 e R2.	125
Figura 4-16: Teores de SAT, SAV e relação SAV/SAT frente às diferentes cargas superficiais de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas aos reatores R1 e R2 (área de 0,05 m ²).....	127
Figura 4-17: Perfil de SAV e SSV (em g/L) e da razão (em percentual) entre os sólidos suspensos e aderidos voláteis e os sólidos voláteis totais (SSV/SVT e SAV/SVT) para os reatores R1 e R2.	130
Figura 4-18: Imagens obtidas em estereoscópio relativas ao biofilme autotrófico aderido aos suportes AnoxKaldnes K1 (R1) e Mutag Biochip (R2) em função do aumento da carga de N amoniacal aplicada.....	132
Figura 4-19: Taxas de desprendimento de biofilme em função da carga nitrogenada aplicada para os reatores R1 e R2.....	134
Figura 4-20: Remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e carga removida para cada faixa de carga aplicada para os reatores R1 e R2.....	136
Figura 4-21: Perfis de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os reatores R1 e R2.	138
Figura 4-22: Comparativo entre a emissão específica de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os reatores R1 e R2.	140
Figura 4-23: Comparativo entre o desempenho médio de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os reatores durante os grupos de ensaios realizados.....	142
Figura 4-24: Resumo das condições médias de cada grupo de ensaio estudado (GE-3, GE-2 e GE1) e da emissão e do FE de N_2O para o reator R1.	145
Figura 4-25: Resumo das condições médias de cada grupo de ensaio estudado (GE-3, GE-2 e GE1) e da emissão e do FE de N_2O para o reator R2.	146
Figura 4-26: Remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em ensaio cinético em batelada para os reatores R1 e R2. As linhas pontilhadas são relativas ao ajuste linear para cada um dos sistemas....	147
Figura 4-27: Frações das comunidades nitrificantes frente ao total organismos do grupo de eubactéria (BOA/EUB e BON/EUB) presentes nos reatores R1 e R2. Os desvios padrão relativos a cada resultado estão mostrados à parte para melhor visualização dos resultados.....	150
Figura 7-1: Perfil de OD, em mg $\text{O}_2\text{/L}$, para os intervalos de cargas de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas para os reatores R1 e R2.....	184

Figura 7-2: Relações entre as espécies nitrogenadas solúveis efluentes ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e $\text{NO}_3^-\text{-N}$) e o somatório de todas as espécies nitrogenadas solúveis efluentes ($\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_2^-\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$) para os reatores R1 e R2.	185
Figura 7-3: Variações temporais do pH afluente e efluente para o R1 e R2 durante o ensaio de variação de pH em batelada na ausência de microrganismos.	186
Figura 7-4: Variação de NH_3 livre (mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$) e pH durante as variações de cargas de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas para os reatores R1 e R2.	186
Figura 7-5: Perfil de contribuição da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$, em kg $\text{CO}_{2\text{eq}}/\text{ano}$ para as faixas de cargas de N amoniacal aplicadas aos reatores R1 e R2.	190
Figura 7-6: Perfis de pH e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	191
Figura 7-7: Perfis de OD e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	192
Figura 7-8: Perfis de temperatura e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	193
Figura 7-9: Perfis de vazão de ar insuflado (Q_{ar}) e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	194
Figura 7-10: Perfis sólidos totais (suspensos totais + aderidos totais) expressos como ST, sólidos voláteis totais (sólidos suspensos voláteis + sólidos aderidos voláteis), expressos como SVT, bem como o perfil de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.	195
Figura 7-11: Correlação entre a carga superficial aplicada (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R1.	196
Figura 7-12: Correlação entre a carga superficial aplicada (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R2.	196
Figura 7-13: Correlação entre a carga superficial removida (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R1.	197
Figura 7-14: Correlação entre a carga superficial removida (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R2.	197
Figura 7-15: Correlação entre a concentração de NH_3 livre efluente (mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R1.	197
Figura 7-16: Correlação entre a concentração de NH_3 livre efluente (mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R2.	198

Figura 7-17: Correlação entre a concentração de NO_2^- efluente (mg NO_2^- -N/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	198
Figura 7-18: Correlação entre a concentração de NO_2^- efluente (mg NO_2^- -N/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	198
Figura 7-19: Correlação entre a concentração de HNO_2 efluente (mg HNO_2 -N/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	199
Figura 7-20: Correlação entre a concentração de HNO_2 efluente (mg HNO_2 -N/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	199
Figura 7-21: Correlação entre o pH efluente e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	199
Figura 7-22: Correlação entre o pH efluente e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	200
Figura 7-23: Correlação entre o teor de OD (mg O_2 /L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	200
Figura 7-24: Correlação entre o teor de OD (mg O_2 /L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	200
Figura 7-25: Correlação entre a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	201
Figura 7-26: Correlação entre a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	201
Figura 7-27: Correlação entre a vazão volumétrica de ar insuflado (m^3/d) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	201
Figura 7-28: Correlação entre a vazão volumétrica de ar insuflado (m^3/d) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	202
Figura 7-29: Correlação entre a concentração de sólidos voláteis totais (g SVT/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	202
Figura 7-30: Correlação entre a concentração de sólidos voláteis totais (g SVT/L) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	202
Figura 7-31: Correlação entre a remoção específica de NH_4^+ -N (mg NH_4^+ -N/(g SVT. d)) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R1.	203
Figura 7-32: Correlação entre a remoção específica de NH_4^+ -N (mg NH_4^+ -N/(g SVT. d)) e a emissão de N_2O -N (mg N_2O -N/d) para o reator R2.	203
Figura 7-33: Mapa qualitativo de ocorrência de emissão de N_2O para as condições combinadas de carga de NH_4^+ aplicada, NH_3 livre efluente e NO_2^- efluente para o reator	

R1. A sequência de cores é relativa a um conjunto de condições experimentais analisada, no qual cada sequência significa uma possibilidade de ocorrência.	207
Figura 7-34: Mapa qualitativo de ocorrência de emissão de N ₂ O para as condições combinadas de carga de NH ₄ ⁺ aplicada, NH ₃ livre efluente e NO ₂ ⁻ efluente para o reator	
R2. A sequência de cores é relativa a um conjunto de condições experimentais analisada, no qual cada sequência significa uma possibilidade de ocorrência.	208

LISTA DE TABELAS

Tabela 2-1: Estados de oxidação do nitrogênio em compostos nitrogenados.	7
Tabela 2-2: Etapas das reações enzimáticas envolvidas na desnitrificação.	16
Tabela 2-3: Exemplos de tecnologias de tratamento e suas classificações quanto a forma de desenvolvimento da biomassa no sistema.	20
Tabela 2-4: Diferentes suportes usados para o crescimento microbiano em sistemas <i>MBBR</i>	28
Tabela 2-5: Valores adotados para FE de N ₂ O para alguns tipos de sistemas de tratamento de efluentes municipais e industriais.	47
Tabela 2-6: Estudos em escala real que avaliaram o FE em sistemas de tratamento com biomassa aderida.	49
Tabela 2-7: Estudos em escala de bancada que avaliaram remoção de N e a emissão de N ₂ O associada em processos com biomassa aderida.	52
Tabela 3-1: Propriedades dos suportes utilizadas nos ensaios nos <i>MBBR</i> nitrificantes.	57
Tabela 3-2: Informações operacionais dos reatores nitrificantes R1 e R2.	58
Tabela 3-3: Composição do efluente sintético utilizado nos <i>MBBR</i> nitrificantes.	60
Tabela 3-4: Composição da solução estoque de micronutrientes utilizada na composição do efluente sintético para os <i>MBBR</i> nitrificantes.	61
Tabela 3-5: Planejamento dos ensaios de nitrificação.	62
Tabela 3-6: Comparativo entre teores de N em diferentes efluentes e as faixas estudadas nessa pesquisa.	63
Tabela 3-7: Ensaios analíticos realizados para os ensaios de nitrificação.	64
Tabela 3-8: Sondas oligonucleotídicas utilizadas para cada grupo microbiano alvo.	72
Tabela 4-1: Valores dos coeficientes de correlação (r), obtido através de ajuste de potência e as correlações de Pearson (ρ) entre diferentes parâmetros e a emissão de N ₂ O-N.	116
Tabela 4-2: Comparativo entre os valores absolutos de emissão de N ₂ O-N e os FE de N ₂ O-N (%) para os valores médios de carga aplicada em cada grupo de ensaio estudado para os reatores R1 e R2.	119
Tabela 4-3: Coeficientes de correlação (r) e de Pearson (ρ) entre a taxa de remoção específica de NH ₄ ⁺ -N e a taxa de emissão de N ₂ O-N (mg N ₂ O-N/d), para os reatores R1 e R2.	141

Tabela 4-4: Comparativo entre as taxas de remoção específica máxima de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, obtidas nos ensaios em batelada, e a taxa de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em condições normais de operação, em regime contínuo com TRH de 3 h.	148
Tabela 4-5: Principais variáveis dos sistemas <i>MBBR</i> nitrificantes para as faixas de carga amoniacal aplicada em que foram realizadas as análises de <i>FISH</i>	149
Tabela 7-1: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar as remoções de N amoniacal durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R1.	181
Tabela 7-2: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar as remoções de N amoniacal durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R2.	182
Tabela 7-3: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os desempenhos nas remoções de N dos dois reatores para a mesma faixa de carga de N amoniacal aplicada.	183
Tabela 7-4: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar os fluxos de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R1.	187
Tabela 7-5: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar os fluxos de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R2.	188
Tabela 7-6: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os fluxos de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ observados nos dois reatores para a mesma faixa de carga de N amoniacal aplicada.	189
Tabela 7-7: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar as cargas de N amoniacal removidas e as emissões de $\text{N}_2\text{O-N}$ observadas nos dois reatores para um mesmo grupo de ensaio (GE).	204
Tabela 7-8: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (<i>FISH</i>) observados entre faixas de carga aplicadas em que a análise foi realizada para o R1.	205
Tabela 7-9: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (<i>FISH</i>) observados entre faixas de carga aplicadas em que a análise foi realizada para o R2.	205
Tabela 7-10: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (<i>FISH</i>) observados entre as mesmas faixas para reatores diferentes.	206
Tabela 7-11: Faixas consideradas para a classificação qualitativa dos mapas de possibilidades de emissão de N_2O para os reatores R1 e R2.	209

LISTA DE SIGLAS

AMO	Amônio Mono-Oxigenase
Anammox	Anaerobic Ammonium Oxidation
AOA	Arqueas Oxidadoras de Amônio
atm	atmosfera (Unidade de Pressão)
ATP	Adenosina Trifosfato
B1	Reator Backup 1
B2	Reator Backup 2
BOA	Bactérias Oxidadoras de Amônio
BON	Bactérias Oxidadoras de Nitrito
C/N	Carbono/Nitrogênio
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
CANON	Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite
CEMMA	Centro Experimental de Monitoramento e Mitigação Ambiental
CFCs	Clorofluorcarbonos
CG	Cromatógrafo Gasoso
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de Carbono
D	Diâmetro
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DFBBR	Denitrifying Fluidized Bed Bioreactor - Reator de leito fluidizado desnitrificante
DNH	Desnitrificação Heterotrófica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ECD	Electron Capture Detector - Detector de Captura de Elétrons
EPS	Substancias Poliméricas Extracelulares
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes

ETRI	Estação de Tratamento de Águas Residuárias Industriais
EUB	Eubactéria
FE	Fator de Emissão
FISH	Hibridização in situ por Fluorescência
GE-1	Grupo de Ensaios 1
GE-2	Grupo de Ensaios 2
GE-3	Grupo de Ensaios 3
GEE	Gás de Efeito Estufa
Gg	Gigagrama
GWP	Global Warming Potential - potencial de aquecimento global
H	Altura
H ⁺	Hidrônio
H ₂ O	Água
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HNO ₂	Ácido Nitroso
HOR	Hidroxilamina Óxido-Redutase
Hz	Hertz (unidade de frequência)
<i>IFAS</i>	Integrated fixed-film activated sludge
IFRJ - Nilópolis	Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - Campus Nilópolis
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Changes - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas
Kt	Kilotonelada
LABPOL	Laboratório de Controle e Poluição das Águas
MBBR	Moving Bed Biofilm Reactor - Reator de Leito Móvel com Biofilme
<i>MBR</i>	Membrane Bio Reactor
mM	milimolar (mmol/L)

N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio Molecular
N ₂ O	Óxido Nitroso
N _{af}	Nitrogênio Afluente
NaHCO ₃	Bicarbonato de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NaR	Nitrato Redutase
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas
NH ₂ OH	Hidroxilamina
NH ₃	Amônia
NH ₄ ⁺	Amônio
NH _x	Nitrogênio Amoniacal
NiOR	Nitrito Óxido-Redutase
NIR	Nitrito Redutase
NO	Óxido Nítrico
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration - Administração Oceânica e Atmosférica Nacional dos Estados Unidos
NOR	Óxido Nítrico Redutase
N-org	Nitrogênio Orgânico
NOS	Óxido Nitroso Redutase
NT	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total Kjeldal
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
OD	Oxigênio Dissolvido
P	Fósforo

P1	Peso 1
P2	Peso 2
PBS	Tampão Fosfato Salino
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKa	Produto da constante de acidez
ppb	partes por bilhão ($\mu\text{g/L}$)
ppbv	parte por bilhão em unidade volumétrica
ppm	partes por milhão (mg/L)
Q	Vazão volumétrica de ar insuflado
R1	Reator 1
R2	Reator 2
r^2	Coefficiente de determinação
RBN	Remoção Biológica de Nutrientes
RBS	Reator com Batelada Sequencial
rpm	rotações por minuto
SAF	Sólidos Aderidos Fixos
SAT	Sólidos Aderidos Totais
SAV	Sólidos Aderidos Voláteis
SBBR	Sequencing Batch Biofilm Reactor - reatores com biofilme em batelada sequencial
Sharon	Single-reactor High-activity Ammonia Removal Over Nitrite
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
SVT	Sólidos Voláteis Totais
T	Temperatura
Tg	Teragrama

TRH	Tempo de Retenção Hidráulica
TRS	Tempo de Retenção de Sólidos
UASB	Reatores anaeróbios com fluxo ascendente e manta de lodo
UCT	University of Cape Town
UNEP	United Nations Environment Programme (Programa Ambiental das Nações Unidas)
UV-B	Ultravioleta - B
V_R	Volume do Reator
V_s	Volume de Suportes
V_s/V_R	Razão de Recheio
W	Watts (unidade de potência)
ρ	Coefficiente de Pearson

CAPÍTULO 1

1- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 – Introdução

Dois terços da população mundial, até 2025, terão acesso limitado a água potável, de acordo com estudos realizados em 2013 pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (*United Nations Environment Programme - UNEP*). A intensa produção de efluentes líquidos ocasionada pelo crescimento populacional e industrial é a causa majoritária da poluição dos recursos hídricos disponíveis. A redução na disponibilidade de água potável, atrelada à imposição de padrões de descarte de efluentes cada vez mais restritivos impulsionam a procura por tecnologias de tratamento mais eficientes e menos custosas, visando a remoção não somente de matéria orgânica, mas também de nutrientes e poluentes emergentes (SCARE, 2003).

A remoção da matéria orgânica e de nutrientes (nitrogênio (N) e fósforo (P)) são etapas imprescindíveis para o tratamento do esgoto doméstico e para muitos efluentes industriais. Sabe-se, porém, que diversos países ainda apresentam poucas restrições legais no que tange aos limites de despejo desses compostos, principalmente dos nutrientes.

As formas inorgânicas de N, quando lançadas em corpos hídricos, são responsáveis por problemas de poluição ambiental bastante conhecidos, tal como o fenômeno de eutrofização artificial (atrelado ao aporte excessivo de nutrientes) e doenças como a síndrome do bebê azul, causada pelo excesso de íons nitrato (NO_3^-), principalmente quando consumido por crianças com até seis meses de vida (JORDÃO; PESSOA, 2014).

No Brasil, a maioria das estações de tratamento de efluentes (ETE) é projetada para a remoção de matéria orgânica, obtida por meio da oxidação biológica dos compostos orgânicos biodegradáveis na etapa classificada como tratamento secundário. Poucas estações em operação realizam a remoção biológica de nutrientes (RBN) de forma intencional, a maioria necessita de adaptações no projeto para realizar remoção completa e eficiente do N e P do efluente a ser tratado.

A remoção biológica de N é baseada no seu ciclo biogeoquímico natural, no qual a remoção do nitrogênio total (NT) presente em um efluente é realizada a partir da conversão das formas nitrogenadas aquosas e biodegradáveis a N molecular (N_2) (YE e

THOMAS, 2001; PHILIPS, 2008). Os conhecidos processos de nitrificação e desnitrificação são amplamente estudados e utilizados para tal fim. Na etapa de nitrificação, realizada por bactérias autotróficas, de crescimento lento, acontece a conversão do íon amônio (NH_4^+) ao NO_3^- . Por sua vez, na desnitrificação, o NO_3^- é convertido a N_2 por bactérias heterotróficas (BASSIN, 2011a). A ocorrência da nitrificação resulta apenas na conversão das formas nitrogenadas, com redução da toxicidade do efluente, sendo necessária a desnitrificação para a efetiva remoção do NT da corrente tratada (OLIVEIRA; VON SPERLING, 2005).

Grande parte das ETE do país faz uso de processos de tratamento biológico com biomassa suspensa, sem remoção controlada de N. A temperatura ambiente elevada, comum em regiões tropicais, combinada a elevados tempos de retenção hidráulica (TRH) e de sólidos (TRS), potencializam a oxidação do NH_4^+ a NO_3^- por via nitrificante. No entanto, a remoção de N da corrente líquida requer a ocorrência da desnitrificação, de forma que há uma maior complexidade operacional nos processos quando comparados aos que somente removem matéria orgânica.

Para que haja a remoção intencional do N, o controle da concentração de oxigênio dissolvido (OD), do potencial hidrogeniônico (pH), do potencial de oxirredução, da idade do lodo, dentre outros parâmetros, deve ser realizado, o que pode aumentar o grau de complexidade do processo. Frente a esse desafio, processos que fazem uso de biomassa aderida (reatores com biofilmes) podem ser considerados como uma alternativa mais eficiente. O uso da biomassa aderida em substituição à suspensa permite, além da construção de reatores mais compactos e com melhor separação entre a biomassa e o efluente tratado, a operação com maiores idades do lodo no sistema, o que pode favorecer a etapa de nitrificação, e, por conseguinte, a remoção de N. Em alguns casos, a nitrificação e a desnitrificação podem ocorrer simultaneamente (BASSIN *et al.*, 2016).

Diversos sistemas com biofilmes têm sido estudados e dentre eles, o reator de leito móvel com biofilme (*Moving Bed Biofilm Reactor - MBBR*) tem recebido bastante atenção para o tratamento de águas residuárias (BARWAL e CHAUDHARY, 2014). O *MBBR* utiliza suportes móveis, também conhecidos como *biomedia*, nas quais ocorre a formação e fixação do biofilme microbiano, responsável pela degradação dos compostos biodegradáveis presentes no efluente (ØDEGAARD, 2006). Esses reatores, geralmente, são projetados para a degradação de matéria orgânica e de nutrientes, sendo úteis para o tratamento de efluentes domésticos, industriais e podendo ser utilizados tanto em

correntes de tratamento principais, quanto para o tratamento de correntes secundárias, sendo adaptáveis a distintas composições de matéria orgânica e de nutrientes.

Na remoção biológica de N, caso haja controle inadequado ou ausência de ajustes operacionais, a desnitrificação pode ser suprimida ou interrompida em intermediários reacionais. Além disso, há a possibilidade de formação de subprodutos indesejados na etapa de nitrificação. Dentre os possíveis intermediários e subprodutos, deve-se atentar especialmente para o óxido nitroso (N_2O), uma vez que a sua emissão em ETE pode contribuir para as mudanças climáticas por ser considerado um gás regulador da temperatura terrestre (WRAGE *et al.*, 2001).

Na nitrificação, o N_2O pode ser formado como um subproduto da oxidação do intermediário hidroxilamina (NH_2OH) ao íon nitrito (NO_2^-) ou através da decomposição biológica do NO_2^- , no processo conhecido como desnitrificação nitrificante. Durante a desnitrificação, o N_2O é formado como um dos intermediários das etapas da redução do NO_3^- a N_2 (WRAGE *et al.*, 2001).

A importância ambiental do N_2O está relacionada às consequências do incremento da concentração desse gás nas duas primeiras camadas da atmosfera, a troposfera e a estratosfera. O aumento da concentração de N_2O na troposfera decorrente da ação antrópica contribui para a retenção de radiação infravermelha emitida pela superfície terrestre (efeito estufa), contribuindo com aproximadamente 10% do efeito estufa total, sendo assim, relacionado diretamente às mudanças climáticas globais (UNEP, 2013).

Os níveis de N_2O na baixa atmosfera vêm aumentando linearmente nos últimos 40 anos e a sua concentração média atual é de aproximadamente 332 ppb (NOAA, 2020). Apesar da baixa concentração, o N_2O possui potencial de aquecimento global 265 vezes superior ao dióxido de carbono (CO_2) e 9 vezes superior ao metano (CH_4), o que aumenta a problemática relacionada à sua emissão (IPCC, 2014).

O tempo de residência do N_2O na troposfera é próximo a 114 anos, e devido a essa grande estabilidade, parte alcança a estratosfera, onde 4 % é convertido a óxido nítrico (NO), um dos principais gases responsáveis pelo consumo do ozônio (O_3) estratosférico, aumentando a incidência de radiação ultravioleta-B (UV-B) no planeta (McELROY, 2002). Segundo Ravinshankara *et al.* (2009), o N_2O pode se tornar o principal responsável pela redução camada de ozônio ao longo do século XXI. Tal problema era creditado aos clorofluorcarbonos (CFCs), que hoje foram substituídos pelos hidrofluorcarbonos (HFCs) e, conseqüentemente, se apresentam em baixos teores na atmosfera.

Em relatório publicado em 2013, a *UNEP* afirmava que por volta de 3 % das emissões antrópicas de N₂O eram ocasionadas pelos sistemas de tratamento de tratamento de efluentes e por lançamento de esgoto não tratado em corpos hídricos receptores. Contudo, estudos afirmaram que esses valores são subestimados e que a contribuição é de aproximadamente 10 % do total das emissões de N₂O antrópicas diretas (LAW *et al.*, 2012a).

Ressalta-se que a geração e a emissão de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes com remoção biológica de N dependem do projeto e do controle operacional da planta, onde a carga orgânica e a carga nitrogenada afluente, além do teor de oxigênio dissolvido (OD), são parâmetros importantes a serem controlados para reduzir sua emissão (RIBEIRO, 2017).

Ao se adotar medidas de controle operacional que levem em conta a redução da emissão de N₂O, além de se minimizar os impactos ambientais associados há, também, o decréscimo da quantidade carbono equivalente emitida pela ETE, conferindo maior sustentabilidade à planta de tratamento. Estima-se que com o controle da emissão haja uma redução de até 35 % da quantidade de CO₂ equivalente emitido pela estação de tratamento (PARRAVICINI *et al.*, 2016).

As novas diretrizes do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (*Intergovernmental Panel on Climate Changes - IPCC*) propõem um valor médio mais representativo do fator de emissão (FE) de N₂O para sistemas de tratamento de efluentes com remoção biológica de N. No relatório de 2006, o valor médio proposto para o FE, que representa o NT afluente convertido a N₂O, era de 0,035 %, sendo modificado para 1,6 % no relatório mais recente, em 2019. Há um aumento considerável, porém ainda bem próximo ao limite inferior reportado na literatura para sistemas de tratamento de efluentes em escala real (0,001 a 25,3 %) (DEALMAN *et al.*, 2015)

A mudança na consideração é expressiva, porém ainda limitada, visto que o FE foi determinado com base em trinta estudos em escala real, todos utilizando biomassa suspensa (processo de lodo ativado e suas variantes), e com poucos estudos realizados em países de clima tropical, sendo um estudo no Brasil, no Estado do Rio de Janeiro, em uma ETE cuja nitrificação ocorria de forma não intencional (DE MELLO *et al.*, 2013).

O detalhamento e a distinção da emissão de N₂O para diferentes processos de tratamento de efluentes, bem como a compreensão detalhada da dinâmica de emissão do gás frente a diferentes condições operacionais e variações sazonais ainda é restrito na literatura. Sendo assim, proposições de FE de N₂O mais específicos e a implantação de

estratégias de controle de processos que visem a mitigação desse gás são aspectos motivadores para pesquisas na área. Tais estudos são importantes também para uma análise mais realista da emissão de carbono equivalente, produzido na planta, de modo a propor tecnologias de tratamento cada vez mais sustentáveis.

Neste contexto, esse trabalho se propôs a determinar as taxas e fatores de emissão de N_2O , bem como a remoção de NH_4^+-N frente a diferentes condições operacionais aplicadas na primeira etapa de remoção biológica de N, a nitrificação, utilizando sistemas *MBBR* em escala de bancada, preenchidos com diferentes materiais suportes.

Foram determinados, individualmente, os FE de N_2O para sistemas nitrificantes autotróficos submetidos a diferentes cargas nitrogenadas aplicadas, propiciando maior entendimento sobre a dinâmica de produção do N_2O nesta etapa bioquímica do processo, e fornecendo dados básicos e preliminares para estudos em larga escala que possam realizar projeções de FE mais realistas em regiões de clima tropical, particularmente em sistemas com biomassa imobilizada. Dessa forma, essa pesquisa também contribui para o aumento da quantidade de estudos nessa temática no país.

1.2 – Objetivos

1.2.1 – Objetivo geral

Determinar a conversão de N amoniacal, as emissões e os fatores de emissão de N₂O para diferentes condições operacionais aplicadas ao processo de nitrificação em reatores de leito móvel com biofilme (*MBBR*), permitindo definir condições operacionais preliminares para ensaios em escalas ampliadas que visem à mitigação da emissão de N₂O atrelada à maior conversão de N.

1.2.2 – Objetivos específicos

- Operar e monitorar dois reatores de leito móvel com biofilme (*MBBR*) nitrificantes de modo a avaliar a influência de diferentes cargas de nitrogênio amoniacal afluente e do tipo de suporte microbiano utilizado na nitrificação e na emissão de N₂O associada;
- Realizar o balanço de nitrogênio dos sistemas de modo a avaliar a eficiência de tratamento e emissão de N₂O;
- Elucidar os possíveis fatores responsáveis para a variação da emissão de N₂O nas diferentes condições de estudo;
- Sugerir condições operacionais preliminares para ensaios em escalas ampliadas, visando a mitigação da emissão de N₂O associada à melhoria no tratamento, levando em conta a maior sustentabilidade da planta.

CAPÍTULO 2

2- BASE TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesse capítulo são abordados os principais conceitos envolvidos no tratamento biológico de efluentes, com enfoque na remoção biológica de nitrogênio utilizando a tecnologia *MBBR*. São também apresentadas a problemática da geração de N_2O , os mecanismos de formação e os fatores responsáveis pelo incremento da produção desse gás durante as etapas de nitrificação e desnitrificação. Além disso, é apresentada uma contextualização acerca de alguns estudos que avaliaram o FE de N_2O para sistemas de tratamento de efluentes.

2.1 – Ocorrência e problemas da contaminação de nitrogênio em efluentes

O nitrogênio (N), considerado um nutriente essencial para os sistemas aquáticos naturais, está presente em diversos compostos solúveis e insolúveis das águas residuárias (PIVELI *et al.*, 2009). Os diversos estados de oxidação que ele pode apresentar possibilitam a formação de compostos nitrogenados de natureza orgânica ou inorgânica (MADIGAN *et al.*, 1997). A Tabela (2-1) apresenta os estados de oxidação do elemento mais comumente encontrados na natureza.

Tabela 2-1: Estados de oxidação do nitrogênio em compostos nitrogenados.

Composto	Estado de oxidação do N
NO_3^- (Íon Nitrato)	+5
NO_2 (Dióxido de Nitrogênio)	+4
NO_2^- (Íon Nitrito)	+3
NO (Óxido Nítrico)	+2
N_2O (Óxido Nitroso)	+1
N_2 (Nitrogênio Molecular)	0
NH_3/NH_4^+ (Amônia e Íon Amônio)	-3
N orgânico (N-org)	Variável

Fonte: Adaptado de Madigan *et al.*, 1997.

O exemplo mais comum de N orgânico (N-org) está associado às proteínas e aos aminoácidos. Em relação às formas inorgânicas, o elemento pode se apresentar nas formas de N-amoniaco (NH_x), resultante do somatório da espécie não iônica, amônia, (NH_3) e do íon amônio (NH_4^+), na forma de íons nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), além das formas gasosas óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio molecular (N_2).

A disposição excessiva de N em concentrações superiores às necessárias para a atuação como nutriente para o crescimento de organismos, ocasionada pelo aporte de efluentes em corpos hídricos, transforma as suas frações, orgânica e inorgânica, em importantes poluentes. Diversos problemas causados pelo despejo de efluentes enriquecidos com espécies nitrogenadas são conhecidos, sendo o fenômeno de eutrofização em sistemas aquáticos, sobretudo os lânticos, o mais estudado (ZHANG *et al.*, 2014).

O acréscimo de N afeta diretamente a produção primária e indiretamente a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) do ecossistema. A morte de organismos primários, que cresceram em excesso devido ao aporte de nutrientes, ocasiona o acúmulo de matéria orgânica no ambiente. Como consequência, há o crescimento da população microbiana heterotrófica decompositora, que reduz o nível de oxigênio dissolvido (OD) do sistema, causando a morte dos organismos superiores aquáticos presentes no meio, e inviabilizando a utilização da água para diversos fins. Ademais, a oxidação do N pela nitrificação também é um fator responsável pela redução de níveis de OD do meio (BASSIN e DEZOTTI, 2011).

Em efluentes domésticos brutos, grande parte do N se encontra na forma de Nitrogênio Total Kjeldal (NTK), que consiste na soma do N amoniaco (NH_x) e do N-org (NTK = NH_x + N-org), sendo geralmente o N-org constituinte de 40 % da matriz e o NH_x 60 % (VON SPERLING, 2002).

O NH_x pode estar presente tanto na forma de amônia livre (NH_3) quanto de íon amônio (NH_4^+) (METCALFY e EDDY, 2016). A predominância de cada um desses compostos é atrelada à faixa de pH e temperatura em que o efluente se apresenta. Em baixos valores de pH, há predominância de NH_4^+ , enquanto em pH mais elevados há prevalência de NH_3 no sistema, que é volátil. O equilíbrio relacionado entre as espécies de nitrogênio amoniaco é apresentado na Equação (2.1).



A maior parte dos efluentes dispostos em corpos receptores possui pH entre 5 e 9, e com isso, grande parte de NH_x se encontra sob forma de NH_4^+ . Contudo, concentrações de NH_3 livre superiores a 0,2 mg NH_3/L são suficientes para induzir toxicidade crônica à peixes e níveis entre 0,7 e 2,4 mg NH_3/L podem ser letais em exposições curtas (KUBITZA, 1998). A figura (2-1) representa a especiação do N-amoniaco em função do pH do meio para a temperatura de 25 °C.

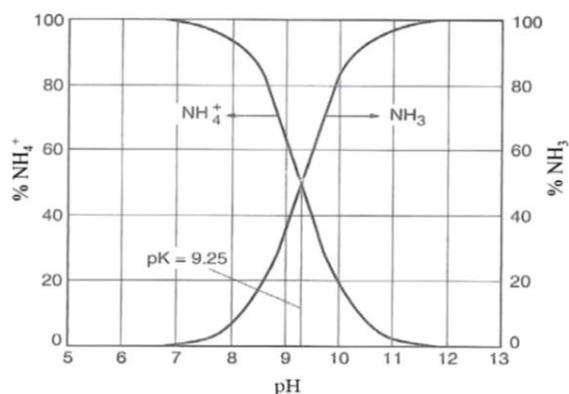


Figura 2-1: Especiação do N amoniaco para temperatura de 25 °C
(Fonte: METCALF e EDDY, 2016).

As formas oxidadas de N, o NO_2^- e o NO_3^- , possuem menor ocorrência em efluentes domésticos brutos, entretanto são comumente encontradas em efluentes que já passaram por processos de biodegradação. São, portanto, indicadores de poluição ambiental mais antiga (VON SPERLING, 2002; JORDÃO, PESSÔA, 2014). Efluentes oriundos de indústrias podem possuir elevadas concentrações dessas formas nitrogenadas, a depender da natureza do processo industrial.

No que tange à presença de NO_2^- em sistemas aquáticos, concentrações superiores a 0,7 mg NO_2^-/L podem ser responsáveis pela mortalidade de peixes de água doce (KUBITZA, 1998). Concentrações de NO_3^- superiores a 10 mg N/L favoreceram a ocorrência de doenças como a metemoglobinemia, caracterizada pela conversão da hemoglobina (Fe^{2+}) a metemoglobina (Fe^{3+}) utilizando o NO_3^- como agente oxidante, o que diminui o transporte de oxigênio (O_2) pela corrente sanguínea (VON SPERLING, 1996; MAHLER *et al.*, 2007). Crianças com menos de seis meses de vida são mais suscetíveis a essa doença, também popularmente conhecida como “síndrome do bebê azul”, cuja pele azulada ocasionada pela falta de O_2 é o principal sintoma visual da doença (KNOBELOCH *et al.*, 2000; MAHLER *et al.*, 2007).

A partir da década de 1980 foi constatado crescente interesse em sistemas de tratamento de efluentes visando a remoção biológica de N (BASSIN e DEZOTTI, 2011). A maior restrição nos limites de lançamento desses poluentes em corpos hídricos impulsionou e tem impulsionado a busca por novos processos tecnológicos de tratamento que apresentem menor custo e maior eficiência de remoção de poluentes de forma a transcender o uso de processos biológicos convencionais.

2.2 – Remoção biológica de nitrogênio

A Remoção Biológica de Nutrientes (RBN) se utiliza das reações metabólicas do ciclo biogeoquímico do N para decompor os compostos nitrogenados presentes em águas residuárias. Ela é considerada uma alternativa de tratamento economicamente mais viável que os processos de natureza físico-química utilizados para esse fim. Dentre as vantagens dos processos biológicos destacam-se o menor gasto energético e a não geração de lodo químico, considerado um passivo ambiental (PHILIPS, 2008; VAN LOOSDRECHT, 2008).

A ação de consórcios microbianos na decomposição do N o transforma em formas mais estáveis na natureza. A sucessão dessas reações é realizada perante às diferentes condições ambientais, requeridas por cada grupo microbiano envolvido. A Figura (2-2) sumariza as possíveis reações do ciclo biogeoquímico do N a partir do NH_4^+ presente no sistema.

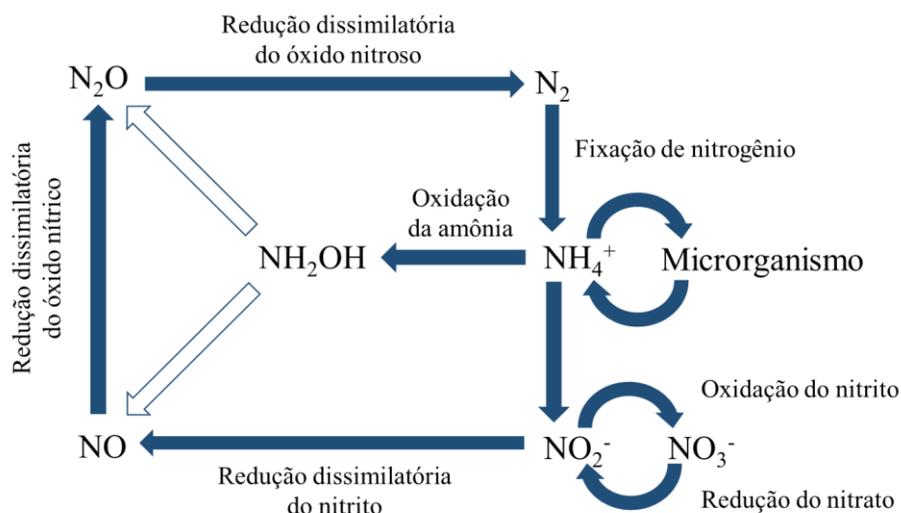


Figura 2-2: Ciclo biogeoquímico do nitrogênio a partir do NH_4^+ presente no sistema (Fonte: Adaptado de Ye e Thomas, 2001).

Além da fração de NH_4^+ representada no ciclo da Figura (2-2), o N orgânico presente é hidrolisado biologicamente e convertido a NH_x pelo processo de amonificação, realizado por microrganismos hidrolíticos. A reação global e simplificada envolvida nesse processo é descrita pela Reação (2.2) (SUN *et al.*, 2010).



O NH_x total, produzido pelas reações de amonificação, somado ao já presente na água residuária, é, em parte, assimilado pelos microrganismos para as reações de crescimento celular (síntese de aminoácidos). Estima-se que para cada 1 g de células ($\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$) formadas, 0,12 g de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ é assimilado. O restante do NH_x pode ser oxidado a NO_3^- , na etapa de nitrificação. Na desnitrificação, o NO_3^- pode ser reduzido a NO , N_2O ou N_2 , formas gasosas liberadas para a atmosfera (METCALF & EDDY, 2003). Os tópicos a seguir abordam os fenômenos de nitrificação e desnitrificação, utilizados para processos de tratamento de efluentes que visam a remoção biológica de N.

2.2.1 – Nitrificação

A nitrificação é a etapa aeróbia e autotrófica de conversão biológica do N presente em águas, nela o N amoniacal é oxidado a NO_3^- em duas etapas principais: a nitritação e a nitratação. A presença do O_2 como aceptor final de elétrons da cadeia respiratória permite a reoxidação das coenzimas presentes nas células e, conseqüentemente, a produção de Adenosina Trifosfato (ATP), fonte energética da célula (BASSIN, 2012).

Atualmente, três grupos de microrganismos conhecidos são responsáveis pelo processo de nitrificação: as Bactérias Oxidadoras de Amônio (BOA), as Arqueas Oxidadoras de Amônio (AOA) e as Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON) (KONNEKE *et al.*, 2005).

As BOA são as principais responsáveis pela oxidação do NH_4^+ a NO_2^- na etapa de nitritação. Esses organismos utilizam o NH_4^+ como substrato inorgânico doador de elétrons, o carbono inorgânico (gás carbônico (CO_2) ou íons bicarbonato (HCO_3^-)) para síntese celular, além do O_2 como aceptor final de elétrons. A reação global da nitritação é apresentada pela Reação Química (2.3) (BASSIN, 2012; ZOOPAS *et al.*, 2016).

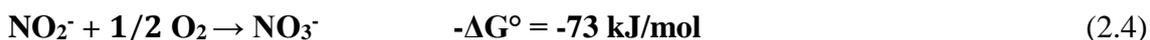


Mais especificamente, a etapa de nitrificação envolve a conversão do NH_4^+ ao intermediário hidroxilamina (NH_2OH) por meio da enzima Amônio Mono-Oxigenase (AMO). Nessa etapa, dois elétrons são requeridos para a redução do O_2 à água (H_2O). Esses elétrons são fornecidos pela oxidação da NH_2OH a NO_2^- mediante a enzima Hidroxilamina Óxido-Redutase (HAO), etapa geradora de energia para as BOA (WRAGE *et al.*, 2001).

Quando a nitrificação não ocorre completamente, o que pode ser causado, por exemplo, por baixos teores de oxigênio dissolvido (OD) no sistema, as BOA produzem NO e N_2O como subprodutos da oxidação da NH_2OH . Nesse caso, há a redução do crescimento celular (CERVANTES *et al.*, 2000). Dessa forma, em função das condições operacionais do sistema e da conversão de NH_2OH , existe a possibilidade de geração de N_2O na nitrificação.

Algumas BOA podem realizar a desnitrificação autotrófica, também conhecida como desnitrificação nitrificante. Elas utilizam o NO_2^- como acceptor final de elétrons e H^+ ou $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ como fonte doadora de elétrons, reduzindo o NO_2^- a NO ou N_2O (POTH and FOCHT, 1985; STEFANAKIS *et al.*, 2014).

Na nitratação, as BON realizam a oxidação do NO_2^- a NO_3^- , etapa catalisada pela enzima Nitrito Óxido-Redutase (NiOR), utilizando o O_2 como acceptor final de elétrons na cadeia respiratória. Essa é a etapa final da nitrificação convencional (WRAGE *et al.*, 2001). A Equação (2.4) representa essa transformação (ZOO PAS *et al.* 2016).



A Figura (2-3), adaptada de Li *et al.* (2017) e Ribeiro (2017), sumariza as etapas de nitrificação e nitratação, apresentando as enzimas envolvidas em cada processo, os intermediários formados (NH_2OH) e o NO e o N_2O , considerados subprodutos das reações de oxidação da hidroxilamina e da desnitrificação autotrófica.

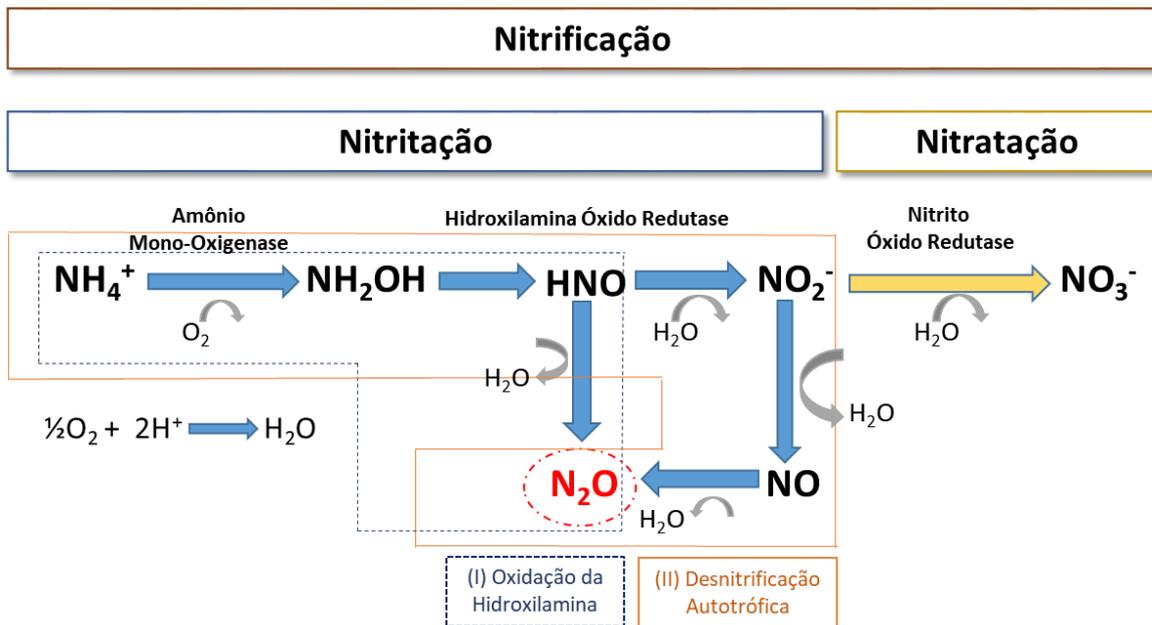
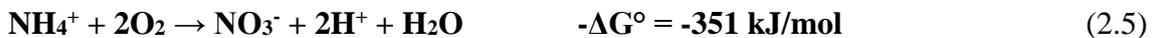


Figura 2-3: Mecanismos reacionais das etapas de nitritação e nitratação, explicitando a produção biológica do N₂O, como subproduto da oxidação da hidroxilamina (I) e da desnitrificação autotrófica (II) (Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2017 e Ribeiro, 2017).

A reação global da nitrificação é apresentada na Reação (2.5) (HENZE *et al.*, 1997, MADIGAN *et al.*, 1997):



De forma global, dois íons hidrônio (H⁺) são liberados e consomem parte da alcalinidade do meio (fornecida pela fonte de carbono inorgânico, também utilizado para o crescimento celular das bactérias autotróficas nitrificantes). Cada 1 g de NH₄⁺-N oxidado consome aproximadamente 8,7 g de HCO₃⁻ em solução, o que em termos de alcalinidade correspondem a 7,1 g de CaCO₃ (Carbonato de Cálcio). Portanto, durante o processo nitrificante pode se observar a redução do pH do meio (VON SPERLING, 1996; KOWALSKI *et al.*, 2010)

A concentração de OD, o pH do meio, a temperatura, a alcalinidade, o tempo de retenção hidráulica (TRH) e o tempo de retenção de sólidos, além da relação C/N, são parâmetros importantes para que ocorra atividade nitrificante satisfatória (BASSIN e DEZOTTI, 2011).

A faixa ótima de pH para a ocorrência da nitrificação está entre 7,0 e 8,5, sendo constatadas perdas significativas na atividade nitrificante em valores de pH inferiores a 6,5 e superiores a 10 (PAINTER and LOVELESS, 1983). Já a temperatura que propicia

maior crescimento e atividade dos organismos nitrificantes varia entre 28 e 36 °C, com redução na atividade microbiana para valores superiores a 45 °C (SHARMA and AHLERT, 1977; SHORE *et al.*, 2012)

Na nitrificação completa são necessários aproximadamente 4,57 g de O₂ por g de N oxidado, no qual 3,43 g são utilizados para a nitrificação e 1,14 g de O₂ para a nitratação. Na ausência ou em baixos teores de OD, a nitrificação parcial pode ser favorecida. As maiores taxas de crescimento das BOA e o maior consumo de O₂ podem prejudicar o metabolismo das BON, consequentemente causando o acúmulo de NO₂⁻ no meio (METCALF & EDDY, 2003).

Elevadas relações C/N, associadas a baixas idades de lodo, também são prejudiciais à nitrificação. Nesse cenário, há a competição entre as bactérias aeróbias heterotróficas e as nitrificantes, sendo as heterotróficas favorecidas devido ao crescimento lento das nitrificantes (HANAKI *et al.*, 1990, CHEN *et al.*, 1991). O rápido desenvolvimento das bactérias heterotróficas consome grande parte do OD disponível para o crescimento das bactérias nitrificantes, desfavorecendo essas últimas. Tanto em sistemas com biomassa suspensa quanto nos com biofilmes, a relação C/N é um parâmetro crucial (TIJHUIS *et al.*, 1994; VAN BENTHUM *et al.*, 1997).

Além disso, as bactérias nitrificantes são sensíveis a diversas condições do sistema, podendo ser inibidas por diversos fatores. A ausência ou excesso de NH₄⁺ ou NO₂⁻, a presença de compostos tóxicos, metais pesados e elevada salinidade podem ser fatores influenciadores do processo (FONSECA, 2016).

No que tange à comunidade microbiana responsável pela nitrificação, as bactérias do gênero *Nitrosomonas* são comumente responsáveis pela nitrificação, embora outros gêneros como *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus* possam realizar essa conversão. Por sua vez, os gêneros *Nitrobacter* e *Nitrospira* são os principais responsáveis pela nitratação (RITTMANN e McCARTY, 2001).

Com a evolução das técnicas de biologia molecular, novos estudos se concentraram na identificação e na caracterização da função das arqueas na nitrificação, além dos grupos bacterianos tradicionais. Park *et al.* (2006) verificaram a presença desses organismos em sistemas de tratamento com remoção biológica de N que operavam com baixos teores de OD e elevados tempos de retenção de sólidos (0,1 a 2,0 mg O₂/L e 15 a 22 dias, respectivamente).

2.2.2 – Desnitrificação

A desnitrificação é a etapa responsável pela remoção efetiva do N da fração líquida do efluente. Nela, ocorre a redução sequencial do nitrato a nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso e nitrogênio molecular ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$), produto final que é componente principal do ar atmosférico e cuja liberação não causa danos ambientais (BHUVANESH *et al.*, 2013). A Figura (2-4), adaptada de Li *et al.* (2017), apresenta as etapas da redução do N na desnitrificação, bem como as enzimas responsáveis por cada etapa. Pode se observar que o N_2O , neste caso, é considerado um intermediário do processo de redução do N.

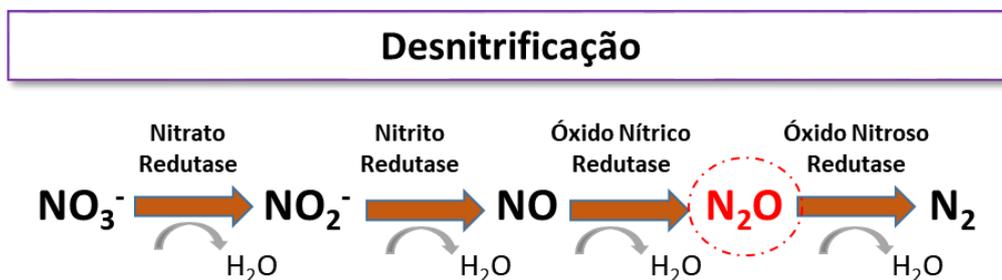


Figura 2-4: Etapas de conversão do N na desnitrificação, onde o N_2O é um intermediário do processo (Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2017).

Os microrganismos desnitrificantes, na ausência de O_2 , utilizam o NO_3^- , o NO_2^- ou os óxidos de nitrogênio intermediários como aceptores finais de elétrons. Como doadores de elétrons, utilizam fontes internas de carbono orgânico, já presentes no meio aquoso, ou fontes adicionadas externamente, tais como o metanol, etanol, ácidos orgânicos voláteis e compostos aromáticos. Esses microrganismos são classificados como heterotróficos facultativos (QUEIROZ *et al.*, 2011).

Cada etapa da desnitrificação é realizada por uma reação enzimática distinta. A Tabela (2-2), adaptada de Van Haandel & Van der Lubbe (2007) e Li (2014), sumariza as etapas de transformações envolvidas bem como as enzimas responsáveis.

Tabela 2-2: Etapas das reações enzimáticas envolvidas na desnitrificação.

Etapa	Reação Química	Enzima responsável	Equação n°
Redução do nitrato a nitrito	$\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	Nitrato Redutase (NaR)	(2.6)
Redução do nitrito a óxido nítrico	$\text{NO}_2^- + \text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$	Nitrito Redutase (NIR)	(2.7)
Redução do óxido nítrico a óxido nitroso	$2\text{NO} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$	Óxido Nítrico Redutase (NOR)	(2.8)
Redução do óxido nitroso a nitrogênio molecular	$\text{N}_2\text{O} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$	Óxido Nitroso Redutase (NOS)	(2.9)
Reação global	$2\text{NO}_3^- + 10\text{e}^- + 12\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	-	(2.10)

Fonte: Adaptado de Van Haandel & Van der Lubbe, 2007 e Li, 2014.

Diversos grupos bacterianos heterotróficos são capazes de realizar a desnitrificação, sendo alguns exemplos as dos gêneros *Pseudomonas*, *Thiobacillus*, *Paracoccus*, *Nisseria*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Spirillum* (METCALF & EDDY, 2003; KOREN *et al.*, 2000).

Para o favorecimento da desnitrificação, além da presença de matéria orgânica biodegradável, o ambiente deve apresentar condições anóxicas, ou seja, presença de NO_3^- ou NO_2^- e ausência ou diminutos teores de OD. Na presença de matéria orgânica e de elevadas concentrações de O_2 , a respiração celular aeróbia é majoritariamente realizada (WIESMANN *et al.*, 2007).

A desnitrificação, no tratamento de águas residuárias, pode ser afetada por diversas condições do sistema, sendo algumas delas: o teor de OD, a temperatura, a relação C/N, o pH, as concentrações de NO_3^- e NO_2^- e o TRH (SONG *et al.*, 2020).

Concentrações de OD superiores a 0,5 mg O_2/L afetam negativamente a taxa de desnitrificação, enquanto concentrações menores que 0,2 mg O_2/L são consideradas ideais para o processo (VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2007). As reduzidas concentrações de OD podem ser alcançadas pelo crescimento dos microrganismos heterotróficos aeróbios que consomem OD do sistema e assimilam parte da matéria orgânica (CHRISTENSSON *et al.*, 1994; BOLZONELLA *et al.*, 2001).

A faixa de temperatura mesofílica (25 a 35 °C) é considerada ótima para os organismos desnitrificantes e o pH do meio deve se manter em torno de 7 a 8 (WANG *et al.*, 1995; GLASS & SILVERSTEIN, 1998).

A relação C/N que confere completa desnitrificação ao sistema varia entre 4 e 15 g DQO/ g NO₃⁻-N (ZHEN *et al.*, 2007; GE *et al.*, 2012; HU *et al.*, 2019). Quando elevadas cargas de NO₃⁻ são aplicadas ao sistema, a desnitrificação pode ser inibida. Nessas condições, ocorre o acúmulo de espécies como o NO₂⁻ e o ácido nitroso (HNO₂), que podem inativar as enzimas envolvidas no processo. Em alguns casos, há também a possibilidade de redução dissimilatória de nitrato a amônia (conversão biológica do NO₃⁻ a NH₃) que, quando acumulada no sistema, também é nociva a microbiota (HU *et al.*, 2011; VACKOVÁ *et al.*, 2011).

Frente às condições operacionais da desnitrificação, a geração e o acúmulo de N₂O pode ser acentuado, uma vez que a redução do N₂O a N₂ é uma etapa intrínseca ao processo. Contudo, devido à ausência de aeração, parte do N₂O produzido nessa etapa pode se manter solubilizado e ser emitido somente na etapa aerada, onde há a transferência forçada do N₂O dissolvido para a fase gasosa que permeia a coluna de líquido do reator, fenômeno conhecido como *air stripping*.

2.2.3 – Novos processos para a remoção biológica de N

O processo convencional de remoção de N é realizado através da combinação clássica entre a nitrificação e a desnitrificação completa. Apesar de ainda ser a opção mais difundida e utilizada em grandes escalas de tratamento, a estratégia clássica apresenta as seguintes desvantagens: elevado custo energético com aeração na nitrificação, alta produção de biomassa na desnitrificação, além da emissão de N₂O. Segundo Bassin (2012), a remoção biológica de N convencional é satisfatória quando utilizada para tratar correntes com baixas concentrações de N.

Os novos processos podem ser empregados para suprir a baixa eficiência do processo convencional frente a efluentes com elevadas concentrações de N e baixa ou nula carga orgânica. Correntes secundárias da planta (*side stream*), tais como o efluente de digestores de lodo, além de efluentes de indústrias farmacêuticas, de curtume e abatedouro, são exemplos de correntes com elevadas cargas nitrogenadas e que, conseqüentemente, necessitam de processos que removam elevadas quantidades de N.

Algumas adaptações dessas novas tecnologias já foram inclusive estudadas para o tratamento de correntes primárias em ETE (BASSIN, 2011a).

A adoção da nitrificação parcial é uma alternativa adotada nos novos processos de remoção de N. Ela é responsável pela conversão de aproximadamente 50 % do $\text{NH}_4^+\text{-N}$ a $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e apresenta economia energética de 25 % frente à nitrificação convencional. O ganho é justificado pela redução nos teores de O_2 , o que controla a atividade das BON, impedindo a oxidação do NO_2^- a NO_3^- (SANCHEZ *et al.*, 2014).

Após a nitrificação parcial, é possível realizar tanto a desnitrificação quanto a oxidação anaeróbia do NH_4^+ , conhecida como *anammox* (do inglês, *anaerobic ammonium oxidation*). Caso seja realizada a desnitrificação, a nitrificação parcial proverá redução de 40 % da Demanda Química de Oxigênio (DQO) requerida pelo sistema, devido à eliminação da etapa heterotrófica de conversão de NO_3^- a NO_2^- . Caso seja necessário a adição de fonte de carbono orgânico nesta etapa, ela será inferior ao requerido em condições de redução de NO_3^- , gerando maior economia para o processo (KATSOGIANNIS *et al.*, 2003).

A economia é ainda maior quando se utiliza o processo *anammox* como etapa posterior à nitrificação parcial. Por ser uma tecnologia de remoção de N autotrófica e anaeróbia, não requer reposição de fonte de carbono ou de aeração do sistema. A redução dos custos também é relacionada à redução de lodo produzido, uma vez que o crescimento dos organismos *anammox* é lento frente aos heterotróficos (SANCHEZ *et al.*, 2014).

Os organismos *anammox* são autotróficos, capazes de utilizar o NH_4^+ como substrato doador de elétrons e NO_2^- comoceptor final de elétrons em proporções estequiométricas de 1:1 (STROUS *et al.*, 1998; BRANDES *et al.*, 2007). A Figura (2-5), adaptada de Sanchez *et al.* (2014), representa o processo de nitrificação parcial prosseguido do *anammox*.

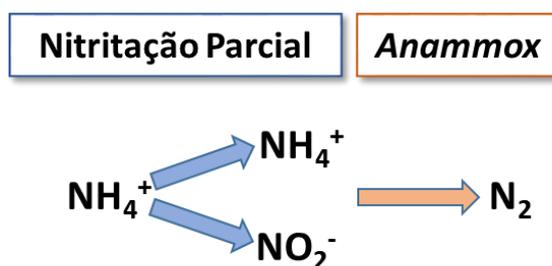


Figura 2-5: Etapas do processo de nitrificação parcial - *anammox* (Fonte: Adaptado de Sanchez *et al.*, 2014).

No âmbito de emissões de gases de efeito estufa, o processo *anammox* é promissor, uma vez que não produz N_2O . Esse gás pode ser emitido apenas durante a etapa de nitrificação parcial, etapa prévia à reação *anammox* (SANCHEZ *et al.*, 2014).

Apesar da maior emissão, deve-se ressaltar que os processos convencionais de RBN são mais robustos quanto ao controle de variáveis operacionais, enquanto que os novos processos demandam de estratégias mais complexas e maior monitoramento dos parâmetros operacionais. Variáveis como temperatura, pH, TRH e TRS, OD, concentração de NH_4^+ e de NO_2^- , devem ser controladas em faixas mais específicas para que a nitrificação parcial seja realizada e o processo *anammox* se desenvolva de forma eficaz (HELLINGA *et al.*, 1998).

2.3 – Sistemas de tratamento utilizados para a remoção biológica de N em águas residuárias

Diversos processos de tratamento podem ser utilizados para a remoção de matéria orgânica e de N. Uma classificação comum toma por base a forma como a biomassa se apresenta no reator, distinguindo-se os processos com biomassa suspensa, cujos microrganismos se encontram na forma de flocos microbianos, dispersos no reator, dos processos com biomassa aderida, em que os organismos formam biofilmes microbianos, se fixando em alguma superfície ou se auto imobilizando (BASSIN, 2012).

A Tabela (2-3), adaptada de Bassin e Dezotti, (2008), sumariza alguns processos de tratamento que fazem uso da biomassa suspensa e também da biomassa aderida, sendo os reatores de lodo ativado e suas variantes, os filtros biológicos, o reator com batelada sequencial (RBS) e o reatores de leito móvel com biofilme (*MBBR*) alguns dos mais estudados quando se opta por realizar a remoção biológica de nutrientes.

Tabela 2-3: Exemplos de tecnologias de tratamento e suas classificações quanto a forma de desenvolvimento da biomassa no sistema.

Processos de Tratamento		
Biomassa Suspensa	Biomassa aderida	
	<i>Suporte fixo</i>	<i>Suporte móvel</i>
Lodos ativados		
Lagoas		Reatores de leito fluidizado
Reatores com membranas (<i>Membrane Bio Reactor-MBR</i>)	Filtros biológicos	Biodiscos
Reatores com Bateladas Sequenciais (<i>RBS</i>)	Reatores de Leito Fixo Submersos	Reatores de Leito Móvel com Biofilme (<i>MBBR</i>)
Reatores anaeróbios com fluxo ascendente e manta de lodo (<i>UASB</i>)		Reatores <i>Air Lift</i>

Fonte: Adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008.

O desenvolvimento das tecnologias com biomassa aderida advém da necessidade de implantação de sistemas mais compactos que os de biomassa suspensa. A maior compactação é atrelada à maior quantidade dos sólidos (microrganismos) organizados nos chamados biofilmes microbianos. Além disso, a formação do biofilme nos suportes, que possuem elevada área superficial, impede que grande parte do sólido seja carregado junto com o fluxo de líquido, proporcionando também menor área na etapa de decantação da planta e reduzindo etapas de retorno de lodo biológico para o tratamento secundário (PASTORELLI *et al.*, 1999).

Devido ao maior tempo de crescimento requerido pelos organismos nitrificantes, sistemas que utilizam biomassa suspensa necessitam de elevados tempos de retenção de sólidos, conseqüentemente, podem carecer de elevados volumes e áreas para serem eficientes em termos de remoção de N. Em sistemas com biomassa aderida, a obtenção de um maior tempo de sólidos é facilitada, favorecendo a ocorrência dos processos de RBN em sistemas menores e com menores TRH.

Visto a grande disponibilidade de processos, nos tópicos a seguir, as tecnologias de lodo ativado e *MBBR* (essa última, avaliada nessa pesquisa) serão abordadas de forma mais específica.

2.3.1 – Sistemas de RBN com biomassa suspensa

A tecnologia de tratamento biológico com biomassa suspensa que vem sendo amplamente aperfeiçoada e estudada é a de lodos ativados. Nela, a degradação da matéria orgânica e dos nutrientes é realizada por culturas mistas de microrganismos, incluindo bactérias, protozoários e fungos, organizados em flocos suspensos no reator.

Quando se objetiva essencialmente a remoção de matéria orgânica, o sistema de lodos ativados consiste no tratamento secundário convencional, composto por um tanque de aeração e um decantador secundário (VON SPERLING, 2005). No tanque de aeração ocorre a decomposição da matéria orgânica e, conseqüentemente, a geração do lodo biológico proveniente do crescimento celular. No decantador, o lodo gerado na etapa anterior é separado por sedimentação, clarificando o efluente. Parte do lodo sedimentado é recirculado para o tanque de aeração de modo a garantir uma adequada concentração de sólidos suspensos voláteis, e o excesso de lodo é descartado, podendo ser estabilizado em digestores anaeróbios, por exemplo (BASSIN, 2012). O efluente gerado nos digestores possui baixa carga orgânica, elevada concentração de amônia e quando tratado biologicamente pode ser potencial gerador de N_2O (DI TRAPANI *et al.*, 2014).

Quando também se deseja realizar a remoção de N em lodos ativados, algumas modificações devem ser efetuadas de modo que a mesma possa ser completa e superior à obtida apenas através da assimilação microbiana para crescimento celular (CAO, 2014). Esses processos podem operar em estágio único (*single stage*) ou em múltiplos estágios (*multi stages*). Além disso, nesses sistemas a desnitrificação pode ser realizada prévia ou posteriormente à nitrificação (VON SPERLING, 2002).

Nos processos de pré-desnitrificação, é necessário a adição de uma zona anóxica à montante da zona aeróbia tradicional do lodo ativado. A zona anóxica é responsável pela desnitrificação, utilizando como fonte de carbono a própria matéria orgânica contida no afluente. Devido à necessidade de NO_3^- comoceptor final de elétrons para a desnitrificação, esse reator também deve ser alimentado com a corrente de saída do reator aeróbio, que possui maiores teores de NO_3^- , o que é realizado através de sistema de reciclo interno.

O reator aeróbio, além de consumir N-amoniaco e proporcionar níveis apreciáveis de NO_3^- ao reator de pré-desnitrificação, também é responsável por estabilizar a matéria orgânica biodegradável remanescente através do metabolismo dos microrganismos heterotróficos aeróbios (VON SPERLING, 2007b; BASSIN & DEZOTTI, 2008). A

Figura (2-6), representa a configuração operacional do sistema de pré-desnitrificação conhecido como processo Ludzack-Ettinger modificado.

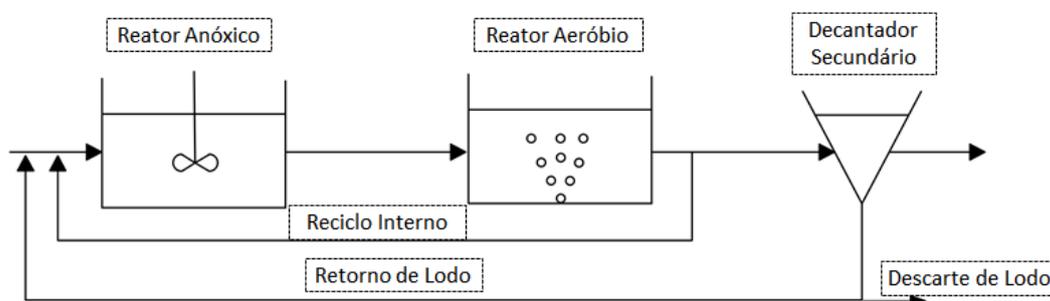


Figura 2-6: Esquema do sistema de pré-desnitrificação, também denominado Ludzack-Ettinger modificado (Fonte: Adaptado de Desloover *et al.* 2012).

A recirculação interna é o parâmetro crucial para a eficiência do processo. Valores elevados, por volta de 400 vezes a vazão afluente, são requeridos para atingir elevada remoção de nitrogênio total. Apesar da desvantagem associada à necessidade de implantação de um sistema de reciclo, a configuração de pré-desnitrificação apresenta a vantagem de alcançar eficiências de desnitrificação elevadas, devido à alta carga orgânica oriunda do afluente do processo (JORDÃO; PESSOA, 2014).

No sistema pós-desnitrificação, a zona aeróbia precede a zona anóxica. Devido às condições aeróbias, parte da carga orgânica é consumida antes da etapa de desnitrificação, prejudicando a eficiência dessa etapa, que pode ocorrer em condições de metabolismo endógeno, menos eficiente (VON SPERLING, 2002; JORDÃO; PESSOA, 2014).

A adição de fonte de carbono externa (geralmente fontes de carbonos simples e de baixo custo, como, por exemplo, o metanol) é a opção mais utilizada para o aumento de eficiência de desnitrificação nessa configuração. A Figura (2-7) representa a configuração operacional de um sistema de pós-desnitrificação, também referido como processo *Whurman*.

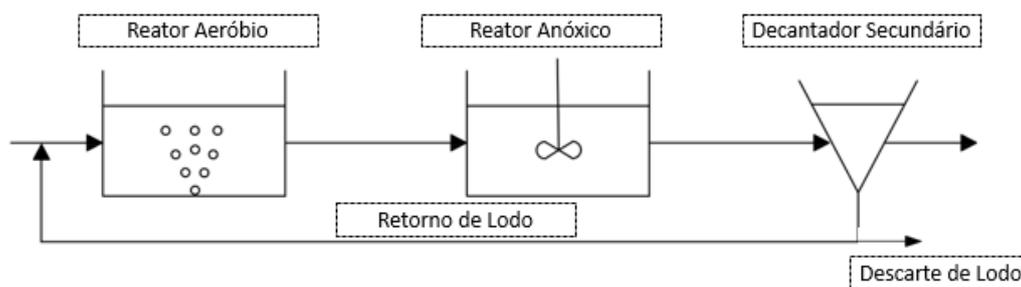


Figura 2-7: Esquemático de sistema de pós-desnitrificação, também conhecido como processo *Whurman* (Fonte: Adaptado de Desloover *et al.*, 2010).

Quando se realiza a pós-desnitrificação, existe a possibilidade de se promover a nitrificação incompleta como alternativa para reduzir a DQO requerida na desnitrificação. Geralmente essa estratégia é realizada em efluentes com baixas cargas orgânicas, porém pode acarretar em maiores produções e emissões de N_2O (TURK; MAVINIC, 1986).

2.3.2 – Sistemas de RBN com biomassa aderida

A utilização de sistemas de RBN com biomassa aderida advém da necessidade de processos mais compactos, que buscam superar algumas restrições observadas nos processos que utilizam biomassa suspensa, por exemplo, as relacionadas à remoção de altas cargas de N.

A redução do espaço físico está atrelada à maior área específica disponível para o crescimento microbiano e ao maior tempo de retenção de sólidos que estes sistemas possuem. Além de remoção de matéria orgânica, os filmes microbianos formados são capazes de realizar tanto a nitrificação quanto a desnitrificação de forma simultânea em determinadas condições operacionais.

2.3.3 – Formação de biofilmes microbianos em sistemas de tratamento de águas residuárias

Segundo Morgenroth (2008a), o biofilme microbiano pode ser definido como um agregado denso composto por diversos grupos microbianos aderidos a um suporte sólido de natureza diversa, como por exemplo: cascalho, plástico, biomateriais, entre outros. A estrutura do biofilme é complexa, composta por uma matriz de substâncias excretadas pelos organismos ativos (responsável pela estrutura e adesão do biofilme), as substâncias

poliméricas extracelulares (EPS) ou exopolissacarídeos, água, materiais particulados insolúveis, materiais adsorvidos e a biomassa ativa.

A formação do biofilme ocorre como mecanismo de defesa frente a condições adversas, tais como: presença de compostos tóxicos ou inibidores, sistemas com baixa disponibilidade de substrato ou com elevados fluxos de escoamento (STOODLEY *et al.*, 2002; FLEMMING *et al.*, 2016). Essas condições são comumente observadas em sistemas de tratamento de efluentes e corroboram para a aplicabilidade de sistemas com biofilme como uma tecnologia promissora (NICOLELLA *et al.*, 2000; HENZE *et al.*, 2008). O aglomerado formado é resistente à desidratação, devido à alta hidratação da matriz de EPS, e resistente a organismos predadores, como protozoários (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

A Figura (2-8) apresenta as etapas de formação do biofilme. Em (1) os microrganismos planctônicos interagem de forma branda (interações covalentes) com a superfície. Com a adesão inicial, algumas características de motilidade são perdidas e se tem início da produção e liberação das EPS, apresentada em (2). Com as primeiras camadas fixadas, inicia-se o processo de maturação (3), e outras camadas do biofilme são formadas através do crescimento celular dos organismos presentes que também produzem as EPS. Por ações físicas externas, bem como por morte celular, parte do aglomerado pode ser desprendido (4), se estagnar em outro ponto e reiniciar o processo de formação do biofilme.

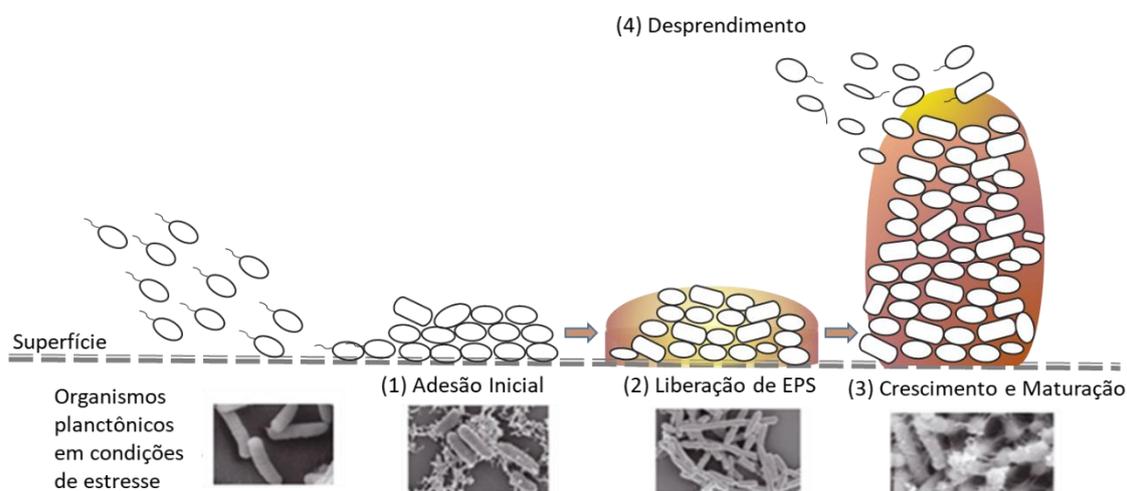


Figura 2-8: Etapas de formação do biofilme microbiano acompanhada de fotomicrografias (Fonte: Adaptado de Hadla, 2018).

Estudos recentes também focam no desenvolvimento de superfícies condicionadas que proporcionem melhor adesão dos microrganismos aos suportes. Zhao *et al.* (2019) apresentaram uma revisão sobre novos suportes com modificações estruturais, na qual é citado que o uso de superfícies condicionadas com doadores de elétrons de liberação lenta favorece o crescimento dos microrganismos desnitrificantes em sistemas com biofilmes, e possibilita a ocorrência de nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) em sistemas com baixos teores de matéria orgânica disponível.

Liu *et al.* (2018) utilizaram superfícies plásticas condicionadas com pó de bambu em biofiltros desnitrificantes, para tratamento de efluentes de aquicultura. Esse substrato condicionado reduziu o tempo de formação do biofilme e favoreceu a remoção de NO_3^- . Houve a redução de 60 para 18 dias para a formação do filme microbiano, além da taxa de remoção de $0,68 \pm 0,03 \text{ kg NO}_3^- \text{-N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ obtida sem acúmulo de NO_2^- e baixo acúmulo de NH_4^+ .

A matriz de exopolissacarídeos proporciona o transporte dos compostos dissolvidos em solução para o interior do biofilme e a difusão dos metabólitos produzidos internamente para a solução (VROOM *et al.*, 1999). A diferença entre a concentração dos componentes no biofilme e as concentrações no seio do fluido também acarreta na estratificação da comunidade microbiana, e em função da espessura do biofilme, diferentes rotas metabólicas podem ocorrer simultaneamente (SABBA *et al.*, 2018).

No que tange à remoção de N, o biofilme pode proporcionar a NDS, devido à limitação da difusão de O_2 em sua estrutura, o que melhora o desempenho da remoção de NT. Os reatores de leito móvel com biofilme (*MBBR*), descritos na próxima seção, são sistemas capazes de realizar estes processos (YANG *et al.*, 2010; SEIFI e FAZAEIPOOR, 2012; CAO *et al.*, 2017).

2.3.4 – Reatores de leito móvel com biofilme (*Moving Bed Biofilm Reactor - MBBR*)

Dentre as diferentes possibilidades de tratamento utilizando reatores com biomassa aderida, o reator de leito móvel com biofilme (*Moving Bed Biofilm Reactor – MBBR*) vem se mostrando promissor e bastante estudado, inclusive para a remoção de N. Segundo Ødegaard (2006), a tecnologia se baseia na fluidização dos suportes de imobilização microbiana, o que impede a formação de zonas de estratificação de substrato

disponível para os microrganismos do biofilme ao longo do reator, uma vez que há maior mistura no sistema.

Os suportes de crescimento do biofilme, também chamados de *biomedia*, possuem densidade pouco menor que a da água, além de elevada área superficial. Na Figura (2-9) é possível observar a configuração de dois sistemas *MBBR*, um aeróbio em que a aeração é responsável pela fluidização dos suportes, e outro anóxico/anaeróbio, cuja agitação é realizada por meio de um misturador mecânico.

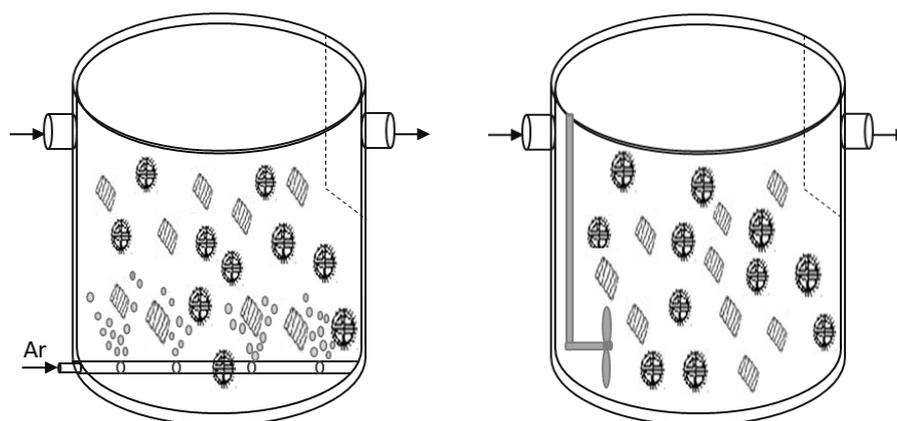


Figura 2-9: Esquema de reatores *MBBR* aeróbio à esquerda e anóxico/anaeróbio à direita (Fonte: Adaptada de Rusten *et al.*, 2006).

O *MBBR* pode apresentar robustez e vantagens frente aos processos de lodos ativados. Por possuírem maiores áreas específicas, proporcionam maior grau de compactação das plantas, quando comparados aos processos de lodos ativados e com sistemas que utilizam biomassa aderida em suportes fixos (RUSTEN *et al.*, 2006).

São vantagens desse sistema: redução de espaço em comparação ao sistema de lodos ativados, a facilidade na atualização de instalações já existentes, redução de espaços mortos e a não ocorrência dos problemas de colmatação nos reatores (muito comuns em sistemas de leito fixo, como filtros biológicos), facilidade na limpeza e a ausência de retrolavagem, aumento do tempo de retenção de sólidos para organismos de crescimento lento e recuperação mais rápida após condições extremas de carga (RUSTEN *et al.*, 1995; ØDEGAARD *et al.*, 1994; JAHREN *et al.*, 2002; KHAN *et al.*, 2011).

Como a grande maioria dos processos com biofilme, o *MBBR* também reduz a presença de bactérias filamentosas, atenuando os problemas de baixa sedimentação na etapa de separação do lodo, tornando-a mais compacta e menos onerosa (LAPARA *et al.*, 2001).

Dentre as desvantagens inerentes ao processo *MBBR*, pode-se citar o elevado custo energético atrelado à demanda de aeração necessária para a fluidização do sistema, além da hidrodinâmica do reator, que deve ser projetado de modo a reduzir zonas de estagnação (BASSIN e DEZOTTI, 2011). Por serem patenteados, alguns suportes possuem alto custo, contudo, com o advento dos biomateriais, existe a tendência de produção de novos suportes com baixo custo (HE *et al.*, 2018).

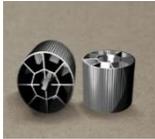
O projeto do sistema deve ser baseado na área superficial efetiva, levando em conta o formato e tamanho dos suportes. Os suportes utilizados devem ser moldados para maximizar o crescimento da comunidade microbiana, protegendo o biofilme de abrasão (ØDEGAARD *et al.*, 2000). A Tabela (2-4) apresenta características de alguns suportes para adesão dos microrganismos utilizados em sistemas de *MBBR*.

A escolha do suporte também deve levar em consideração qual o tipo de processo a ser realizado. Para um biofilme heterotrófico aeróbio, de crescimento rápido, a presença de aberturas maiores é indicada devido à redução da perda da área superficial causada pelo entupimento por crescimento excessivo dos microrganismos. Tal situação poderia causar zonas com pouca concentração de OD e de substratos ocasionando um biofilme inativo (BIASE *et al.*, 2019).

Biofilmes autotróficos, de crescimento lento, se beneficiam de aberturas menores e áreas superficiais maiores, o que controla a espessura do biofilme ativo, gerando maior transferência de massa e maiores taxas de atividade específicas (TORRESI *et al.*, 2017).

Biase *et al.* (2019) citaram que suportes porosos de adesão fixa, apesar de serem indicados para processos autotróficos, sofrem com o entupimento dos poros, ocasionado pela biomassa inativa ou por incrustações de sólidos inorgânicos pouco solúveis. Nesses casos, há a redução significativa da área superficial que fica restrita somente à superfície plana do suporte.

Tabela 2-4: Diferentes suportes usados para o crescimento microbiano em sistemas *MBBR*.

Suporte	Área superficial (m ² /m ³)	Diâmetro nominal (mm)	Imagem	Suporte	Área superficial (m ² /m ³)	Diâmetro nominal (mm)	Imagem
K1	500	7,1		Headworks AC450	402	-	
K2	350	15		Headworks AC920	680	-	
K3	500	25		Mutag BioChip™	3000	-	
K5	800	25		Warden Biomedica Biofil	135	-	
F3	200	46		Warden Biomedica Biopipe	500	-	
BiofilmChip M	1200	48		Warden Biomedica Bioball	220	-	

Fonte: Adaptado de Biase *et al.*, 2019.

Um importante parâmetro de operação e projeto do *MBBR* é a razão de recheio (V_s/V_R). Ela é definida como a razão entre o volume de suportes utilizados (V_s) e o volume total do reator (V_R). Através da variação desse parâmetro, é possível se obter maiores concentrações de biomassa aderida. Segundo Rusten *et al.* (2006), razões de enchimento entre 40 e 60 % são recomendadas, além disso, valores superiores a 70 % não são aconselhados por acarretarem problemas de fluidização no reator. A razão de enchimento ideal combinada a um sistema de aeração/agitação satisfatório e condições hidrodinâmicas adequadas auxilia na renovação da biomassa aderida, de modo a mantê-la sempre ativa.

O TRH também é um parâmetro importante a ser controlado nos reatores *MBBR*. Para sistemas que visam a remoção intencional de N, maiores TRH devem ser aplicados, especialmente quando se trata de sistemas com elevadas cargas orgânicas. Neles, primeiramente, ocorre o desenvolvimento das bactérias heterotróficas, no qual as velocidades de crescimento são muito superiores às das nitrificantes (BASSIN, 2011a).

O desempenho dos reatores é afetado pelo pH do afluente a ser tratado, bem como pela temperatura ambiente e por choques de cargas aplicadas (ASHKANANI *et al.*, 2019). Houda *et al.* (2015) apresentaram que a remoção de NH_4^+ em águas residuárias utilizando *MBBR* sofreu influência da carga amoniacal aplicada e da temperatura. Foi observada uma maior remoção em baixa concentração de amônio ($20,52 \pm 4,89$ mg N/L) e temperatura na faixa de $35,45 \pm 3,18$ °C.

O teor de sólidos suspensos voláteis (SSV) no *MBBR* é baixo e muitas vezes a remoção de poluentes atribuída a esta parcela de microrganismos é desconsiderada. No entanto, em algumas situações, o papel desempenhado pelos organismos suspensos pode ser relevante. Bassin *et al.* (2016) avaliaram a atividade heterotrófica de frações de biomassa suspensa e aderida em sistemas *MBBR* sujeitos a cargas orgânicas moderadas e altas. Eficiências de remoção de DQO e $\text{NH}_4^+\text{-N}$ superiores a 90 % foram observadas para cargas de até 12,8 g DQO/(m².d) e 0,8 g N/(m².d). O aumento da carga orgânica acarretou no acréscimo considerável da fração de SSV. Em baixas cargas, os teores de SSV eram de aproximadamente 10 – 20 % dos sólidos voláteis totais (SVT) do reator, enquanto que para maiores cargas, passaram a representar aproximadamente 28 – 48 % dos SVT, a depender do tipo de suporte estudado.

Nos tópicos seguintes, serão apresentados referenciais teóricos acerca do N_2O , explicitando, além da problemática, os mecanismos de produção do gás em sistemas com

biomassa aderida, os fatores responsáveis pela geração e as possíveis medidas mitigadoras aplicadas com a intenção de realização de processos mais sustentáveis.

2.4 – Óxido nitroso (N₂O)

2.4.1 – Panorama ambiental e fontes de emissão

Segundo o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (*United Nations Environment Programme - UNEP*) 2013, o N₂O é encontrado naturalmente em concentrações traços somente na atmosfera terrestre. Ele faz parte do ciclo biogeoquímico do N e é majoritariamente produzido pelas vias metabólicas naturais dos processos de degradação microbológica, contudo, o aumento da sua concentração na atmosfera sofre grande influência das ações antrópicas.

O aumento considerável da concentração desse gás na atmosfera se deu a partir do período posterior à revolução industrial. Os valores anteriores a essa época se encontravam na faixa de 270 ppb (partes por bilhão) e chegaram a 280 ppb no início do século XX. O advento do processo Haber-Bosch e o maior uso de fertilizantes nitrogenados na agricultura, provocou o incremento gradual na concentração de N₂O na atmosfera, alcançando na década de 1960 valores de aproximadamente 293 ppb (MACHIDA *et al.*, 1995; FLÜCKIGER *et al.*, 1999). A Figura (2-10) apresenta a evolução da concentração desse gás ao longo do período pré-revolução industrial até os anos 2000.

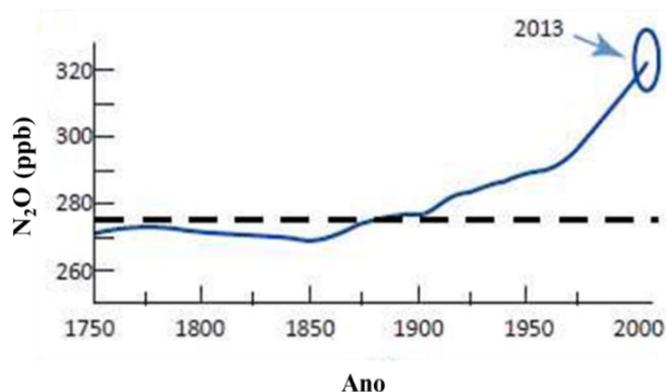


Figura 2-10: Evolução da concentração de N₂O a partir do início do período da revolução industrial até os anos 2000 (Fonte: Adaptado de *UNEP*, 2013).

A Administração Oceânica e Atmosférica Nacional dos Estados Unidos (*National Oceanic and Atmospheric Administration - NOAA*) reporta que a concentração de N_2O na atmosfera em 2020 se aproximou de 332,5 ppb, apresentando crescimento linear de 0,2 a 0,3 % ao ano desde a década de 1980. A Figura (2-11) mostra o aumento linear da concentração de N_2O até o ano de 2020.

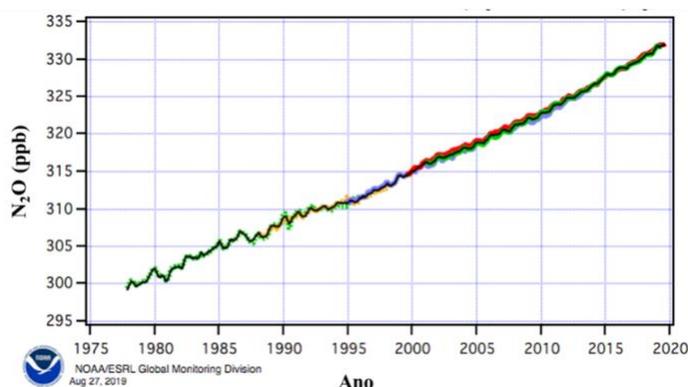


Figura 2-11: Crescimento linear da concentração de N_2O a partir da década de 1980 até o ano de 2020 (Fonte: Adaptado de NOAA, 2020).

O N_2O é o gás que mais contribui para a depleção da camada de ozônio, além de ser o terceiro gás atmosférico com maior contribuição para o efeito estufa, atrás somente do gás carbônico (CO_2) e do metano (CH_4) (UNEP, 2013).

O potencial de aquecimento global de um gás de efeito estufa (GEE) está relacionado à sua capacidade de absorção da radiação infravermelha emitida pela superfície terrestre. Sendo assim, maiores concentrações de N_2O na atmosfera contribuem para o aumento da temperatura da troposfera (VITOUSEK *et al.*, 1997; EPA, 2010). A contribuição do N_2O como gás estufa é significativa por ele possuir potencial de aquecimento global (*Global Warming Potential - GWP*) 265 vezes superior ao *GWP* do CO_2 e 9,5 vezes maior que o do CH_4 (IPCC, 2014).

Segundo o relatório do IPCC (2013), o N_2O emitido na atmosfera possui valor médio de forçamento radioativo de $0,17 W/m^2$. Esse parâmetro pode ser entendido como a medida da influência que um agente causador de mudança climática exerce sobre o balanço de energia da terra. Um valor de forçamento radioativo positivo significa que o parâmetro analisado contribui positivamente para o aquecimento da troposfera e para o aumento da temperatura média global do planeta (UNEP, 2013).

Esse valor de forçamento radioativo é considerado baixo quando comparado ao do CO_2 , devido a menor concentração do N_2O na atmosfera, 332 ppb frente a 400 partes por

milhão (ppm) do CO₂. Porém, o aumento da concentração de N₂O e a ausência de medidas mitigadoras para a emissão deste gás colaboraram para o aumento de 35 a 70 % do valor de forçamento radioativo em 30 anos (UNEP, 2013; RIBEIRO, 2017). A Figura (2-12) apresenta a projeção dos valores de forçamento radioativo do N₂O até 2050.

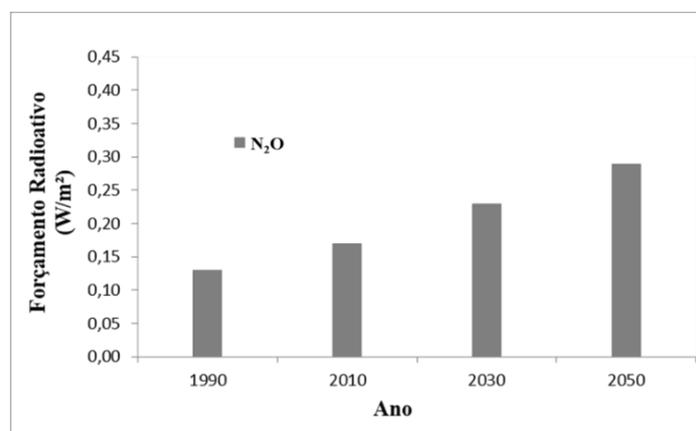
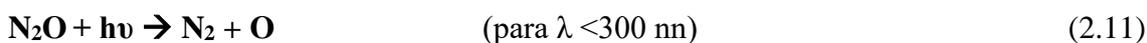


Figura 2-12: Projeções estimadas para os valores de forçamento radioativo do N₂O até o ano de 2050 (Fonte: Adaptado de UNEP, 2013).

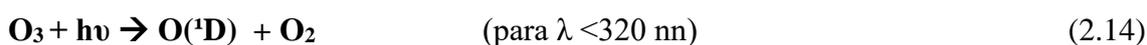
O N₂O possui elevado tempo de permanência na atmosfera, em média de 114 a 120 anos, e não possui sumidouros naturais a níveis de troposfera, ao contrário do CO₂ que é em parte sequestrado pelos biomas, algas e possui considerável índice de dissolução nos oceanos. Por essas razões, a estabilidade do N₂O no ambiente é outro fator que gera preocupação acerca do aumento de suas emissões (FORSTER *et al.*, 2007; BRAKER & CONRAD, 2011; SCHREIBER *et al.*, 2012).

Esse gás também participa indiretamente do consumo do ozônio (O₃) estratosférico. Parte do N₂O presente na troposfera alcança a estratosfera, onde aproximadamente 90 % é decomposto através de reações de fotólise. Dos 10 % restantes, aproximadamente 4 % é convertido a NO e reage com o O₃ através de reações catalíticas. As reações (2.11) a (2.17) são as envolvidas nesse processo (RAVISHANKARA *et al.*, 2009).

Reações de decomposição N₂O na atmosfera:



Consumo do ozônio na estratosfera:



Ravishankara *et al.* (2009) e Desloover (2012) afirmaram que o N₂O pode ser considerado a maior ameaça para a camada de ozônio do século XXI, considerando-o como o substituto aos clorofluorcarbonos (CFC). A redução na concentração dos CFC na atmosfera se deve da inclusão deste grupo de gases no Protocolo de Montreal, tratado internacional que visou gerar ações mitigadoras para emissões de gases nocivos à camada de ozônio e que atualmente ainda não contempla a emissão de N₂O (CHIPPERFIELD, 2009; TÔSTO, 2014).

A Figura (2-13), adaptada de UNEP (2013), apresenta uma projeção da quantidade de N₂O e CFC, em Kilotonelada por ano (Kt/ano) gerados do ano de 1970 até 2100, na qual se observa o crescimento das emissões do N₂O e a redução significativa na concentração de CFC na atmosfera desde a sua inclusão no Protocolo de Montreal.

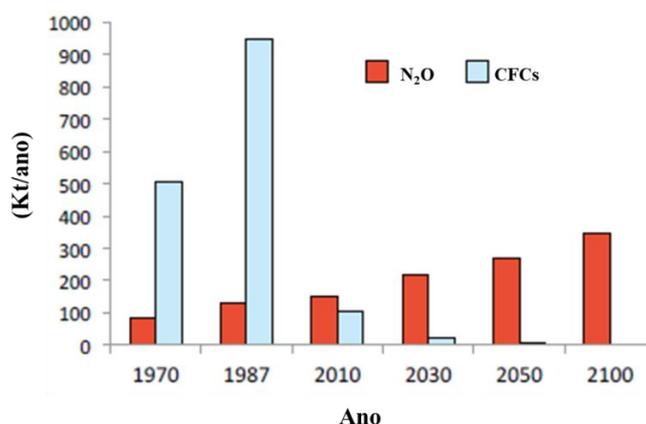


Figura 2-13: Perfis de geração de N₂O e CFCs entre os anos de 1970 e 2100
(Fonte: Adaptado de UNEP, 2013).

O IPCC (2007) citou que o somatório das fontes de emissões naturais de N₂O totalizou, neste ano, aproximadamente 11,0 Tg N₂O-N. Dessa parcela, as contribuições terrestres eram majoritárias (aproximadamente 6,6 Tg N₂O-N/ano), seguida das marinhas (3,8 Tg N₂O-N/ano), e, por fim, das atmosféricas, com 0,6 Tg N₂O-N/ano. Vale ressaltar

que as emissões naturais não são responsáveis pelo aumento significativo da concentração de N_2O no planeta e sim as de origem antropogênica (UNEP, 2013).

A atividade antrópica, em 2013, era responsável por emitir por volta de 36 % do total de N_2O liberado na atmosfera (17,2 Tg N_2O -N/ano), sendo as atividades agrícolas responsáveis pela maior parcela de emissões antropogênicas, cerca de 4,1 Tg N_2O -N/Ano (3,8 – 6,8 Tg N_2O -N/Ano) ou 66 % do total antropogênico. A atividade industrial, majoritariamente a produção de ácido adípico e nítrico, somada à queima de combustíveis fósseis, foi responsável por cerca 15 % das emissões antrópicas (0,9 Tg N_2O -N/Ano).

Outras fontes de emissão importantes, tais como as relacionadas às queimas de biomassa vegetal, contribuíram com aproximadamente 11 % do total antrópico (0,5 – 1,7 Tg N_2O -N/Ano). A emissão causada pelos processos de tratamento de efluentes foi de cerca 0,2 Tg N_2O -N/Ano (3 % das emissões antropogênicas), a deposição de compostos nitrogenados no oceano contribuiu com 0,2 Tg N_2O -N/Ano, enquanto os sistemas de aquicultura e a geração de N_2O pelo uso de solventes, somados, emitiram cerca de 0,1 Tg N_2O -N/Ano (UNEP, 2013).

A Figura (2-14) sumariza as principais fontes de emissão de N_2O , destacando as fontes de emissão antropogênicas mais importantes.

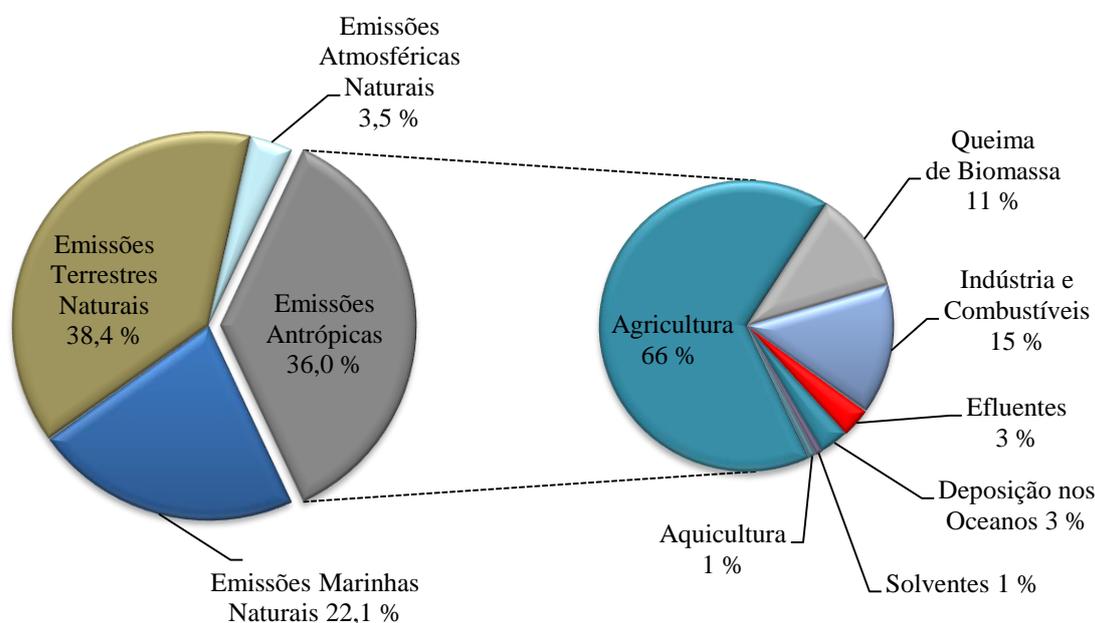


Figura 2-14: Principais fontes de emissão de N_2O (Fonte: Adaptado de UNEP, 2013).

Em 2013, a contribuição relacionada à disposição de efluentes em corpos hídricos era de cerca de 3 %. Estima-se que a produção global associada a essa atividade em 2050 será de 0,29 Tg N₂O-N/Ano (com uma faixa de 0,03 a 1,31), aproximadamente o dobro do gerado em 2010, 0,16 Tg N₂O-N/Ano (MORÉE *et al.*, 2013). A produção contempla tanto a geração direta, produzida nos reatores biológicos, quanto às emissões indiretas, ocasionadas, por exemplo, pelo aporte de esgoto não tratado na natureza (em corpos hídricos receptores).

Strokal e Kroze em 2014 reiteraram o aumento na contribuição total de emissão de N₂O pelos sistemas de tratamento de efluentes até 2050. O crescimento populacional, principalmente nas regiões em desenvolvimento, gera maior demanda alimentícia e maior produção de resíduos, como consequência a carga nitrogenada a ser tratada, ou que pode alcançar um corpo receptor sem tratamento, aumenta.

Nesse mesmo estudo, foi citado que somente na América do Sul, a taxa de emissão de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes até 2010 era de 15 Gg N₂O-N, e que passaria para 30 Gg N₂O-N em 2050, sendo grande parte do crescimento devido à baixa eficiência de remoção de N total dos sistemas de tratamento da região (16 – 40 %). Dubeux e Colling (2017) estimaram que o Brasil pode contribuir com a geração de 6,17 Gg N₂O-N provenientes de efluentes até 2050.

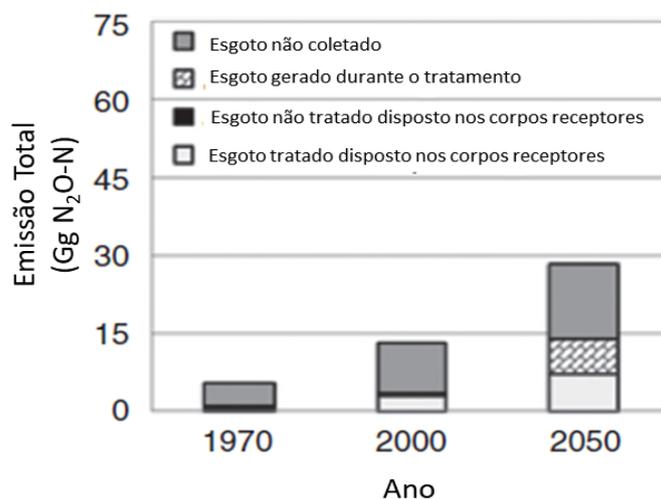


Figura 2-15: Projeção da emissão de N₂O na América do Sul de 1970 a 2050 (Fonte: Adaptado de Strokal e Kroze, 2014).

As estimativas foram realizadas tendo como base poucos estudos de referência, no qual foi adotado um único fator de emissão de N₂O, fornecido pelo IPCC 2006. Esses fatores abrangem, de forma mais geral, diversas tecnologias de tratamento. Assim, com

o advento dos novos processos, surge a necessidade de novos estudos que refinem melhor as estimativas de emissão para os novos sistemas, tornando-as mais fidedignas e direcionando o controle dos processos, de modo a mitigar impacto ambiental causado pelo N₂O na atmosfera e garantir remoções satisfatórias dos poluentes presentes na corrente líquida que será tratada.

O controle da emissão de N₂O é também importante no que tange à redução da quantidade de carbono equivalente emitida pela ETE, o que acarreta em maior sustentabilidade à planta de tratamento. Parravicini *et al.* (2016) verificaram que, ao se adotar processo de tratamento com maior remoção de NT, há menor emissão de N₂O, acarretando na redução de até 35 % da quantidade de CO₂ equivalente emitida pela estação, somente contabilizando o N₂O emitido no tanque aerado. Além disso, foi observado também que com o controle da remoção de NT, as contribuições do N₂O para o balanço de CO₂ reduziram de 45 % para 5 % do total.

Essa análise ressalta a grande importância do N₂O no balanço de CO₂ equivalente emitido diretamente em sistemas de tratamento, de forma a se propor estratégias de controle de processo que visem aumentar o crédito de carbono disponível, o que é especialmente relevante para países em desenvolvimento.

2.4.2 – Etapas de formação de N₂O na remoção biológica de N

Durante a remoção de N, a depender das condições operacionais impostas, algumas etapas do processo podem ser geradoras e/ou emissoras de N₂O. A produção pode ser de origem biológica e/ou química.

A primeira fonte biológica de geração de N₂O é a nitrificação, onde o gás é considerado um subproduto das reações conduzidas pelas BOA e também pelas AOA (SANTORO *et al.*, 2011). Nessa etapa, o N₂O é gerado através da oxidação da NH₂OH a HNO (instável e convertido a NO) pela enzima HAO e subsequente redução ao N₂O, catalisada pela enzima NOR (HOOPER e TERRY, 1979). A etapa pode ser regulada pela concentração de amônia livre (NH₃) no sistema (STEIN *et al.*, 2011). Embora as AOA estejam presentes em sistemas com reduzidas concentrações de NH₄⁺ ou que operam em baixos níveis de OD e altas idades de lodo, suas contribuições nas emissões de N₂O ainda não foram totalmente elucidadas (PARK *et al.*, 2006). As Reações Químicas (2.18 a 2.20) resumizam a formação biológica do N₂O (reação química global e por etapas) (SOLER-JOFRA *et al.*, 2016).



A segunda fonte de geração biológica de N₂O em sistemas nitrificantes é a desnitrificação nitrificante, ou desnitrificação autotrófica. O NO₂⁻ é reduzido a NO e posteriormente a N₂O através das enzimas NIR e NOR, respectivamente (KAMPSCHEUR *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2010; CHANDRAN *et al.*, 2011).

Existe também a possibilidade de acoplamento da oxidação do NH₂OH com a redução do ácido nitroso (HNO₂) ou com o NO₂⁻ e até mesmo a redução do NO. Essas reações podem favorecer a formação de N₂O através das reações conhecidas como reações híbridas de N-nitrosação. A presença de BOA em baixos teores OD e alta carga nitrogenada são consideradas condições favoráveis para a ocorrência dessas reações (HARPER *et al.*, 2015; SOLER-JOFRA *et al.*, 2016; TERADA *et al.*, 2017). A Reação Química (2.21) é um exemplo de reação de N-nitrosação SOLER-JOFRA *et al.*, 2016).



A produção abiótica (química) do N₂O está majoritariamente relacionada à oxidação química do NH₂OH. A presença de metais como cobre, manganês e ferro, além de ácidos húmicos, pode catalisar essa reação (HEIL *et al.*, 2015).

A desnitrificação heterotrófica (DNH) também se mostra como uma importante fonte de geração e emissão de N₂O, uma vez que nesta etapa o composto é considerado um intermediário reacional. A interrupção da última etapa da desnitrificação, responsável pela redução do N₂O a N₂, pode ser causada pela inibição seletiva da enzima NOS (GUO *et al.*, 2017). Diversos fatores podem contribuir para a inibição dessa enzima, sendo eles: a maior sensibilidade da NOS a maiores teores de OD, alterações bruscas de pH, variações na concentração e no tipo da fonte de carbono e N (choques de carga orgânica e nitrogenada), acúmulo de NO₂⁻ e a presença de sulfeto de hidrogênio (H₂S). (FIRESTONE *et al.*, 1979; SCHONHARTING *et al.*, 1998; ALINSAFI *et al.*, 2008; TALLEC *et al.*, 2008).

As outras conversões conhecidas nos processos de remoção de N (nitratação e *anammox*) não estão diretamente envolvidas na produção de N₂O (DESLOOVER *et al.*,

2012). A Figura (2-16) sumariza as possíveis vias de produção de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes que realizam a remoção de N.

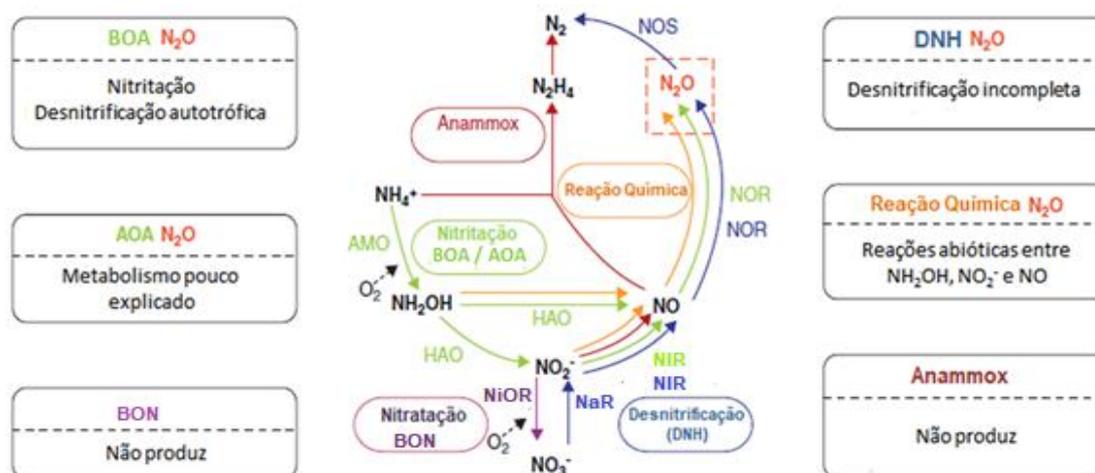


Figura 2-16: Rotas de produção e consumo de N₂O na remoção biológica de N em processos de tratamento de efluentes e as enzimas envolvidas em cada conversão (Fonte: Adaptado de Desloover *et al.*, 2012).

2.4.3 – Parâmetros operacionais de controle da geração de N₂O

O controle de processo em ETE que buscam a remoção de N deve ser superior ao realizado nas estações que somente removem matéria orgânica. Essas condições visam aumentar a eficiência de remoção de N da fração líquida, contudo, em alguns casos de nitrificação e desnitrificação incompleta, a emissão de N₂O pode ser intensificada. A adoção de estratégias de controle que aumentem a eficiência de remoção de N em conjunto com a menor produção de N₂O é um desafio na área.

Diversos fatores podem maximizar a produção de N₂O em sistemas que realizam a nitrificação, desnitrificação ou a NDS. Os principais são: baixo teor de OD na etapa de nitrificação, acúmulo de NO₂⁻ no meio e a baixa relação C/N na etapa de desnitrificação (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; DESLOOVER *et al.*, 2012; LAW *et al.*, 2012a). A Figura (2-17) apresenta as principais variáveis responsáveis pela produção de N₂O em sistemas de tratamento bem como as possíveis condições possivelmente relacionadas com a geração desse gás.

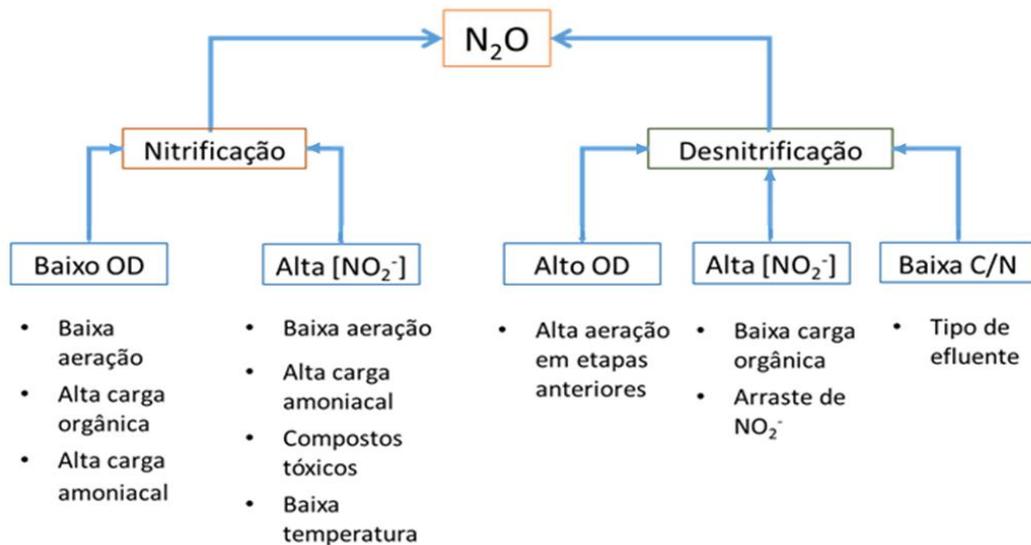


Figura 2-17: Principais fatores responsáveis pela emissão de N_2O em sistemas que realizam remoção de N. $[NO_2^-]$ representa a concentração de nitrito, enquanto C/N indica a relação carbono orgânico/nitrogênio (Fonte: Adaptado de Kampschreur *et al.* 2009 e Bortoli *et al.* 2012).

O teor de OD pode afetar no incremento da emissão de N_2O tanto na nitrificação quanto na desnitrificação, contudo de formas distintas. Em baixos teores de OD, a nitrificação é prejudicada (TALLEC *et al.*, 2006b). O acúmulo de NO_2^- ocorre em função do maior crescimento e atividade das BOA frente às BON, favorecendo a desnitrificação autotrófica, rota metabólica preponderante nessas condições (KAMPSCHREUR *et al.*, 2008a). Elevadas cargas orgânicas ou amoniacais e/ou baixas taxas de aeração podem ser responsáveis pela baixa concentração de OD no sistema nitrificante (FOLEY *et al.*, 2011; ABOOBAKAR *et al.*, 2013).

Goreau *et al.* (1980) observaram que para culturas puras crescidas em escala laboratorial, teores de OD inferiores a 1 mg/L incrementaram a produção de N_2O , que alcançou valores relativos a 10 % da carga nitrogenada aplicada. Tallec *et al.* (2006a), também em escala de bancada, porém utilizando água residuária de ETE que realizava processo de lodos ativados, mostraram que concentrações de OD próximas a 1 mg/L são responsáveis pelo aumento na emissão de N_2O em sistemas nitrificantes, mesmo para águas residuárias com baixas concentrações de NH_4^+ (30 mg NH_4^+ -N/L) e pouca matéria orgânica (DQO de 96 mg O_2 /L).

Yu *et al.* (2010) estudaram a geração de N_2O frente a condições abruptas de OD, utilizando culturas puras de microrganismos nitrificantes alimentadas somente com N-amoniacal. Foi observado que a transição da etapa aerada para a anóxica não demonstrou produção significativa de N_2O , gerando 0,2 ppm de N_2O para 2 mM de NH_4^+ acumulado.

Porém, ao se manter a cultura em condições anóxicas, era observado acúmulo NH_4^+ e com a retomada da aeração, a emissão de N_2O aumentava. Houve o acúmulo de aproximadamente 20 mM de NH_4^+ e emissão de 12 ppm de N_2O na fase gasosa coletada.

Para a desnitrificação, o alto teor de OD, que pode ser remanescente da etapa de nitrificação ou causado por agitação excessiva (no caso de *MBBR* com agitação mecânica), pode causar acréscimo na produção de N_2O devido à elevada sensibilidade ao O_2 da enzima NOS, responsável pela conversão de N_2O a N_2 (TSUNEDA *et al.*, 2005).

Wunderlin *et al.* (2012), estudando reatores de lodo ativado em escala de bancada, verificaram que em condições de ausência de OD e baixa carga de NO_3^- , sistemas desnitrificantes não emitem valores elevados de N_2O (aproximadamente 0,8 % de NO_3^- reduzido era convertido a N_2O). Um pequeno acréscimo no teor de OD (de 0,1 a 0,2 mg/L) causou aumento significativo na emissão desse gás. Houve acúmulo de NO_2^- e a taxa de produção de N_2O passou de 29 para 565 $\mu\text{g N}/(\text{g SST}\cdot\text{h})$, o que representava aproximadamente 18,9 % da carga de NO_3^- aplicada ao reator.

O acúmulo de NO_2^- nas duas etapas de remoção de N também é um fator responsável pelo aumento da emissão de N_2O . Diversas condições operacionais são capazes de impedir a metabolização desse íon na nitrificação, sendo elas: baixa aeração, presença de compostos tóxicos na água residuária, além da alta carga amoniacal. (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

A nitrificação incompleta pode causar acúmulo de NO_2^- . Shaw *et al.* (2006), através do estudo com cultura pura de BOA, observaram correlação entre a concentração de NO_2^- e a produção de N_2O . Através do uso de marcadores de NO_2^- - ^{15}N (nitrogênio isótopo 15), foi possível observar que até 15 % do N_2O gerado era proveniente da degradação do NO_2^- , possivelmente pela desnitrificação autotrófica.

Sui *et al.* (2016), estudando efluentes de indústrias de processamento animal e efluentes de digestores anaeróbios, verificaram que a presença das BON em sistemas de tratamento com altas cargas amoniacais se torna pequena frente às BOA. Isso ocorre devido à toxicidade do NO_2^- e do NH_4^+ , que afetam a nitrificação completa. Apesar de não apresentar resultados acerca da emissão, acredita-se que houve a geração de N_2O , que pode ser potencializada nessas condições.

Na desnitrificação, o excesso de NO_2^- é responsável pela inibição parcial da redução do N_2O (RASSAME *et al.*, 2011). A limitação de fonte de carbono e a presença do NO_2^- oriundo de outras etapas do processo podem ocasionar o acúmulo de NO_2^- . Lemaire *et al.* (2006), realizando testes anóxicos em batelada, observaram que ao

alimentar um sistema desnitrificante com 7,5 mg NO_3^- -N/L e 7,5 mg NO_2^- -N/L, 77 % do N consumido foi transformado em N_2O , enquanto alimentando somente com 7,5 mg NO_3^- -N/L, apenas 26 % do N foi transformado nesse gás, corroborando com a hipótese de inibição da enzima NOS pelo excesso de NO_2^- .

A baixa relação C/N também favorece a geração de N_2O na desnitrificação (MEZARI *et al.*, 2013). Yan *et al.* (2017) investigaram o efeito de três relações C/N distintas (3,4; 5,4 e 7,5) na produção de N_2O utilizando reatores de NDS em batelada com etapas anaeróbia, anóxica e aeróbia. Foi verificado que o aumento das cargas na etapa anóxica reduziu a taxa de geração de N_2O de 2,23 para 0,05 % do N consumido. Estudando faixas mais amplas de relação C/N (0; 1,28; 2,57; 5,14 e 12,58), utilizando consórcio bacteriano desnitrificante e efluente do tipo sintético, Lee *et al.* (2018) mostraram que baixas relações C/N (1,28 e 2,57) convertem mais NO_3^- a N_2O . Na relação C/N de 2,57, 53 % de NO_3^- -N foi removido e totalmente convertido a N_2O -N. Nas relações C/N superiores, todo NO_3^- -N foi convertido a N_2 .

2.4.4 – Geração de N_2O em sistemas de tratamento com biofilmes

Muitos estudos relacionados à dinâmica de produção e emissão de N_2O em sistemas de tratamento de efluentes abordam processos que utilizam biomassa suspensa, embora pouco seja discutido acerca das emissões relacionadas aos processos com biomassa aderida (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; LAW *et al.*, 2012a; SABBA *et al.*, 2017). A especificidade dos sistemas com biofilmes é justificada pelos seguintes fatores intrínsecos: estratificação e interação microbiana, gradientes de concentração dos substratos aplicados e as diferentes formas de operação dos reatores (HENZE *et al.*, 2008; VLAEMINCK *et al.*, 2010).

Nos sistemas *MBBR*, o mecanismo principal de transferência de massa dos compostos químicos ao longo do biofilme é a co-difusão. A velocidade relativa entre os suportes microbianos e o fluido é pequena, de forma que a camada limite entre o biofilme e o seio do fluido (*bulk* do líquido) seja reduzida. A agitação dos sistemas *MBBR* proporciona concentrações no *bulk* mais homogêneas. Tais características contribuem para a redução da emissão de N_2O frente àquela obtida em outros tipos de reatores com biofilme, onde a estratificação do substrato é mais pronunciada (SABBA *et al.*, 2018).

Com a finalidade de remoção de N, o *MBBR* pode operar em condições óxicas, sub-óxicas ou anóxicas e o tipo de biofilme presente, bem como as condições de substrato,

serão fatores chaves para a emissão de N₂O (WEI *et al.*, 2017; MANNINA *et al.*, 2017b, 2018a, 2018b). São verificados três tipos mais comuns de biofilmes nesses sistemas: os nitrificantes, os desnitrificantes e os que realizam a NDS.

O biofilme é nitrificante quando o NH₄⁺ é o principal doador de elétrons para a comunidade de microrganismos autotróficos presentes. Nesses, caso haja baixa carga orgânica, as BOA e as BON são as populações majoritárias, coexistindo com uma comunidade de organismos heterotróficos reduzida, que pode se desenvolver através da decomposição dos organismos autotróficos (KINDAICHI *et al.*, 2004; GIESEKE *et al.*, 2005; OKABE *et al.*, 2005).

A parte externa do biofilme está em contato com maiores concentrações de NH₄⁺ que, ao ser oxidado, produz mais NH₂OH e NO₂⁻. A decomposição do NH₂OH no interior do biofilme irá dominar a formação do N₂O, geralmente formado em taxas lentas. Na superfície, a concentração de OD tende a retrair a desnitrificação autotrófica, que pode ser significativa na região com menores concentrações de OD (transição da zona óxica para a anóxica) (MAO *et al.*, 2008; SCHREIBER *et al.*, 2008 e 2009).

A Figura (2-18) apresenta o comportamento qualitativo dos componentes importantes para a geração de N₂O em biofilmes nitrificantes. A maior concentração de N₂O na região mais interna do biofilme justifica a transferência de massa difusiva do N₂O produzido para o *bulk*. Apesar do N₂O ser mais solúvel em água que o O₂ (o valor da constante de Henry do N₂O é de 0,024 mol/(L.atm), enquanto a do O₂ é 0,0013 mol/(L.atm)), o uso de aeração forçada é capaz de removê-lo da fase líquida, de forma a ser emitido para a atmosfera (RASSAMEE *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2014; SANDER, 2015).

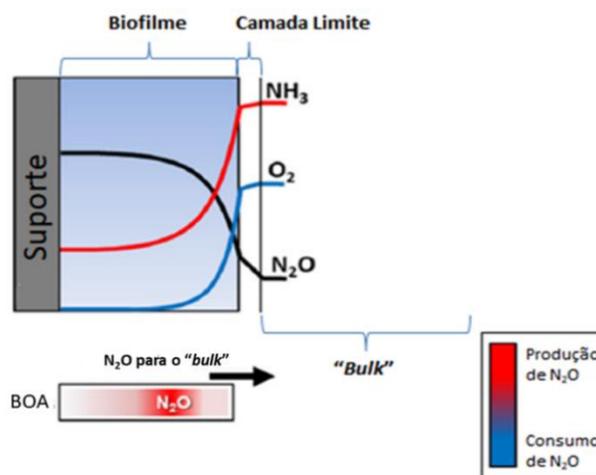


Figura 2-18: Geração de N_2O em biofilmes nitrificantes. A seta indica o gradiente de concentração do N_2O em direção ao *bulk*, salientando-se que não há o consumo de N_2O nesse sistema autotrófico (Fonte: Adaptado de Sabba *et al.*, 2018).

O biofilme desnitrificante possui o NO_3^- como aceptor de elétrons principal e utiliza carbono orgânico como doador de elétrons. A produção de N_2O é maior nas regiões mais externas, onde há a maior atividade de redução do NO_3^- e do NO_2^- . Parte do N_2O produzido externamente se difunde pelo biofilme e é consumido nas regiões internas, que possuem menores concentrações de matéria orgânica, NO_3^- e NO_2^- . Considera-se a desnitrificação, quando completa, um fenômeno mitigador natural da emissão de N_2O (DALSGAARD *et al.*, 1992).

Sistemas com biofilmes desnitrificantes e elevados teores de OD no *bulk*, favorecem a estratificação da concentração de OD ao longo da espessura do biofilme, o que pode favorecer a produção de N_2O em regiões mais internas. Ocorre o acúmulo de N_2O na zona de transição anóxica, contudo, havendo doadores de elétrons disponíveis, parte do N_2O acumulado será reduzido a N_2 , acarretando em menor emissão (LU & CHANDRAN 2010; CONTHE *et al.*, 2018b).

Baixas concentrações de OD, combinadas a elevadas concentrações de doadores de elétrons, favorecem a produção e consumo do N_2O já na camada externa do biofilme. Uma parcela do N_2O se difunde internamente e é metabolizada, a outra parte, dependendo das condições hidrodinâmicas do reator, pode ser emitida (SABBA *et al.*, 2017).

A limitação de doadores de elétrons na ausência de OD também pode causar maior geração e emissão de N_2O , devido à interrupção da desnitrificação (TODT e DORSCH, 2015). Nessa condição, há a possibilidade de redução de sulfato a H_2S nas regiões internas do biofilme, causada pela escassez de NO_3^- . O acúmulo do H_2S formado inibe a redução de N_2O , que difunde para o exterior do biofilme e é emitido (PAN *et al.*, 2013b).

A Figura (2-19) apresenta as condições de geração e consumo de N_2O em biofilmes desnitrificantes. O esquema (1) representa a produção e o consumo de N_2O em um biofilme desnitrificante anóxico com excesso de doador de elétrons; o esquema (2) ilustra a produção e consumo de N_2O em sistemas com excesso de doador de elétrons e excesso de OD; e o esquema (3) representa um sistema em que há limitação de doadores de elétrons.

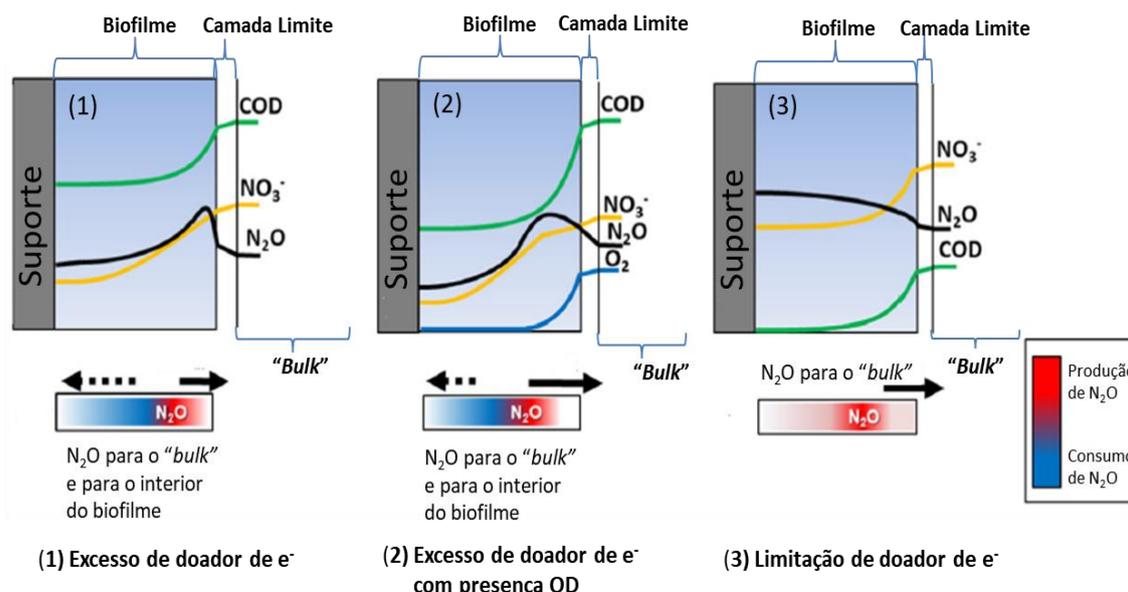


Figura 2-19: Geração de N_2O em biofilmes desnitrificantes. A seta contínua representa o transporte de N_2O produzido no biofilme em direção ao *bulk* e a seta pontilhada a difusão do N_2O para o interior do biofilme (Fonte: Adaptado de Sabba *et al.*, 2018).

Quando um efluente com matéria orgânica e NH_4^+ é tratado em sistemas *MBBR* aerados, o biofilme formado pode realizar a NDS. Esses reatores irão apresentar maiores eficiências de nitrificação quando operarem em condições de baixa carga orgânica, o que pode favorecer o crescimento dos organismos nitrificantes (HENZE *et al.*, 2008).

Estruturalmente, os organismos heterotróficos compõem a região externa (aeróbia) do biofilme, onde ocorre a decomposição da matéria orgânica. A região aeróbia seguinte é composta pelos organismos nitrificantes e a região mais profunda, na presença de doador de elétrons, NO_3^- e de baixo OD, apresenta maior concentração de organismos desnitrificantes. A formação e o consumo de N_2O são complexos, visto a capacidade de nitrificação e desnitrificação da comunidade (MATSUMOTO *et al.*, 2007).

Nesses biofilmes, a zona nitrificante produz N_2O , devido aos menores teores de OD tipicamente utilizados. Com matéria orgânica suficiente, o N_2O é reduzido na zona anóxica, porém, como esses sistemas são aerados, simultaneamente à redução ocorre o

arraste (*air stripping*) do N_2O presente no líquido, o que favorece a formação de um gradiente de transferência de massa do gás interno ao biofilme para o exterior. Devido à formação desse fluxo, menos N_2O é reduzido na zona anóxica, acarretando em maiores emissões (SABBA *et al.*, 2018). A Figura (2-20) representa a geração de N_2O para biofilmes que realizam NDS.

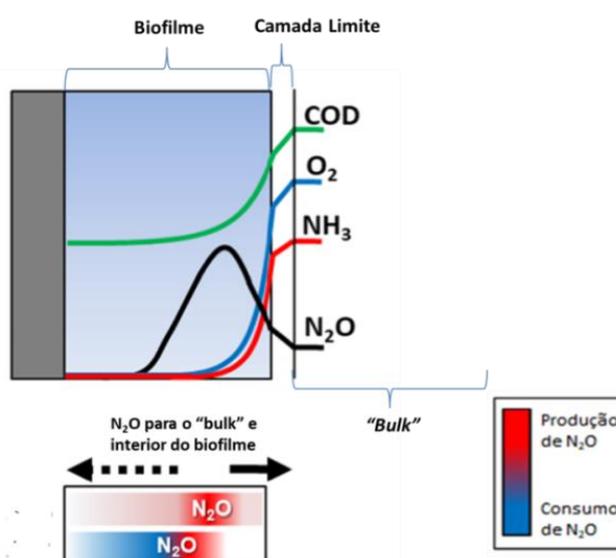


Figura 2-20: Geração de N_2O em biofilmes que realizam NDS. A seta preta representa transporte de N_2O produzido no biofilme em direção ao *bulk* e a seta preta pontilhada a difusão do N_2O para o interior do biofilme (Fonte: Adaptado de Sabba *et al.*, 2018).

2.4.5 – Determinação da emissão e dos fatores de emissão de N_2O em sistemas de tratamento de efluentes

Em 2006, em detrimento da necessidade de ferramentas que pudessem estimar a quantidade de N_2O emitida em sistemas de tratamento de efluentes domésticos centralizados, o IPCC sugeriu a Equação (2.22).

$$N_2O_{ete} = P \cdot T_{planta} \cdot F_{ind-com} \cdot FE_{planta} \quad (2.22)$$

Onde N_2O_{ete} é a emissão total de N_2O pela planta (kg N_2O /ano), P é a população atendida pela estação (nº de habitantes), T_{planta} é o grau (%) de utilização e modernidade da planta (valor base 20 %), $F_{ind-com}$ é o fator de descarga industrial e comercial na estação (valor fixo de 1,25 sugerido por Metcalf & Eddy, 2003) e FE_{planta} o fator de emissão

médio de N₂O emitido pelos sistemas de tratamento de 3,2 g N₂O/(pessoa.ano) (CZEPIEL; CRILL; HARRISS, 1995).

A estimativa usada para a proposição do fator de emissão utilizado foi baseada no estudo realizado por Czepiel, Crill e Harriss (1995), que analisou a emissão de N₂O em sistemas de tratamento de lodos ativados na região de New Hampshire, nos Estados Unidos. Porém, esse FE proposto não era adequado para sistemas localizados em regiões com clima tropical, onde o processo de nitrificação pode ser intensificado pela temperatura ambiente elevada. Além disso, se torna necessário determinar diferentes FE para os outros tipos de processo de tratamento em diferentes condições operacionais (RIBEIRO, 2017).

Tomando por base a premissa de não adequação da equação proposta em 2006 e com o aparecimento de novos estudos correlatos, em 2019, o IPCC realizou um refinamento do inventário publicado em 2006, modificando as metodologias para a determinação da emissão e do FE de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes que realizam remoção de N.

Nesse novo documento são reportados dois cálculos distintos para a determinação da emissão de N₂O em sistemas de tratamento. Um específico para sistemas que tratam esgoto doméstico (ETE) e outro para as estações de tratamento de águas residuárias industriais (ETRI). Para a determinação da emissão em ETE, a Equação (2.23) foi apresentada.

$$N_2O_{ete} = \left[\sum_{ij} U_i \cdot T_{ij} \cdot FE_j \right] \cdot TN_{dom} \cdot \frac{44}{28} \quad (2.23)$$

Onde N_2O_{ete} é a emissão total de N₂O pela planta (kg N₂O/ano), o índice i representa o tipo de região que a estação trata (zona rural ou urbanizada), o índice j a forma de tratamento realizada, U_i é relacionado à fração de população atendida (valor fixo em função da região em que o país estudado se classifica), T_{ij} diz respeito ao grau de uso do tratamento para cada grupo ij estudado (valores estes, fixados e disponíveis no inventário), FE_j é o fator de emissão para determinado tipo de tratamento j , expresso em kg N₂O-N/kg N_{afluente}, e TN_{dom} é o NT da água residuária a ser tratada pela estação (em kg N/ano), com metodologia de determinação também disponível no relatório do IPCC (2019) e o fator 44/28 é referente à conversão de N₂O para N.

Para estações de tratamentos industriais, a Equação (2.24) foi determinada:

$$N_2O_{ind} = \left[\sum_i (T_{ij} \cdot FE_j \cdot TN_{i-ind}) \right] \cdot \frac{44}{28} \quad (2.24)$$

Onde N_2O_{ind} é a emissão total de N_2O pela planta (kg N_2O /ano), i representa o tipo de indústria estudada, j a forma de tratamento ou descarga realizada, T_{ij} relaciona o grau de uso do tratamento para cada grupo ij estudado (valores tabelados disponíveis no inventário), FE_j é o fator de emissão para determinado tipo de tratamento j , expresso em kg N_2O -N/kg N_{af} , e TN_{i-ind} é o NT do efluente industrial (em kg N/ano), que pode ser determinado por outra equação obtida no relatório *IPCC* 2019 e o fator 44/22 é referente à conversão de N_2O para N.

Para a determinação do FE, o inventário orienta que se leve em consideração o tipo de tratamento realizado, utilizando o mesmo valor médio tanto para sistemas que tratam esgoto doméstico quanto para sistemas de tratamento de efluentes industriais. A Tabela (2-5) apresenta os valores médios e as faixas de valores para alguns tipos de tratamento.

Tabela 2-5: Valores adotados para FE de N_2O para alguns tipos de sistemas de tratamento de efluentes municipais e industriais.

Tipo de tratamento utilizado	FE - Valor médio (Kg N_2O -N/Kg N_{af})	FE – Mínimo e Máximo (Kg N_2O -N/Kg N_{af})
Tratamento aeróbio centralizado	0,016	0,00016 – 0,045
Reator anaeróbio	0	0 – 0,001
Lagoas anaeróbias	0	0 – 0,001
Digestor anaeróbio	0	0 – 0,001
Tanque séptico	0	0 – 0,001
Tanque séptico com descarte em campo	0,0045	0 – 0,001

Fonte: Adaptada de *IPCC*, 2019.

A atualização do inventário trouxe maior rigor para a determinação do FE utilizado nas equações de emissão de N_2O apresentadas, sendo o maior enfoque os sistemas de tratamento aeróbio centralizados, devido à sua capacidade de remoção de N. Para essa determinação, trinta estudos de sistemas de tratamento biológico aeróbio foram utilizados como referência. Nesse caso, o novo valor médio de FE proposto foi de 0,016

kg N₂O-N/kg N_{af} e, segundo Foley *et al.* (2010), o valor determinado por Czepiel e utilizado pelo IPCC 2006 correspondia a 0,00035 kg N₂O-N/kg N_{af} (0,035 %). O atual corresponde a 1,6 %, um aumento de 45,7 % no valor proposto em relação ao anterior.

Todos os trinta trabalhos analisados para a determinação do novo FE médio sugerido pelo IPCC abordavam sistemas de tratamento de efluentes domésticos, aeróbios e que utilizavam biomassa suspensa (lodos ativados e suas variantes). Desses, 24 determinaram o FE tendo como base sistemas de remoção biológica de N intencional e 6 estudaram processos de tratamento que removiam N de forma não intencional.

Dentre os seis trabalhos supracitados, De Mello *et al.* (2013), na região metropolitana do Rio de Janeiro, estudaram a emissão de N₂O em processo de lodo ativado com aeração intermitente. A ocorrência da nitrificação foi pequena e ocasionada pelas elevadas temperaturas locais. O FE encontrado foi de 0,0016 kg N₂O-N/kg N_{af} (0,16 %), o que era esperado devido à ausência de remoção de N do sistema.

Apesar das melhorias apresentadas no refinamento do inventário realizado em 2019, muitos estudos acerca de definições mais precisas de FE de N₂O em sistemas de tratamento ainda precisam ser realizados. Dealman *et al.* (2015) apresentaram valores de FE que variaram de 0,001 a 25,3 %, a depender das características operacionais aplicadas nos processos. Dez estudos de sistemas de tratamento utilizando biomassa suspensa em larga escala foram analisados para a aquisição desses valores.

O inventário de 2019 também não contemplou sistemas que utilizam biomassa aderida para tratamento de efluentes em escala real, embora esses já sejam realidade em diversos locais do mundo. A Tabela (2-6) apresenta cinco trabalhos que determinaram os FE de N₂O em sistemas de escala real com biomassa aderida, confirmando a variabilidade de valores de FE encontrados a depender do tipo de tratamento, do tipo de efluente, bem como das características operacionais aplicadas.

Por exemplo, em estudo realizado por Kandlers *et al.* (2019), houve a comparação da emissão de N₂O no tratamento do efluente da digestão anaeróbia de lodo na Suécia, sendo estudados o tratamento com processo de nitrificação/*anammox* em reator *MBBR* e a nitrificação/desnitrificação em *RBS*, respectivamente. Para um efluente com características similares, o processo de nitrificação/desnitrificação emitiu mais N₂O (cerca de 10 % da carga nitrogenada aplicada era emitida na forma desse gás), enquanto a nitrificação/*anammox* emitia somente 0,45 % da carga nitrogenada total aplicada. Ressalta-se que as condições operacionais eram constantes durante o período de estudo.

Tabela 2-6: Estudos em escala real que avaliaram o FE em sistemas de tratamento com biomassa aderida.

Processo	Efluente	Condições de operação	FE % ^a	Observação	Referência
Filtro biológico aerado	Municipal com intrusão de água salina	OD: 4,2 – 4,4 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 39 – 44 mg N/L	0,19 – 0,6	O aumento da salinidade do efluente reduzia a remoção de N e aumentava o FE de N ₂ O.	Vieira <i>et al.</i> (2019)
RBS ^b e MBBR	Digestão de lodo	OD: 0,2 – 2,3 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 1000 mg N/L	0,14 – 0,7 (MBBR) 10 (RBS)	O reator RBS realizava nitrificação/desnitrificação, o MBBR nitrificação/anammox. A emissão de N ₂ O no MBBR foi 22 % inferior à do RBS.	Kanders <i>et al.</i> (2019)
Biofiltro nitrificante	Municipal	OD: 5,6 – 7,1 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 1,2 – 1,5 kg N/(m ³ .d)	1,8 – 4,1	O aumento da emissão de N ₂ O foi verificado no inverno quando havia maior concentração de NO ₂ ⁻ acumulado no sistema e o biofilme se tornava mais espesso.	Bollon <i>et al.</i> (2016)

<i>Sharon</i> ^c (Anóxico/Aeróbio)	Digestão de lodo	OD: 2 mg O ₂ /L (Aeróbio) NH ₄ ⁺ -N: 1050 – 1500 mg N/L NO ₂ ⁻ -N: 664 mg N/L (Anóxico)	3,7	Níveis de OD menores que 1 mg O ₂ /L na fase aeróbia aumentaram a emissão de N ₂ O. A maior parte do gás era produzido na etapa anóxica (70 %).	Mampaey <i>et al.</i> (2016)
<i>MBBR</i> (BOA/ANAMMOX)	Digestão de lodo	OD: 0,5 – 1,5 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 855 – 1043 mg N/L	0,1 – 0,8	Para as duas estações estudadas, as emissões de N ₂ O aumentaram quando se operava o reator em OD abaixo de 1 mg O ₂ /L	Christensson <i>et al.</i> (2013)

^a FE % - Normalizados pela carga de N Afluente

^b RBS - Reator em batelada sequencial

^c *Sharon - Single-reactor High-activity Ammonia Removal Over Nitrite*

Fonte: Adaptado de Todt e Dorsch (2016).

Ensaio em escala de bancada também podem ser realizados para elucidar as diferentes rotas de produção e a emissão de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes. Nas menores escalas, o controle e a operação são mais simples, o que facilita a obtenção de respostas frente à alteração de diversos parâmetros operacionais que podem influenciar no FE de N₂O.

A Tabela (2-7) apresenta dez estudos de diferentes processos com biomassa aderida em escala de bancada que removem N intencionalmente, com suas diferentes condições operacionais e os FE de N₂O reportados.

Existe grande carência no entendimento da contribuição de cada etapa da remoção convencional de N na emissão de N₂O. Ainda é preciso fornecer dados consistentes para adoção de estratégias de controle em plantas que tratam efluentes com características de esgotos sanitários, bem como para plantas de tratamento de efluentes industriais, e também estudar a emissão ocorrida durante o tratamento das correntes secundárias. A produção e emissão de N₂O frente a choques de carga de N também precisa ser mais detalhada.

Quando se compara a emissão de N₂O de um mesmo processo realizado em reatores de bancada com a emissão de sistemas de larga escala, verifica-se maior FE para sistemas operados em escalas menores, possivelmente, devido ao maior controle operacional das condições impostas em regime de bancada (BHUNIA *et al.*, 2010). Mesmo assim, é importante a realização desses estudos, de modo a permitir maior conhecimento das estratégias de controle mais eficazes, realizando satisfatória remoção de N e menor emissão de N₂O possível, colaborando também na redução do inventário de emissão de GEE da estação.

Tendo como base a problemática acerca da carência de dados de emissão de N₂O na área de tratamento de efluentes em regiões de clima tropical, esse trabalho de pesquisa teve como objetivo obter maiores informações sobre a emissão e FE de N₂O relativos à etapa de nitrificação, quando utilizados reatores *MBBR* autotróficos de bancada.

Tabela 2-7: Estudos em escala de bancada que avaliaram remoção de N e a emissão de N₂O associada em processos com biomassa aderida.

Processo	Efluente	Condições de ensaio	FE % ^a	Observação	Referência
<i>SBBR</i> ^b	Doméstico	DQO: 160 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 58 mg NH ₄ ⁺ -N/L OD: 0,2 – 2,0 mg O ₂ /L	3,4 – 6,3	A fonte de carbono (metanol), quando adicionada em pulso único, aumentou a emissão de N ₂ O, enquanto as dosagens periódicas reduziram a taxa de nitrificação e emissão de N ₂ O, mas aumentaram a taxa de desnitrificação.	Chai <i>et al.</i> (2019)
Reator de bolhas <i>Anammox</i> (Lodo Granular)	Sintético (alta carga nitrogenada)	DQO: 0 – 40 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 50 – 500 mg NH ₄ ⁺ -N/L NO ₂ ⁻ -N: 50 – 650 mg NO ₂ ⁻ -N/L OD: < 0,05 mg O ₂ /L	0,1 – 0,5	Houve a produção de N ₂ O no reator, atrelada aos desnitrificantes. O aumento da fonte de carbono (acetato) intensificou a emissão de N ₂ O em 2,5 vezes.	Jia <i>et al.</i> (2018)
RBS com nitrificação parcial (Lodo Granular)	Sintético (alta carga nitrogenada)	NH ₄ ⁺ -N: 100 – 800 mg NH ₄ ⁺ -N/L OD: 1 mg O ₂ /L	1,6 – 2,3	Concentrações de até 40 mg/L de NH ₃ livre e valores superiores a 0,07 mg HNO ₂ /L podem aumentar a emissão de N ₂ O. A correlação para amônia livre ainda não foi elucidada. Ambos intermediários afetaram a proporção BOA/BON dos sistemas.	Miao <i>et al.</i> (2017)
<i>SBBR</i> nitrificação parcial	Sintético	DQO: 600 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 250 mg NH ₄ ⁺ -N/L OD: Aeróbio até 6,5 mg O ₂ /L Anóxico < 2 mg O ₂ /L	4,5	A NH ₃ livre (inicialmente em 74 mg/L, decaindo até 4 mg/L ao longo do ciclo) foi responsável pela inibição das BON e acúmulo de NO ₂ ⁻ . Em altas cargas de N, o biofilme aumentou a sua espessura.	Wei <i>et al.</i> (2017)

<i>MBBR</i> contínuo nitritação/ <i>anammox</i>	Sintético	NH ₄ ⁺ -N: 0,32 kg NH ₄ ⁺ -N/(m ³ .d) (200 mg NH ₄ ⁺ -N/L) NO ₂ ⁻ -N: 1,5 mg NO ₂ ⁻ -N/L OD: 1,7 mg O ₂ /L HCO ₃ ⁻ : 0,05 – 0,45 kg C/(m ³ .d)	0,5 – 1,5	A limitação de fonte de carbono inorgânico causou incremento na emissão de N ₂ O, devido ao aumento da concentração de NH ₂ OH no sistema. A população de BOA não se alterou durante as variações de HCO ₃ ⁻ e as BON foram mais resistentes que as bactérias <i>anammox</i> .	Ma <i>et al.</i> (2015)
<i>DFBBR</i> ^c	Sintético	DQO: 5,9 – 7 kg O ₂ /(m ³ .d) NT: 1,2 – 2 kg N/(m ³ .d) OD: 0,23 mg O ₂ /L	0,5 – 1,6	Em DQO/N = 5 e espessura de biofilme de 680 μm houve menor emissão de N ₂ O, ao se reduzir a DQO/N para 3,5 houve redução da espessura do biofilme para 240 μm e aumento na emissão de N ₂ O. Ao retornar para a DQO/N inicial, a espessura se manteve em 380 μm e a emissão foi intermediária (0,94 %).	Eldyasti <i>et al.</i> (2014)
RBS (Lodo Granular Aeróbio)	Sintético	DQO: 400 – 600 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 50 mg NH ₄ ⁺ -N/L PO ₄ ⁻³ -P: 20 mg PO ₄ ⁻³ -P /L OD: 60 – 90 % fase aerada 20 – 10 % fase sem aeração	1 – 9	Diferentes estratégias de aeração e cargas orgânicas afetaram a emissão. Baixa carga orgânica com aeração intermitente gerou a maior emissão (9 %). Para altas cargas orgânicas (2,1 e 2,4 g O ₂ /(L.d)) e aeração intermitente a emissão de N ₂ O reduziu para 2,1 e 1 %, respectivamente. A emissão foi menor nas fases de menores teores de OD e a aeração intermitente favoreceu a remoção de P.	Lochmatter <i>et al.</i> (2013)

<i>MBBR</i> nitritação/ <i>anammox</i> (Escala piloto)	Efluente de desague de lodo	DQO: 390 – 1280 mg O ₂ /L NH ₄ ⁺ -N: 0,8 – 1,1 g NH ₄ ⁺ -N/L OD: 0,1 – 1 mg O ₂ /L (Fase aerada - Reator com aeração intermitente) 1 – 2,5 mg O ₂ /L (Reator contínuo)	0,4 – 2	Eram obtidos maiores FE de N ₂ O para maiores cargas de N aplicadas. A variação na forma de aeração não foi relevante para o perfil de emissão, mas, era para o consumo de N ₂ O nas fases anóxicas dos reatores com aeração intermitente e que operavam com cargas elevadas. Em ambas condições de aeração, a concentração de N ₂ O na fase líquida era dez vezes inferior à quantificada na fase gasosa emitida.	Yang <i>et al.</i> (2013)
<i>SBBR</i> nitrificação parcial	Sintético (alta carga nitrogenada)	NH ₄ ⁺ -N: 450 – 550 mg NH ₄ ⁺ -N/L OD: 0,05 mg O ₂ /L (Anóxico) 1,33 mg O ₂ /L (Aeróbio)	1,5	Em média, o FE no sistema durante o estudo foi de 1,5 %. O perfil de emissão durante o ciclo apresentou crescimento linear em função do tempo de operação (720 min). A alta temperatura (35 °C) e a limitação de OD favoreceu o crescimento das BOA frente as BON, acumulando o NO ₂ ⁻ em 230 mg N/L.	Kong <i>et al.</i> (2013)
RBS Híbrido (NDS)	Sintético	DQO: 500 mg O ₂ /L NT: 35 mg N/L P total: 12 mg P/L OD: 2 – 5 mg O ₂ /L (Aeróbio) < 0,05 mg O ₂ /L (Anóxico)	21	A maior parte da nitrificação era realizada pela biomassa suspensa enquanto o biofilme realizava a desnitrificação. A emissão foi alta no sistema híbrido devido ao acúmulo de NO ₂ ⁻ . Os testes utilizando as biomassas individualizadas apontaram FE de N ₂ O de 0,5 % para o sistema com biofilme e 4,2 %, com biomassa suspensa	Lo <i>et al.</i> (2010)

^a FE % - Normalizado pela carga de N Afluente

^b *SBBR* - *Sequencing Batch Biofilm Reactor* - Reatores com biofilme em batelada sequencial

^c *DFBBR* - *Denitrifying Fluidized Bed Bioreactor* - Reator de leito fluidizado desnitrificante

Fonte: Elaboração própria, 2020.

CAPÍTULO 3

3- METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O capítulo 3 descreve o aparato experimental, os principais procedimentos e alguns cálculos adotados para a determinação dos resultados obtidos. Todos os experimentos foram conduzidos em reatores de escala de bancada, localizados no Laboratório de Controle e Poluição das Águas (LABPOL), na COPPE/UFRJ. As análises, em sua grande maioria, também foram realizadas no LABPOL, com exceção da quantificação de N_2O , realizada no Centro Experimental de Monitoramento e Mitigação Ambiental (CEMMA), localizado no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - Campus Nilópolis (IFRJ- Nilópolis).

Duas unidades *MBBR* nitrificantes, que já se encontravam em operação antes do início dessa pesquisa, foram utilizadas para os experimentos. A descrição detalhada dos reatores está apresentada a seguir.

3.1 – Descrição dos sistemas reacionais: *MBBR* nitrificantes

Para a realização dos ensaios de nitrificação e emissão de N_2O associada foram utilizados dois sistemas *MBBR* independentes que já se encontravam em operação no laboratório. Os reatores foram fabricados em vidro borossilicato, com formato cilíndrico e cada um com o volume útil de 200 mL. Em função do suporte de adesão microbiana utilizado, os reatores foram denominados R1 e R2. A representação esquemática dos reatores de bancada é mostrada na Figura (3-1).

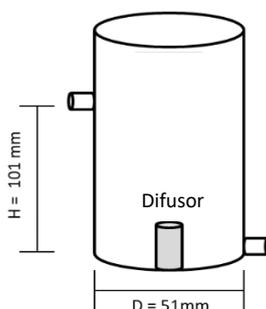


Figura 3-1: Esquema dos reatores utilizados nos ensaios de nitrificação
(Fonte: Elaboração própria, 2020).

O processo operou em modo contínuo, à temperatura ambiente (em média 25 ± 3 °C) sendo que o mesmo afluente (água residuária sintética, refrigerada a 4 °C) foi alimentado de modo ascensional, por bombeamento, nos reatores R1 e R2, por um orifício lateral inferior conectado a uma mangueira de silicone.

O controle da vazão afluente nos reatores foi realizado através de uma bomba peristáltica de baixa vazão da marca LongerPump®, modelo BT100-2J. A vazão afluente foi mantida em 1,1 mL/min para ambos reatores, de modo a garantir o tempo de retenção hidráulica (TRH) de 3 h.

Ar comprimido foi insuflado continuamente nos reatores através de difusores porosos instalados no centro da base dos reatores. A aeração garantia o fornecimento de OD para o metabolismo nitrificante e também foi responsável pela fluidização do sistema, mantendo as condições hidrodinâmicas necessárias para o funcionamento dos *MBBR*. O controle da vazão de ar, mantida em aproximadamente 1 L/min, foi realizado com auxílio de um rotâmetro localizado após as válvulas de controle da linha de fornecimento.

Cada reator foi preenchido com um tipo de suporte, de forma que se pudesse comparar, para uma mesma condição operacional de alimentação, o desempenho na remoção de NH_4^+ e a emissão de N_2O associada aos dois sistemas.

No reator R1, o suporte AnoxKaldnes® K1 foi utilizado como meio de adesão microbiana. Fabricado em polietileno de alta densidade, possui formato cilíndrico com cruz interna e aletas externas. Suas dimensões são 7,2 mm de altura por 9,1 mm de diâmetro interno. Possui densidade aparente de 150 kg/m^3 e área específica útil de $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (RUSTEN *et al.*, 2006). O suporte Mutag Biochip™, produzido pela Multi Umwelttechnologie AG e fabricado em polietileno virgem aditivado foi utilizado para o reator R2. Ele possui formato parabólico/redondo, com diâmetro de 22 mm e espessura média de 1,1 mm. É poroso, apresenta densidade aparente de 170 kg/m^3 e sua área específica útil é de $3000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (MULTIUMWELTTECHNOLOGIE AG, 2019b).

A Figura (3-2) apresenta os suportes utilizados, onde (a) representa o suporte AnoxKaldnes K1 e (b) o Mutag Biochip™ e a Tabela (3-1) sumariza as características dos suportes utilizados.

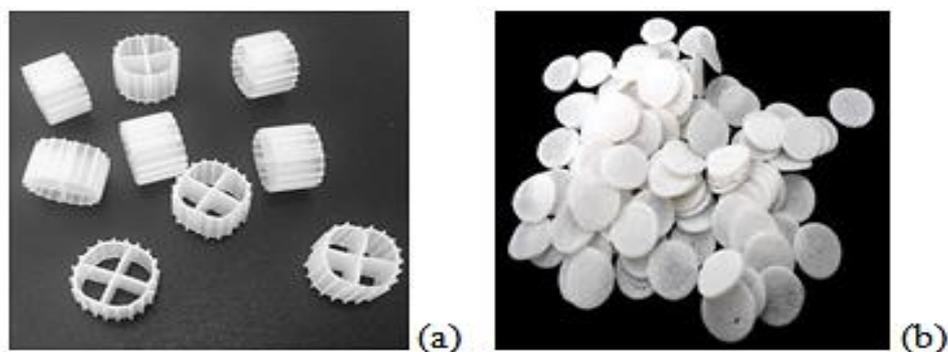


Figura 3-2: Suporte (a) AnoxKaldnes K1 e (b) Mutag Biochip™
(Fonte: Rusten *et al.* (2006) e Multiumwelttechnologie ag (2019b)).

Tabela 3-1: Propriedades dos suportes utilizadas nos ensaios nos *MBBR* nitrificantes.

Características	Suporte	
	AnoxKaldnes® K1	Mutag Biochip™
Material	Polietileno de alta densidade	Polietileno virgem aditivado
Forma	Cilíndrica com cruz interna e aletas externas	Parabólico/Redondo
Diâmetro nominal (mm)	9,1	22
Altura/ Espessura nominal (mm)	7,2	1,1
Densidade aparente (kg/m³)	150	170
Área superficial (m²/m³)	500	3000

Fonte: Adaptada de Bassin *et al.*, 2016.

A distinção entre os suportes escolhidos vai além do formato e da área superficial. Enquanto que para o suporte K1 a remoção da biomassa aderida é facilitada, para o Mutag Biochip o desenvolvimento dos organismos é interno aos poros, que possuem diâmetro médio de 0,5 mm, dificultando a remoção dos sólidos imobilizados até mesmo por agentes mais abrasivos (BASSIN *et al.*, 2016; MULTI UMWELTTECHNOLOGIE AG, 2019b).

Levando em conta a expressiva diferença entre a área superficial específica (m²/m³) dos suportes estudados, optou-se por manter a mesma área total para adesão microbiana em cada reator, permitindo, assim, melhor comparação entre as unidades. Para atingir essa condição, a razão de recheio (V_s/V_R) empregada no R1 foi diferente da adotada no R2. Para o R1, foram utilizadas 100 unidades do suporte K1, obtendo-se uma razão de recheio de 50 %. Para o R2, 29 suportes Mutag, e V_s/V_R de 8,3 %. Nessas

condições, ambos os reatores possuíam área superficial total de aproximadamente 0,05 m². A Tabela (3-2) apresenta as principais informações operacionais do R1 e do R2.

Tabela 3-2: Informações operacionais dos reatores nitrificantes R1 e R2.

Informações operacionais	R1	R2
Formato	Cilíndrico	Cilíndrico
Volume útil do reator (mL)	200	200
Diâmetro do reator (mm)	51	47
Altura útil do reator (mm)	101	135
Tipo de suporte	AnoxKaldnes K1 [®]	Mutag Biochip [™]
Número de suportes	100	29
Razão de recheio (%)	50	8,3
Área superficial (m ²)	0,05	0,05
Vazão de alimentação (mL/min)	1,1	1,1
TRH (h)	3	3
Temperatura do sistema (° C)	Ambiente	Ambiente
Temperatura de armazenamento do afluente (° C)	4	4

Fonte: Elaboração própria, 2020.

Os efluentes tratados pelos *MBBR* (R1 e R2) eram removidos por uma saída lateral superior e, por gravidade, seguiam individualmente para reatores “*backup*” aerados, de formato retangular com fundo inclinado, denominados B1 e B2, respectivamente. O efluente recolhido do R1 seguia para o reator B1 e o efluente ao R2 para o B2.

Os reatores B1 e B2 foram preenchidos com os mesmos tipos de suportes utilizados no reator à montante, isto é, AnoxKaldnes K1 para o B1 e Mutag Biochip para o B2. Esses reatores recebiam os sólidos suspensos arrastados do R1 e do R2, além de promover a formação de biofilme nitrificante nos suportes. Esses suportes eram eventualmente inseridos nos *MBBR* principais (R1 e R2), particularmente quando se realizava retirada de suportes para fins de quantificação de sólidos aderidos, permitindo assim, reduzir o tempo de aclimação e de crescimento do biofilme no reator principal.

Os efluentes provenientes dos reatores B1 e B2 ficavam acumulados em frascos plásticos separados e devidamente descartados. O diagrama esquemático da Figura (3-3) descreve o processo explicitando os pontos de amostragem para os ensaios realizados e a Figura (3-4) apresenta uma fotografia dos sistemas utilizados.

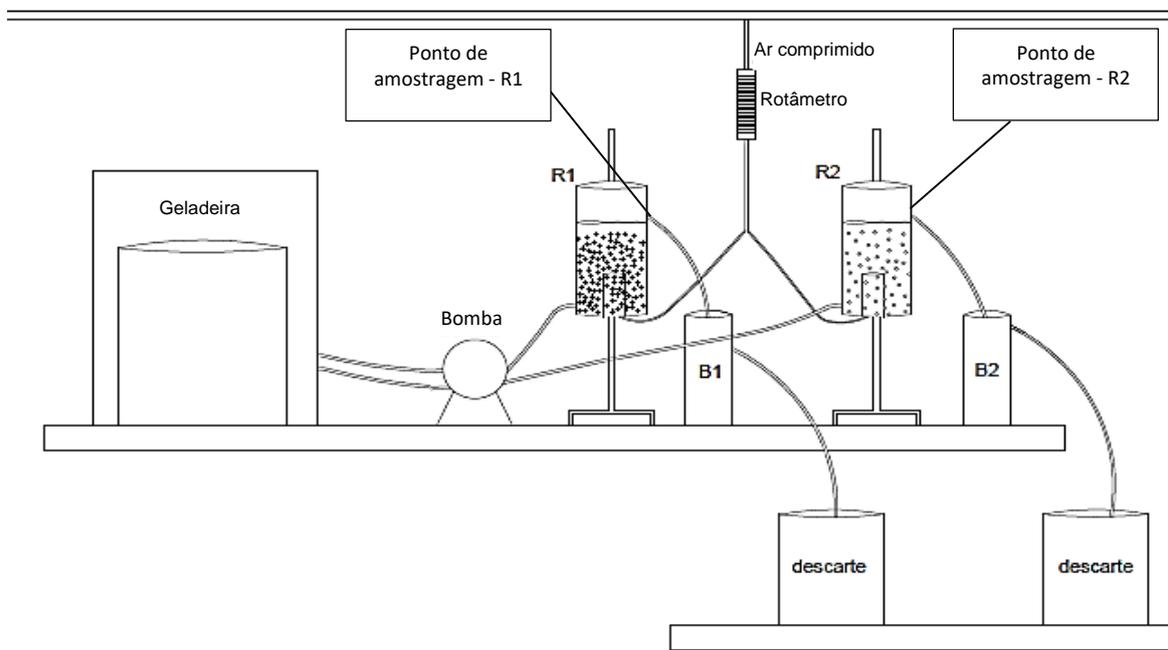


Figura 3-3: Esquema dos sistemas nitrificantes estudados. Os reatores R1 e B1 foram preenchidos com o suporte AnoxKaldnes K1 e os reatores R2 e B2 com o Mutag Biochip (Fonte: Elaboração própria, 2020).

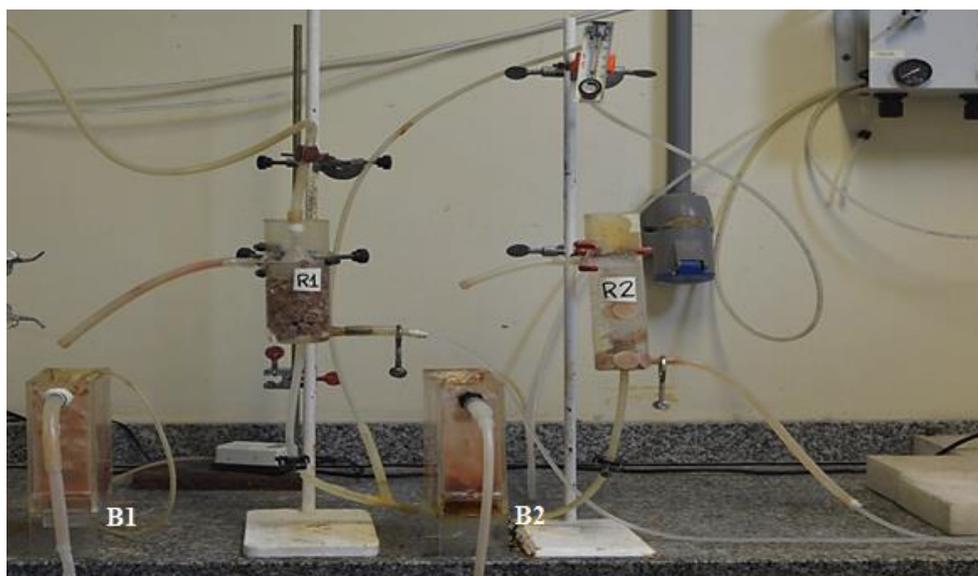


Figura 3-4: Fotografia dos sistemas nitrificantes (Fonte: Autoria própria, 2019).

3.2 – Efluente

De modo a manter condições controladas de alimentação durante os ensaios, foi utilizado efluente sintético nos reatores nitrificantes. Para favorecer a nitrificação, não foi adicionada fonte de carbono orgânico no efluente, como fonte de N foi utilizado o íon NH_4^+ (adicionado na forma de sal cloreto de amônio), além de macros e micronutrientes. Os micronutrientes foram dosados a partir de uma solução estoque na proporção de 0,5 mL por litro de efluente preparado. As Tabelas (3-3) e (3-4) apresentam a composição do efluente e da solução de micronutrientes utilizada.

A nitrificação acarreta no consumo de alcalinidade do meio, sendo assim, para o controle desse parâmetro, também foi adicionado ao efluente o sal bicarbonato de sódio (NaHCO_3). A relação alcalinidade/N (expressa em mg CaCO_3 /mg N) foi sempre mantida em torno de 7, de forma a garantir o tamponamento do meio e evitar a inibição do processo de nitrificação devido à redução brusca do pH nos reatores.

O volume de efluente preparado (24 L) garantia autonomia de uma semana de processo contínuo e para impedir a degradação microbiológica prévia ao reator, o efluente foi armazenado em recipiente plástico e mantido sob refrigeração a 4 °C. Semanalmente, as mangueiras utilizadas na alimentação dos reatores R1 e R2 passavam por uma limpeza mecânica, de modo a reduzir o crescimento microbiológico em sua superfície interna.

Tabela 3-3: Composição do efluente sintético utilizado nos MBBR nitrificantes.

Reagente	Fórmula molecular	Concentração (mg/L)
Cloreto de amônio	NH_4Cl	a
Bicarbonato de sódio	NaHCO_3	b
Cloreto de sódio	NaCl	111
Cloreto de magnésio	MgSO_4	27
Dihidrogenofosfato de potássio	KH_2PO_4	27
Hidrogenofosfato de potássio	K_2HPO_4	40,5
Solução de micronutrientes	-	0,5 mL/L

^a Concentração variável em função da carga de N aplicada

^b Concentração variável de modo a manter a relação alcalinidade/N = 7 para cada carga de N aplicada

Fonte: Adaptada de Campos *et al.* (1999).

Tabela 3-4: Composição da solução estoque de micronutrientes utilizada na composição do efluente sintético para os *MBBR* nitrificantes.

Reagente	Fórmula molecular	Concentração (mg/L)
Ácido etileno diamino tetracético (EDTA dissódico dihidratado)	$C_{10}H_{14}N_2ONa_2 \cdot 2H_2O$	50000
Sulfato de zinco heptahidratado	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	12354
Cloreto de cálcio dihidratado	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	5540
Cloreto de manganês (II) tetrahidratado	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	3220
Sulfato de ferro (II) heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	2728
Molibdato de amônio tetrahidratado	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	1036
Sulfato de cobre (II)	$CuSO_4$	1004
Cloreto de cobalto (II) hexahidratado	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	880

Fonte: Adaptado de Vishniac e Santer, 1957.

3.3 – Planejamento de ensaios experimentais

O planejamento dos ensaios se baseou na variação da carga superficial de NH_4^+ -N aplicada, para os dois tipos de suportes testados.

Por ser um reator já utilizado em estudos anteriores e com biomassa adaptada para elevadas concentrações de NH_4^+ , primeiramente foi estudado o aumento gradual da carga de N de 8 – 9 até 24 – 25 g NH_4^+ -N/(m².d)) sob concentrações de OD elevadas (mantidas entre 5 e 8 mg O₂/L) de modo a avaliar a emissão de N₂O-N e a capacidade máxima de remoção de NH_4^+ -N em condições de altos teores de NH_4^+ aplicados. Esta etapa foi denominada de grupo de ensaios 1 (GE-1) e a sua duração foi de aproximadamente 380 dias.

Após o GE-1, houve a redução dos níveis de NH_4^+ a valores médios (com redução gradual da carga aplicada de 7 – 8 até 4 – 5 g NH_4^+ -N/(m².d)) e elevados teores de OD na etapa denominada como grupo de ensaios 2 (GE-2), cuja duração foi de aproximadamente 110 dias. Ressalta-se que, para a execução dessa segunda etapa, foi realizada a aclimação da biomassa, reduzindo gradativamente a carga amoniacal aplicada, por aproximadamente duas semanas de modo a adaptá-la às condições de menores cargas amoniacais testadas.

Em sequência, durante o grupo de ensaios denominado grupo de ensaios 3 (GE-3), foram estudadas cargas amoniacais aplicadas ainda menores, variando de 3 – 4 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ até aproximadamente 0 – 1 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, sob elevados teores de OD. O GE-3 possuiu duração de aproximadamente 120 dias e quando se obteve remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ muito superiores a 90 %, na menor carga estudada durante a faixa de carga aplicada de 0 – 1 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, os reatores foram submetidos a ensaios cinéticos em batelada, de modo a se determinar a taxa máxima de conversão de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ no sistema. Ressalta-se que esse ensaio cinético não foi realizado para os outros intervalos de carga aplicada porque o sistema já operava com eficiência de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ mais baixa, sendo assim, sem limitação do substrato. O planejamento dos ensaios é apresentado na Tabela (3-5). Ressalta-se que, para a análise dos resultados, será expressa a variação dos parâmetros analisados em relação à crescente de carga de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicada.

Tabela 3-5: Planejamento dos ensaios de nitrificação.

Grupo de Ensaio (GE)	N (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$)	N (mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$)	OD (mg O_2/L)	Resultados Principais	Duração (dias)
GE-1	Alto (8-9 a 24-25)	250 - 800	> 5	Máxima capacidade de remoção de N Balanço de N Emissão de N_2O	380
GE-2	Médio (7-8 a 4-5)	250- 100	> 5	Balanço de N Emissão de N_2O	120
GE-3	Baixo (3-4 a 0-1)	100 - 30	> 5	Balanço de N Ensaio cinético Emissão de N_2O	120

Fonte: Elaboração própria, 2020.

Inicialmente, devido às elevadas cargas amoniacais e carga orgânica nula, o efluente produzido podia ser comparado a um efluente proveniente de sistemas de digestão de lodo com elevadas concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (correntes *side stream*) ou a efluentes com elevada carga amoniacal aplicada, ocasionada por operação do processo em baixos TRH. Quando a carga aplicada foi reduzida, as características do esgoto sintético estudado se aproximaram às de um esgoto com baixa concentração de matéria orgânica, como por exemplo um efluente obtido após a passagem por um reator anóxico

de um sistema de pré-desnitrificação sem adição externa de fonte de carbono. Algumas similaridades entre as condições de ensaio e tipos de efluentes são apresentadas na Tabela (3-6), resumindo alguns afluentes domésticos e industriais, cujas concentrações de NH_4^+ se assemelham com as estudadas.

Tabela 3-6: Comparativo entre teores de N em diferentes efluentes e as faixas estudadas nessa pesquisa.

Tipo de efluente	Faixa de NT efluente (mg N/L)	Faixa de N estudada (mg NH_4^+-N/L)	Referência
Água de rejeição de digestor de lodo	260 – 958	250 – 800	Gil e Choi (2004)
Curtume	200 – 500	250 – 800 100 – 250	Abeliovich (1992)
Abatedouro	170 – 200	100 – 250	Keller <i>et al.</i> (1997)
Lixiviado	160 – 270 780 – 1080	100 – 250 250 – 800	Jokella <i>et al.</i> (2002) Kalyuzhny e Gladchenko (2004)
Efluente doméstico	30 – 70	30 – 100	Jordão e Pessôa. (2014)

Fonte: Adaptado de Bassin e Dezotti, 2011.

3.4 – Detalhamento das análises realizadas

Os ensaios analíticos realizados, a periodicidade, os respectivos métodos e os principais equipamentos utilizados são apresentados na Tabela (3-7).

Tabela 3-7: Ensaio analíticos realizados para os ensaios de nitrificação.

Análise	Frequência	Método / Informações
N Amoniacal ^a	Semanal	Método colorimétrico do reagente de Nessler (4500 C - NH ₃ - APHA, 1992) Espectrofotômetro HACH [®] , modelo DR-2000
NO ₂ ⁻	Semanal	Método colorimétrico do reagente NED (4500 - NO ₂ ⁻ B - APHA, 1992) Espectrofotômetro HACH [®] , modelo DR-2000
NO ₃ ⁻	Semanal	Método colorimétrico Brucina (352.1 - APHA, 1976) Espectrofotômetro HACH [®] , modelo DR-2000
N ₂ O emitido	Semanal	Método de amostragem dinâmica (Adaptado de Ribeiro R, 2013) CG-ECD, modelo GC-2014 Shimadzu
pH	Semanal	Eletrodo de pH - Modelo: HANNA [®] Instruments - HI 2221
OD	Semanal	Eletrodo de íon seletivo de O ₂ - OD Instrutherm, modelo MO-900
Temperatura (T)	Semanal	Termostato acoplado ao equipamento de OD Instrutherm, modelo MO-900
Sólidos Suspensos Totais (SST)	Mensal	Sólidos suspensos totais secos a 103 – 105 °C (2540 D - APHA, 1999a)
Sólidos Suspensos Voláteis e fixos (SSV) e (SSF)	Mensal	Sólidos fixos e voláteis secos a 550 °C (2540 E - APHA, 1999b)
Sólidos Aderidos Totais (SAT)	Mensal	Sólidos fixos e voláteis aderidos secos a 105 °C (2540 D - APHA, 1999a) ^b ; Adaptado de Fonseca & Bassin, 2019 ^c
Sólidos Aderidos Voláteis (SAV) e fixos (SAF) ^d	Mensal	Sólidos fixos e voláteis aderidos secos a 500 °C (2540 E - APHA, 1999b)
Vazão volumétrica de ar insuflado (Q _{ar})	Semanal	Adaptado de Ribeiro <i>et al.</i> 2017

<i>FISH</i>	Em faixas de carga amoniacaais representativas	Adaptado de Pernthaler, <i>et al.</i> , 2001
Alteração visual no biofilme com observação em estereoscópio	Em alterações significativas de carga	Imagens adquiridas no estereoscópio acoplado a câmera digital, modelo: Axio Imager M2m - Carl Zeiss

^a Nitrogênio Amoniacal (analisado como NH₃-N e convertido a NH₄⁺-N para a expressão dos resultados)

^{b, d} Realizados somente para o suporte AnoxKaldnes K1

^c Realizado para o suporte Mutag Biochip™

Fonte: Elaboração própria, 2020.

O monitoramento físico-químico foi realizado para os reatores R1 e R2, conforme ilustrado no esquema da Figura (3-2). Não foi escopo do estudo analisar os reatores B1 e B2. A quantificação de N Amoniacal, NO₂⁻, NO₃⁻ e pH foram realizadas nas correntes líquidas afluyente e efluente aos reatores (entrada e saída), previamente filtradas em membrana de nitrocelulose de diâmetro de 0,45 µm. As análises de sólidos, acompanhamento do biofilme e *FISH* foram realizadas utilizando os sólidos (suspensos e aderidos) contidos nos reatores. Sondas *in situ* foram utilizadas para as determinações de temperatura e OD.

Não foi possível realizar a metodologia de sólidos aderidos voláteis (SAV) para os suportes Mutag Biochip™ devido à impossibilidade de remoção dos sólidos sem perda significativa. A amostragem e quantificação de N₂O, bem como a medição de vazão de ar, foram realizadas a partir da corrente de ar comprimido insuflado que permeava os reatores.

Os tópicos a seguir apresentarão os procedimentos metodológicos adaptados de estudos prévios, citados na Tabela (3-7). Menciona-se a análise de sólidos aderidos totais para o suporte Mutag, a coleta, a quantificação de N₂O, a medição da vazão de ar insuflado, *FISH* e também o procedimento realizado para o ensaio cinético de remoção de N.

3.4.1 – Análise de sólidos aderidos totais (SAT) - Mutag Biochip

Para a execução da análise de sólidos aderidos totais (SAT) no suporte Mutag Biochip, a metodologia proposta por Fonseca e Bassin (2019) foi adaptada. Primeiramente, foi realizada a secagem do cadinho utilizado em mufla a 500 °C por 1 hora, com posterior resfriamento natural em dessecador, livre de umidade. Um suporte foi removido do reator, adicionado ao cadinho seco e levado à secura em estufa na temperatura de 60 °C por 24 horas. Após seco, o conjunto (cadinho com suporte) resfriado em dessecador, foi pesado em balança analítica, obtendo-se o peso 1 (P1).

Após aquisição do (P1), o mesmo suporte foi submetido a banhos ultrassônicos com soluções abrasivas que removiam os sólidos aderidos dos poros. Primeiramente, foi realizado o contato com 30 mL solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol/L em banho ultrassônico por 15 minutos e frequência de 60 Hz. Ao fim desse período, o suporte foi lavado com água destilada e prosseguiu para o segundo banho, utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5 mol/L por 15 minutos a 60 Hz. Em seguida, o mesmo foi lavado exaustivamente com água destilada, reinserido no mesmo cadinho utilizado na etapa anterior e levado à secura em estufa a 60 °C por 24 horas. O conjunto, resfriado em dessecador, foi pesado, obtendo-se o peso 2 (P2). A diferença entre massa obtida no (P1) e no (P2), ou seja, (P1 - P2) era relativa à massa de sólidos aderidos totais (SAT) por suporte analisado.

Sempre que um suporte era removido para análise, um outro com biofilme formado previamente no reator B2, era transferido para o R2, de modo a manter a mesma área superficial no sistema e reduzir o tempo de crescimento dos microrganismos no suporte adicionado. Ressalta-se ainda que a utilização de apenas um suporte na análise se justifica pela pequena quantidade de suportes (29) dentro do reator. Caso fossem removidos mais suportes, a capacidade de remoção de N do sistema poderia ser afetada de forma adversa, uma vez que o crescimento dos organismos nitrificantes é lento, demandando tempo considerável para a reposição do teor de sólidos aos níveis anteriores.

3.4.2 – Amostragem, quantificação de N₂O emitido e determinação de vazão de ar insuflado nos reatores

Segundo metodologia adaptada por Ribeiro (2013), a amostragem de N₂O emitido foi realizada através da coleta do ar borbulhado nos reatores, que ao entrar em contato com a fase líquida, arrasta parte do N₂O produzido na nitrificação, fenômeno conhecido como *air stripping*.

Através de funis com diâmetros conhecidos, emborcados nos reatores e conectados a mangueiras de diâmetro e comprimento conhecidos, o gás emitido seguia até um coletor de gases adaptado, conhecido como bolhômetro, com volume de 500 mL. Esse instrumento possuía, além de uma via superior de alimentação de ar, duas vias inferiores, uma utilizada para a purga de gás para a atmosfera e outra para realização da amostragem do gás. Essa última se mantinha conectada a uma pequena mangueira que na sua outra saída foi acoplada a uma válvula de três vias mantida fechada, sendo aberta somente no momento da amostragem.

Após 45 minutos preenchendo o bolhômetro com o gás proveniente do reator, uma seringa conectada a uma válvula de três vias era acoplada à outra válvula da saída de amostragem do bolhômetro. Realizava-se o acerto das válvulas de modo a possibilitar a coleta do ar interno ao bolhômetro, e realizavam-se três purgas do ar interno.

Ao se finalizar as purgas, foi coletado o volume de 20 mL de amostra, que foi imediatamente encapsulada em frascos de vidro do tipo antibiótico, com volume de 25 mL, preenchidos por completo com solução salina 35 g NaCl/L, previamente selados com septo de borracha e lacrados com selo de alumínio. Entre a amostragem e o encapsulamento, as válvulas permaneciam fechadas de modo a impedir a contaminação do gás coletado com o ar ambiente.

A injeção do gás no frasco (realizada com o fundo do frasco para cima) ocorreu acoplando uma agulha à válvula de 3 vias da seringa usada para amostragem. Uma outra agulha foi diretamente injetada no septo de borracha do frasco, com saída para um coletor de líquido. Conforme se prosseguia a injeção do gás amostrado no frasco, a pressão interna aumentava e parte da solução salina era expulsa pela outra agulha para o frasco coletor. Ressalta-se que a agulha de saída de líquido devia permanecer sempre na altura interna de líquido durante toda a amostragem.

Após a injeção da amostra e a equalização da pressão interna com a externa (ambiente), as agulhas foram removidas do frasco, o septo de borracha fechado com filme plástico e os frascos armazenados com o fundo para cima, de modo que a solução remanescente formasse um selo de líquido, que auxiliava na preservação do gás coletado.

A amostragem foi realizada semanalmente, em triplicata, para cada reator (R1 e R2), sempre realizando, também, uma amostragem do ar do local para o desconto da quantificação do N_2O presente no ar atmosférico. Os frascos foram mantidos na mesma posição, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz até que fossem analisados em cromatógrafo a gás. A Figura (3-5) representa a dinâmica de amostragem e encapsulamento do gás coletado nos reatores.

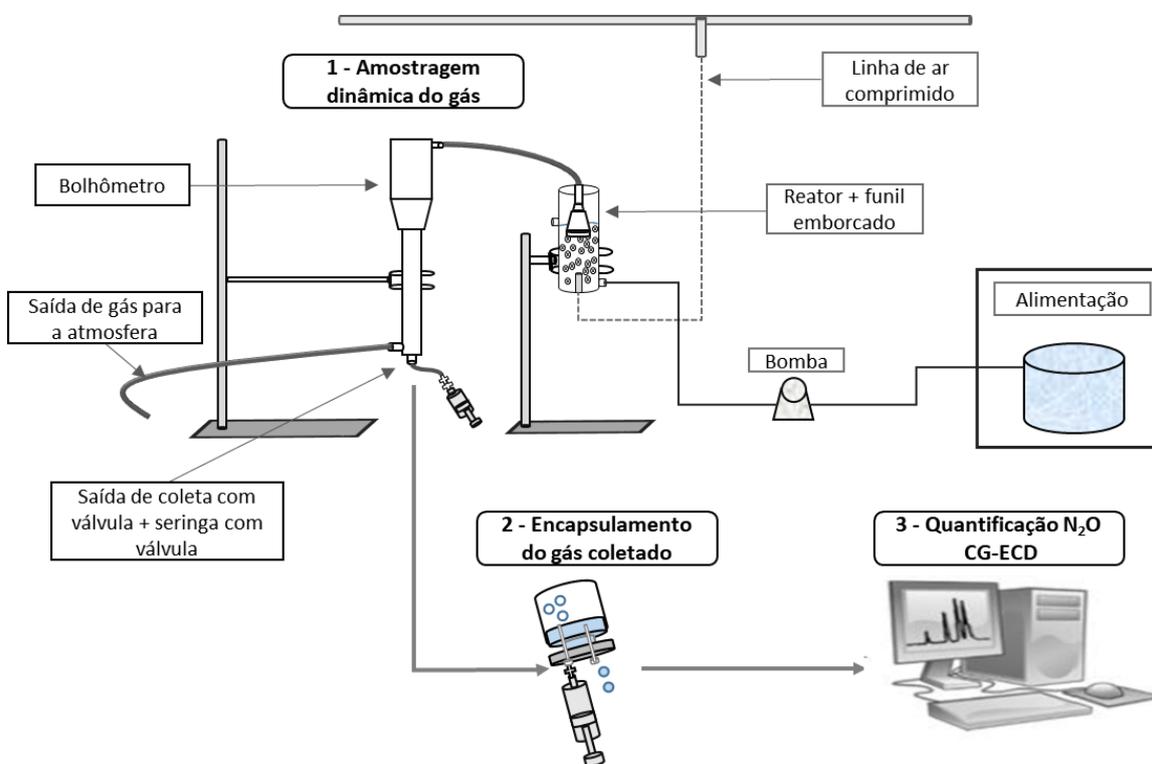


Figura 3-5: Esquemático relativo à amostragem dinâmica e do encapsulamento do gás emitido pelos reatores para a análise de N_2O (Fonte: Elaboração própria, 2020).

Antes da injeção do gás coletado no cromatógrafo, foi realizada a extração da fração de gás dissolvida na solução salina contida no frasco selado. O procedimento consistia na agitação vigorosa do frasco, por aproximadamente 200 vezes, com posterior repouso de 30 segundos. Essa etapa do procedimento sempre era realizada momentos antes da injeção manual no equipamento.

A quantificação de N₂O foi realizada em cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo GC-2014, com coluna empacotada Porapak-Q mantida a 80 °C e detector de captura de elétrons (ECD –⁶³Ni) operado a 325 °C. O gás de arraste utilizado foi o N₂ com 99,99999 % de pureza e a mistura padrão (White Martins Ltda) contendo 95 % de argônio (Ar) e 5 % de metano (CH₄) foi usada como gás de *make up* do detector. O volume de amostra utilizado foi de 1 mL, injetado em sistema de *looping*. As curvas analíticas utilizadas para a quantificação de N₂O foram realizadas através da injeção de três misturas padrões de gases (White Martins Ltda) contendo 298 ppb, 1010 ppb e 4998 ppb de N₂O.

No R1, a vazão de ar, utilizada para a determinação dos fluxos de emissão de N₂O foi aferida com o auxílio do bolhômetro e consistiu na medição do tempo necessário para que ar captado do reator com o mesmo sistema de amostragem de N₂O movesse uma bolha de sabão interna ao bolhômetro por um volume de 100 mL. A determinação da vazão para o R2 foi realizada indiretamente, sendo calculada através da diferença entre a vazão de ar efluente ao rotâmetro (aferida com o bolhômetro no ponto anterior ao divisor de correntes do ar que alimentava os dois reatores) e a vazão de ar determinada no reator R1, levando em consideração a proporcionalidade entre a área do funil e da seção circular do reator. Ressalta-se que as aferições de tempo foram realizadas no mínimo sete vezes, de modo a minimizar o erro de determinação atrelado à técnica realizada.

3.4.3 – Procedimento para coleta e análise quantitativa dos grupos microbianos nitrificantes utilizando a técnica de hibridização in situ por fluorescência (FISH)

A análise de *FISH* foi realizada de modo a identificar e quantificar a comunidade microbiana nitrificante presente nos reatores R1 e R2. A biomassa suspensa presente nos reatores B1 e B2, oriundas do desprendimento do biofilme dos reatores R1 e R2, respectivamente, foram utilizadas para essa análise. A escolha pela coleta dessas amostras se deu pela maior facilidade de amostragem e processamento, e por se considerar que as mesmas eram representativas das biomassas contidas nos reatores R1 e R2. Além disso, evitava-se qualquer retirada de lodo imobilizado nos suportes desses reatores, minimizando interferências no processo nitrificante.

O procedimento consistiu em uma etapa de fixação da biomassa para armazenamento em freezer em -20 °C, uma etapa de hibridização com sondas de oligonucleotídeos específicas para cada grupo microbiano de interesse (BOA, BON e Eubactéria (EUB)) e na aquisição das imagens com posterior processamento e contagem, realizando o comparativo entre os grupos presentes.

Para a fixação, o sólido coletado foi gentilmente macerado para reduzir o tamanho dos agregados microbianos, que dificultavam o acesso da sonda às células bacterianas. A amostra foi transferida para tubos de centrifuga estéreis e foi adicionado tampão fosfato salino (PBS) 1x com pH 7,2. A mistura foi centrifugada por 2 minutos a 1400 rotações por minuto (rpm) e o sobrenadante descartado. O procedimento de lavagem e descarte do sobrenadante foi repetido três vezes.

Após a lavagem e descarte do sobrenadante, foi adicionada uma solução de paraformaldeído 4 % (v/v) ao centrifugado, que foi suspenso e mantido sob refrigeração à temperatura de 4 °C por 2 horas. A amostra resfriada foi novamente centrifugada e lavada três vezes com PBS 1x. O centrifugado foi armazenado com solução de partes iguais de PBS/etanol (98 %) em freezer à temperatura de -20 °C até a hibridização.

Para a etapa de hibridização, primeiramente, as lâminas a serem utilizadas como suporte foram preparadas. Foram utilizados 100 mL de água destilada, 0,1 g de gelatina microbiológica e 0,01 g de sulfato de cromo e potássio (KCr(SO₄)₂) em uma placa de agitação com aquecimento. Para cada amostra foram realizadas triplicatas de fixação,

sendo cada uma das amostras distribuídas em uma lâmina, dividida em poços de tamanhos iguais contendo 0,2 μL , com posterior incubação em estufa bacteriológica a 48 °C.

Após a fixação das amostras nos poços, foi realizada a desidratação com diferentes concentrações crescentes de álcool etílico (50 %, 70 %, 98 %). Em seguida, foi preparado o tampão de hibridização (NaCl 5 mol/L, Na₂EDTA 0,5 mol/L, Tris/HCl 1 mol/L, dodecil sulfato de sódio (SDS) 10 % (v/v)), com formamida em diferentes concentrações, de acordo com a amostra analisada. O mesmo foi aquecido por 10 minutos em estufa a 48 °C e misturado a 1 μL de sondas com diferentes marcações (verde-fluorescente Alexa Fluor 488 e vermelho-fluorescente Alexa Fluor 594) de modo que a concentração final de sonda em cada poço da lâmina fosse de 5 ng/ μL . A Tabela (3-8) resume as sondas utilizadas para cada grupo microbiano alvo. Para detectar a comunidade de BOA e BON, diversas sondas foram misturadas de modo a detectar maior parte das bactérias pertencentes a esses dois grupos nitrificantes.

A etapa de hibridização ocorria por 16 horas, após marcação, em câmara escura a temperatura de 46 °C contendo um frasco com a solução do tampão de hibridização aberto, que mantinha a atmosfera saturada, preservando a lâmina. Ao fim desse período, a lâmina foi mergulhada em solução tampão de lavagem (NaCl 5 mol/L, Na₂EDTA 0,5 mol/L, Tris/HCl 1 mol/L, dodecil sulfato de sódio (SDS) 10 % (v/v)), removendo o excesso de sonda não hibridizada.

A lâmina preparada foi lavada em água destilada e novamente seca em estufa sendo armazenada novamente até que fosse realizada sua visualização, utilizado o microscópio confocal laser Carl Zeiss, modelo LSM 710. Para manter a fluorescência durante o armazenamento a -20°C, utilizou-se o Vectashield com DAPI (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA).

A análise de cada amostra foi realizada em triplicata, seis imagens foram obtidas para cada poço, totalizando 18 imagens para cada lâmina. As imagens foram obtidas pelo Software Black Zeiss, em formato czi, e exportadas para o programa Python Jupyter, minimizando a perda de informação gráfica. A quantificação foi realizada para cada grupo nitrificante específico (BOA ou BON), detectados com sondas específicas, em relação ao total de bactérias presentes.

Tabela 3-8: Sondas oligonucleotídicas utilizadas para cada grupo microbiano alvo.

Sonda	Sequência 5'-3'	Grupo Alvo	Mistura	Referência
EUB 338 I EUB 338 II EUB 338 III	GCTGCCTCCCGTAGGAGT GCAGCCACCCGTAGGTGT GCTGCCACCCGTAGGTGT	Maioria das bactérias <i>Planctomycetes</i> <i>Verrucomicrobiales</i>	EUBmix	Amann <i>et al.</i> (1990) Daims <i>et al.</i> (1999)
Neu 653 Nse 1472 Nso 1225 Nmv Nso 190	CCCCTCTGCTGCACTCTA ACCCAGTCATGACCCCC CGCCATTGTATTACGTGTGA TCCTCAGAGACTACGCGG CGATCCCCTGCTTTTCTCC	Maioria halofílicos e halotolerantes <i>Nitrosomonas spp.</i> <i>Nitrosomonas</i> Oxidadores de amônia β -proteobacteria <i>Nitrosococcus mobilis</i> (<i>Nitrosomonas</i>) lineage Oxidadores de amônia β -proteobacteria	AOBmix	Wagner <i>et al.</i> (1995) Mobarry <i>et al.</i> (1996) Pommerening-Roser (1996)
Nit 1035 Ntspa 662	CCTGTCTCCATGCTCCG GGAATTCCGCGCTCCTCT	<i>Nitrobacter spp</i> Gênero <i>Nitrospira</i> Organismos <i>anammox</i>	NOBmix	Wagner <i>et al.</i> (1996) Daims <i>et al.</i> (1999)

Fonte: Elaboração própria, 2020.

3.4.4 – Ensaios cinéticos de remoção de N amoniacal em batelada

Ao fim do regime operacional com a menor faixa de carga superficial de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicada, quando atingido um estado estacionário (conversões nitrogenadas constantes), foram realizados testes cinéticos de nitrificação em batelada para cada sistema a fim de se estimar a máxima atividade nitrificante (taxa específica máxima de nitrificação) para os sistemas *MBBR*. Nessa condição de menor carga, em função da remoção completa de nitrogênio amoniacal obtida, a capacidade nitrificante durante a operação contínua podia estar limitada pela quantidade de substrato alimentado.

Os testes foram realizados interrompendo-se a alimentação contínua dos reatores, removendo-se o efluente contido nos mesmos e adicionando-se a água residuária sintética não tratada (retirada do frasco refrigerado) de modo a se manter uma concentração inicial próxima de 30 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}$ nos reatores e proporcionar condições metabólicas (alcalinidade e micronutrientes) satisfatórias para a nitrificação. Durante os ensaios, os consumos de nitrogênio amoniacal foram monitorados nos tempos pré-determinados de 0, 15, 30, 60, 120, 180 minutos de modo a contemplar um período próximo ao TRH dos reatores (3h).

Vale ressaltar que para as maiores cargas de nitrogênio aplicadas, o ensaio cinético não foi realizado. Nessas condições, sem limitação de substrato, sempre foi detectado nitrogênio amoniacal no efluente. Portanto, os reatores já operavam em suas capacidades máximas.

3.4.5 – Análises estatísticas utilizadas

Nesse estudo, a análise estatística foi realizada para melhor interpretação dos resultados relativos a remoção de N amoniacal, emissão de N_2O e *FISH*. Duas abordagens principais de interpretações foram realizadas. Na primeira verificou-se a presença de diferença significativa na variação do parâmetro testado para intervalos subsequentes de cargas amoniacaís aplicadas ao reator estudado. Já a segunda abordagem estatística testou a ocorrência de diferença significativa entre os reatores, para um parâmetro analisado, nas mesmas faixas de cargas amoniacaís aplicadas (desempenho do R1 comparado ao R2).

Todas os testes foram realizados com o auxílio do *software Sigma Plot*. Em ambas as abordagens, optou-se por utilizar o teste paramétrico *t-student* e o teste não paramétrico

Mann-Whitney. A escolha do teste aplicado foi realizada através do teste *Shapiro-Wilk*, responsável pela verificação da normalidade dos dados. Para os que apresentaram normalidade, o teste *t-student* (paramétrico) foi empregado e nos conjuntos de amostras considerados fora da normalidade, foi utilizado o teste de *Mann-Whitney* (não paramétrico).

Em todas as análises foi adotado o nível de significância de 5 %, sendo assim, para p-valores inferiores a 0,05 (p-crítico), as amostras comparadas foram consideradas significativamente distintas.

3.5 – Principais cálculos efetuados

3.5.1 – Balanço de nitrogênio, carga superficial e eficiência de remoção (η)

O balanço de N em solução, para cada reator, foi determinado tendo como base as concentrações das espécies nitrogenadas analisadas ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ e $\text{NO}_2^-\text{-N}$) e a vazão volumétrica do sistema. A Equação (3.1) representa a equação geral de balanço utilizada.

$$([\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{af-i} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{af-i} + [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{af-i} - ([\text{NH}_4^+ - \text{N}]_{ef-i} + [\text{NO}_2^- - \text{N}]_{ef-i} + [\text{NO}_3^- - \text{N}]_{ef-i}). q_i = 0 \quad (3.1)$$

Onde os índices *af* e *ef* significam afluente e efluente, respectivamente; o índice *i* é relativo ao reator analisado (R1 ou R2) e *q* a vazão volumétrica do sistema estudado. Como a operação do sistema foi contínua, a vazão afluente era igual a efluente e comum aos dois reatores.

Ressalta-se que neste balanço não foi considerado a parcela de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ assimilada para o crescimento microbiano. Essa premissa teve como base as baixas taxas de assimilação dos organismos autotróficos nitrificantes, que eram a parcela majoritária na comunidade microbiana presente nos dois reatores devido à ausência de fonte de carbono orgânico no esgoto sintético utilizado. Além disso, as parcelas relativas ao $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e $\text{NO}_3^-\text{-N}$ afluentes ao reator, oriundas de possíveis processos de degradação do meio ocorridos nas mangueiras de alimentação, por serem muito pequenas, foram negligenciadas.

As cargas superficiais (afluente ou removida) representam a relação entre a taxa mássica (g/d) dos compostos e a área superficial do *MBBR* (m²). De modo a se realizar o cálculo com os parâmetros operacionais disponíveis, a Equação (3.2) foi utilizada.

$$C_{supAf_i} \left(\frac{g}{m^2 \cdot d} \right) = \left(\frac{(C_{af_i} \cdot q_i)}{(A_{sups-i} \cdot (V_s/VR)_i \cdot V_i)} \right) \quad (3.2)$$

Onde C_{supAf_i} representa a carga superficial do composto (afluente) no reator i ; C_{af_i} representa a concentração afluente, em g/L, do composto no reator i ; q_i a vazão volumétrica, em L/d, do reator i ; A_{sups-i} a área superficial específica do suporte (m²/m³) presente no reator i ; V_s/VR_i a razão de enchimento do reator i e V_i o volume (m³) do reator.

A taxa de remoção superficial (ou carga superficial removida) do composto foi determinada através da Equação (3.3).

$$C_{sup rem_i} \left(\frac{g}{m^2 \cdot d} \right) = \left(\frac{((C_{af_i} - C_{ef_i}) \cdot q_i)}{(A_{sups-i} \cdot (V_s/VR)_i \cdot V_i)} \right) \quad (3.3)$$

Onde $C_{sup rem_i}$ representa a carga superficial removida para o composto no reator i (em g/(m².d)); C_{af_i} a concentração afluente para o composto no reator i , C_{ef_i} a concentração efluente do composto no reator i , expressas em g/L; q_i a vazão volumétrica, em L/d, do reator i ; A_{sups-i} a área superficial específica do suporte (m²/m³) presente no reator i ; V_s/VR_i a razão de enchimento do reator i e V_i o volume (m³) do reator.

De modo a determinar a eficiência de remoção de NH₄⁺-N, a Equação (3.4) foi utilizada.

$$\eta_i(\%) = \left(\frac{([NH_4^+ - N]_{af-i} - [NH_4^+ - N]_{ef-i})}{[NH_4^+ - N]_{af-i}} \right) \cdot 100 \quad (3.4)$$

No qual η_i representa a eficiência de remoção (percentual) de NH₄⁺-N no reator i ; $[NH_4^+ - N]_{af-i}$ a concentração de NH₄⁺-N afluente ao reator i e $[NH_4^+ - N]_{ef-i}$ a concentração de NH₄⁺-N efluente ao reator i , ambas em mg/L .

3.5.2 – Determinação de sólidos aderidos totais e voláteis, atividade específica de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e taxa de desprendimento de biofilme

Para a determinação dos teores de sólidos aderidos totais e voláteis relativos ao reator R1, preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1, seguiu-se a mesma metodologia proposta por APHA (1999a). Os teores de SAT, SAF e SAV por unidade de área foram determinados pelas Equações (3.5), (3.6) e (3.7), respectivamente.

$$SAT_{R1} \left(\frac{\text{mg SAT}}{\text{m}^2} \right) = \left(\frac{(P2_{R1} - P1_{R1}) \cdot n}{(A_{sups-R1} \cdot (V_s/VR)_{R1} \cdot V_{R1})} \right) \cdot (N/n) \quad (3.5)$$

Onde SAT_{R1} representa o teor de sólidos aderidos totais por unidade de área no reator R1; $P2_{R1}$ é o peso (mg) do cadinho contendo os sólidos extraídos do suporte do reator R1 e secos a 100 °C, $P1_{R1}$ o peso do sistema cadinho seco antes do procedimento de lavagem (mg); n é relativo ao número de suportes usados na determinação; $A_{sups-R1}$ a área superficial do suporte (m^2/m^3) presente no reator; V_s/VR_{R1} a razão de enchimento; V_{R1} o volume (m^3) do reator e N o número total de suportes no reator.

$$SAF_{R1} \left(\frac{\text{mg SAF}}{\text{m}^2} \right) = \left(\frac{(P3_{R1} - P1_{R1}) \cdot n}{(A_{sups-R1} \cdot (V_s/VR)_{R1} \cdot V_{R1})} \right) \cdot (N/n) \quad (3.6)$$

Onde SAF_{R1} representa o teor de sólidos aderidos fixos por unidade de área no reator R1; $P3_{R1}$ é o peso do cadinho contendo os sólidos do suporte do R1, secos a 550 °C (mg); $P1_{R1}$ o peso do sistema cadinho seco antes do procedimento de lavagem (mg); n é relativo ao número de suportes usados na determinação; $A_{sups-R1}$ a área superficial do suporte (m^2/m^3) presente no reator; V_s/VR_{R1} a razão de enchimento; V_{R1} o volume (m^3) do reator e N o número total de suportes no reator.

$$SAV_{R1} \left(\frac{\text{mg SAV}}{\text{m}^2} \right) = (SAT_{R1} - SAF_{R1}) \quad (3.7)$$

Onde SAV_{R1} representa o teor de sólidos aderidos voláteis por unidade de área no reator R1; SAT_{R1} o teor de sólidos aderidos totais do R1 (mg SAT/m²) e SAF_{R1} o teor de sólidos aderidos fixos (mg SAF/m²) no reator.

Conforme apresentado na Sessão 3.4.1, para o suporte Mutag Biochip, usada no R2, o teor de sólidos aderidos totais foi determinado seguindo a metodologia adaptada de Fonseca e Bassin (2019). A Equação (3.8) apresenta o cálculo realizado.

$$SAT_{R2} \left(\frac{mg \text{ SAT}}{m^2} \right) = \left((P1_{R2} - P2_{R2}) \cdot n \right) / \left(A_{sups-R2} \cdot \left(\frac{V_s}{VR} \right)_{R2} \cdot V_{R2} \right) \cdot (N/n) \quad (3.8)$$

Onde SAT_{R2} representa o teor de sólidos aderidos totais por unidade de área no reator R2; PI_{R2} é o peso do sistema cadinho mais suporte do reator R2 secos a 60°C antes do procedimento de lavagem (mg); $P2_{R2}$ o peso do sistema cadinho mais suporte secos a 60 °C após o procedimento de lavagem (mg); n é relativo ao número de suportes usados na determinação; $A_{sups-R2}$ a área superficial do suporte (m²/m³) presente; V_s/VR_{R2} a razão de enchimento do reator, V_{R2} o volume (m³) do reator R2 e N o número total de suportes do reator.

De modo a se obter uma estimativa do teor de sólidos aderidos voláteis no R2, foi considerado que a relação SAV/SAT para esse reator foi semelhante à relação SSV/SST, possível de ser obtida através da metodologia de sólidos suspensos, descrita por APHA (1999a). Sendo assim, o teor de SAV para o reator R2 foi estimado através do produto [SAT.(SSV/SST)]. Essa abordagem se mostrou razoável uma vez que os sólidos em suspensão foram oriundos do desprendimento do biofilme, dado o reduzido TRH (3h) para desenvolvimento dos organismos nitrificantes em suspensão.

Também de acordo com a relação entre o amônio consumido e o teor de sólidos voláteis totais dos reatores (SVT), foi determinada a taxa de remoção específica de NH₄⁺-N do sistema. A Equação (3.9) foi utilizada para essa determinação.

$$REN_i \left(\frac{mg \text{ NH}_4^+ - N}{(g \text{ SVT} \cdot h)} \right) = \left(\left(([NH_4^+ - N]_{af-i} - [NH_4^+ - N]_{ef-i}) \right) / (TRH \cdot SVT_i \cdot 10^3) \right) \quad (3.9)$$

Onde REN_i corresponde à remoção específica de NH_4^+ -N para o reator i ; $[af]_i$ a concentração de NH_4^+ -N afluyente ao reator i e $[ef]_i$ a concentração de NH_4^+ -N efluente ao reator i , ambas em mg/L; TRH o tempo de retenção hidráulica, em horas (h); SVT_i refere-se ao teor de sólidos voláteis totais do reator em mg/L. SVT_i foi determinado através da soma do SSV e do SAV, ambos em mg/L, e para a determinação do SAV em mg/L, foi realizada multiplicação do teor de SAV, em mg/m², pela relação entre a área superficial do reator i (m²) pelo seu volume útil (m³) (A_{supb}/VR) _{i} .

A taxa de desprendimento do biofilme para ambos os reatores foi calculada usando a Equação (3.10).

$$KD_i \left(\frac{g SST}{m^2 \cdot d} \right) = \left(\frac{(SST_i \cdot q_i)}{(A_{sups-i} \cdot (V_s/VR)_i \cdot V_i)} \right) \quad (3.10)$$

Onde KD_i representa a taxa de desprendimento de biofilme no reator i ; SST_i representa a concentração de sólidos suspensos totais, em g/L, na saída do reator i (considerado igual à concentração interna ao reator para sistemas perfeitamente agitados); q_i a vazão volumétrica, em L/d, do reator i ; A_{sups-i} a área superficial específica do suporte (m²/m³) presente no reator i ; V_s/VR_i a razão de enchimento do reator i e V_i o volume (m³) do reator.

3.5.3 – Determinação da concentração de amônia livre (NH₃-N) e ácido nitroso (HNO₂-N)

Para determinar a concentração de amônia livre (NH₃-N) nos reatores nitrificantes, as Equações (3.11) e (3.12), propostas por Anthoniesen *et al.* (1976), foram utilizadas. Essas equações levam em consideração o equilíbrio entre a forma ionizada e a não ionizada do N-amoniacal, além do pH e da T do meio.

$$[NH_3 - N]_i \left(\frac{mg NH_3-N}{L} \right) = \left(\frac{([NH_4^+ - N]_{ef-i} \cdot 10^{pH_i})}{((1/Ka_i) + 10^{pH_i})} \right) \quad (3.11)$$

$$1/Ka_i = \exp \left[\frac{6334}{(273,15 + T_i)} \right] \quad (3.12)$$

Onde $[NH_3-N]$ é a concentração de amônia livre (NH₃-N) em mg NH₃-N/L, $[NH_4^+-N]_{ef;i}$ a concentração de NH₄⁺-N em mg NH₄⁺-N/L, pH o potencial hidrogeniônico, T a temperatura em °C e o índice i representa o reator analisado.

Devido a possibilidade de intensificação na geração e emissão de N₂O em sistemas com altos teores de ácido nitroso (HNO₂), também foi realizada a determinação desse composto em função das concentrações de NO₂⁻-N do sistema, do pH e da T. As Equações (3.13) e (3.14), também sugeridas por Anthoniesen *et al.* (1976), foram utilizadas.

$$[HNO_2 - N]_i \left(\frac{mg\ HNO_2-N}{L} \right) = \left(\frac{([NO_2^- - N]_i)}{(K_{n_i} \cdot 10^{pH_i})} \right) \quad (3.13)$$

$$K_n = \exp \left[\frac{-2300}{(273,15 + T_i)} \right] \quad (3.14)$$

Onde $[HNO_2-N]$ é a concentração de ácido nitroso (HNO₂-N) em mg HNO₂-N/L, $[NO_2^- - N]$ a concentração de NO₂⁻-N em mg NO₂⁻-N/L, pH o potencial hidrogeniônico, T a temperatura em °C e o índice i representa o reator analisado.

3.5.4 – Determinação da concentração (mg/L) de N₂O quantificado, fluxo de emissão de N₂O e fator de emissão (FE) de N₂O

De modo a determinar a concentração de N₂O emitida pelos reatores, em mg N₂O-N/L, a Equação (3.15), adaptada de Ribeiro (2013), foi utilizada.

$$[N_2O - N]_i \left(\frac{mg\ N_2O-N}{L} \right) = \left(\left(\frac{(P \cdot \Delta N_2O)}{(R \cdot T)} \right) \cdot \left(\frac{28}{10^6} \right) \right) \quad (3.15)$$

Onde $[N_2O-N]_i$ é a concentração em mg N₂O-N/L emitida pelo reator i ; P é a pressão atmosférica ambiente (1,01 atm); ΔN_2O é a diferença entre a concentração de N₂O obtida para a amostra analisada e a concentração de N₂O do ar atmosférico ambiente, ambas em ppbv (partes por bilhão em unidade volumétrica); R é a constante universal dos gases em ((atm.L)/(mol.K)) e T a temperatura absoluta ambiente (K). Os valores de 28 e 10⁶ são relativos às conversões de unidades de quantidade de matéria e ppbv para valores mássicos de N₂O-N. Ressalta-se que não foi considerado desvio da idealidade para o

cálculo da concentração do gás devido às baixas condições de T e P do sistema (condições ambientes).

A taxa de emissão de N₂O (E_{N_2O-i}) para o reator i , em mg N₂O-N/d, apresentada na Equação (3.16), foi determinada através do produto entre a concentração de N₂O-N ($[N_2O-N]_i$), em mg/L, a vazão volumétrica de gás insuflado que permeava pelo funil de coleta de N₂O emitido (q_{g-i}) em L/d, e a relação entre as áreas das seções circulares dos reatores ($A_{seccr-i}$) e dos funis (A_{secf-i}) em m².

$$E_{N_2O-i} \left(\frac{mg \ N_2O-N}{d} \right) = ([N_2O - N]_i \cdot q_{g-i}) \cdot \left(\frac{A_{seccr-i}}{A_{secf-i}} \right) \quad (3.16)$$

A taxa de emissão específica de N₂O (ES_{N_2O-i}) para o reator i , em mg N₂O-N/(g SVT.h) foi calculada através da equação (3.17)

$$ES_{N_2O-i} \left(\frac{mg \ N_2O-N}{g \ SVT.h} \right) = \left(\frac{E_{N_2O-i}}{(SVT_i \cdot VR.24)} \right) \quad (3.17)$$

Onde VR é relativo aos volumes dos reatores, em litros (L); SVT_i é relativo ao teor de sólidos voláteis totais do reator i em mg/L.

O fluxo (F_{N_2O-i}) de emissão de N₂O-N, apresentado na Equação (3.18), foi determinado utilizando a concentração de N₂O-N ($[N_2O-N]_i$) em g/L, a vazão volumétrica de gás insuflado que permeava pelo funil de coleta de gás emitido (q_{g-i}) em L/d, e a área da seção circular do funil utilizado no reator i (A_{secf-i}) em m² (para o funil utilizado no R1 a área superficial foi de 0,0014 m² e para o do R2 0,0005 m²), sendo que o índice i representa o reator estudado. Considerou-se fluxo de emissão constante em todos os pontos da superfície dos reatores.

$$F_{N_2O-i} \left(\frac{g \ N_2O-N}{m^2.d} \right) = \left(\frac{([N_2O - N]_i \cdot q_{g-i})}{A_{secf-i}} \right) \quad (3.18)$$

O FE de N₂O foi determinado através da relação entre a emissão (mássica) de N₂O-N em g N₂O-N/d e a vazão mássica de N (neste caso, N amoniacal) afluente ao reator em g NH₄⁺-N/d, de acordo com a Equação (3.19).

$$F_{N_2O-i} (\%) = \left(\frac{(g N_2O - N_i/d)}{(g N_{af\ i}/d)} \right) \cdot 100 \quad (3.19)$$

Onde F_{N_2O-i} é o fator de emissão percentual de N_2O para o reator i ; $g N_2O-N_i/d$ é a massa em g de N_2O-N emitido pelo reator i por dia e $g N_{af\ i}/d$ a massa de NH_4^+-N afluente ao reator i por dia.

CAPÍTULO 4

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo serão apresentados os resultados obtidos para os reatores nitrificantes, que operaram continuamente por aproximadamente 620 dias. Serão abordados os resultados relativos à remoção de N amoniacal, à emissão de N_2O e à quantidade de biomassa para os sistemas R1 e R2. De modo a facilitar o entendimento dos perfis observados, todos os resultados serão expressos como valores médios dos parâmetros obtidos para cada faixa de carga de NH_4^+-N aplicada, representados em função do aumento crescente dessa aos reatores. Ressalta-se que foi realizada a adaptação gradual do sistema para a carga de estudo analisada por, no mínimo, 15 dias. Isto é, dependendo da condição operacional avaliada, a carga de N amoniacal aplicada foi aumentada ou diminuída gradualmente, impedindo a ocorrência de choques de carga à comunidade nitrificante e conferindo tempo suficiente para a sua adaptação à nova condição.

4.1 – Remoção de nitrogênio amoniacal

Durante os ensaios, os dois sistemas *MBBR* nitrificantes, R1, preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1 e R2 com Mutag Biochip, operaram com mesmo TRH (3 h) e possuíam a mesma área superficial. Dessa forma, ambos sistemas foram submetidos às mesmas variações de cargas superficiais aplicadas. As cargas superficiais de NH_4^+-N removidas nos reatores R1 e R2 são apresentadas na Figura (4-1), na qual também são mostradas linhas representando as diferentes eficiências teóricas de remoção de N amoniacal (100, 80, 50 e 30 %) para os dois sistemas.

Para cargas amoniacaais aplicadas mais baixas (0,5 a 2,4 g $NH_4^+-N/(m^2.d)$), foi possível observar que os valores experimentais obtidos para ambos reatores foram pouco dispersos entre si. Assim, ambos reatores possuíam capacidades de nitrificação similares, com eficiências de remoção de N amoniacal entre 70 e 90 %, se aproximando do intervalo entre as linhas ilustrativas que representavam eficiências de remoção de 80 e 100 %. Com o aumento gradual da carga nitrogenada afluyente, observou-se uma queda gradual da eficiência de remoção de N amoniacal do sistema, embora houvesse um aumento da quantidade de nitrogênio amoniacal removida. Para cargas aplicadas próximas a 9 g

$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, a eficiência de remoção se situou entre 50 e 80 % para o R1 e entre 30 e 50 % para o R2, respectivamente.

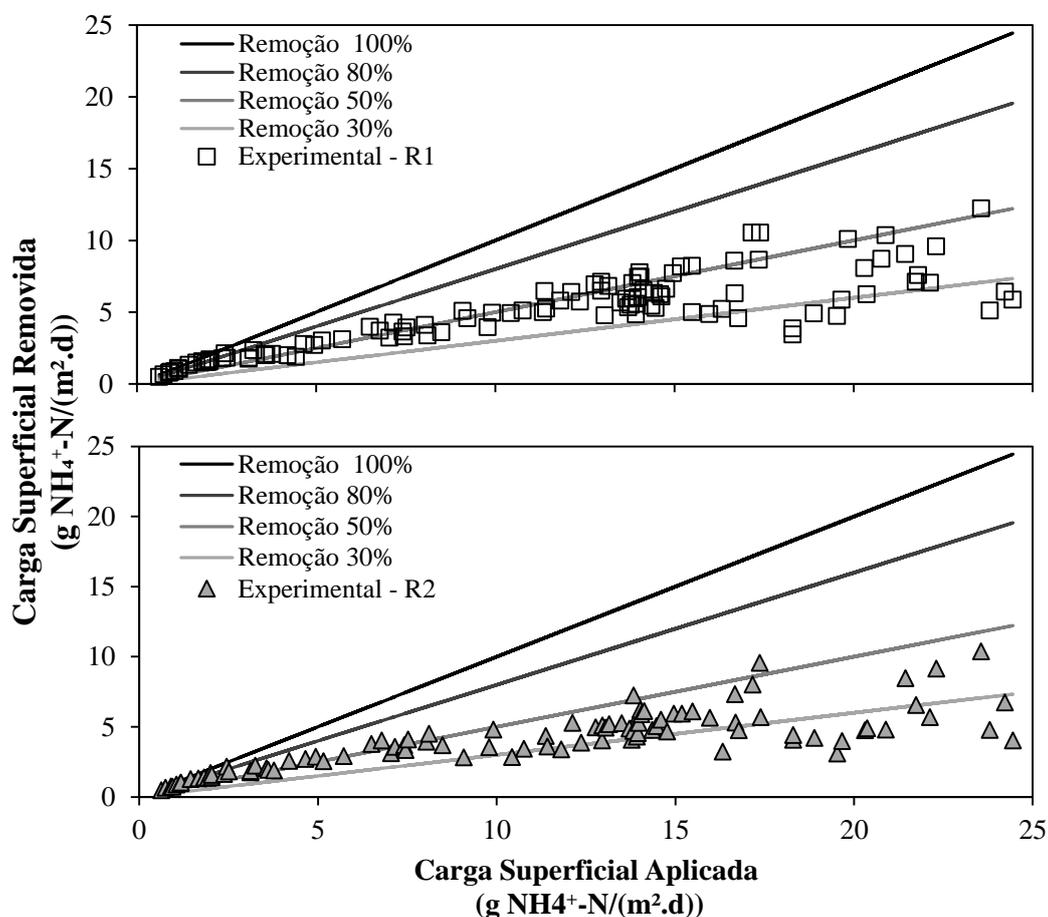


Figura 4-1: Carga superficial de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removida (em pontos) para as diferentes cargas superficiais amoniacais aplicadas, bem como as linhas indicando diferentes eficiências de remoção teóricas (100, 80, 50 e 30 %) para os reatores R1 e R2.

Com o aumento da carga amoniacal aplicada, a quantidade de amônio removida tanto no R1 quanto no R2 continuou aumentando, contudo, esse aumento ocorreu em menores proporções em relação ao aumento da carga aplicada, o que acarretou na redução da eficiência de remoção de N amoniacal. Em cargas aplicadas bastante elevadas, superiores a 17 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, ambos os sistemas apresentaram maior instabilidade em relação à capacidade de nitrificação, havendo maior dispersão nos valores de eficiência e pouca variação da quantidade de amônio removido, mesmo com o aumento expressivo da carga aplicada. Nessas condições, as eficiências de remoção de N amoniacal passam se concentrar entre 30 e 50 % para o reator R1 e menor que 30 % para o R2. Somente após a carga aplicada de 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, é retomado um perfil de aumento da remoção para os dois reatores, sugerindo um tempo maior para a adaptação dos

organismos às elevadas cargas de N amoniacal aplicadas. Além disso, as quantidades removidas nessas cargas mais elevadas foram próximas às observadas quando se aplicaram cargas amoniacais próximas a 15 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, o que sugere que esses sistemas possam ter alcançado a capacidade limite de remoção de amônio nas condições operacionais estudadas.

De modo a se realizar uma análise mais detalhada dos resultados obtidos para as diversas faixas de carga testadas, a carga amoniacal superficial removida média, bem como a eficiência de remoção média (em termos percentuais) para cada faixa média de carga superficial amoniacal aplicada nos reatores R1 e R2 podem ser observadas na Figura (4-2). Os resultados dos p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para o embasamento dessa etapa são apresentadas nas Tabelas (7-1), (7-2) e (7-3) do Anexo (a).

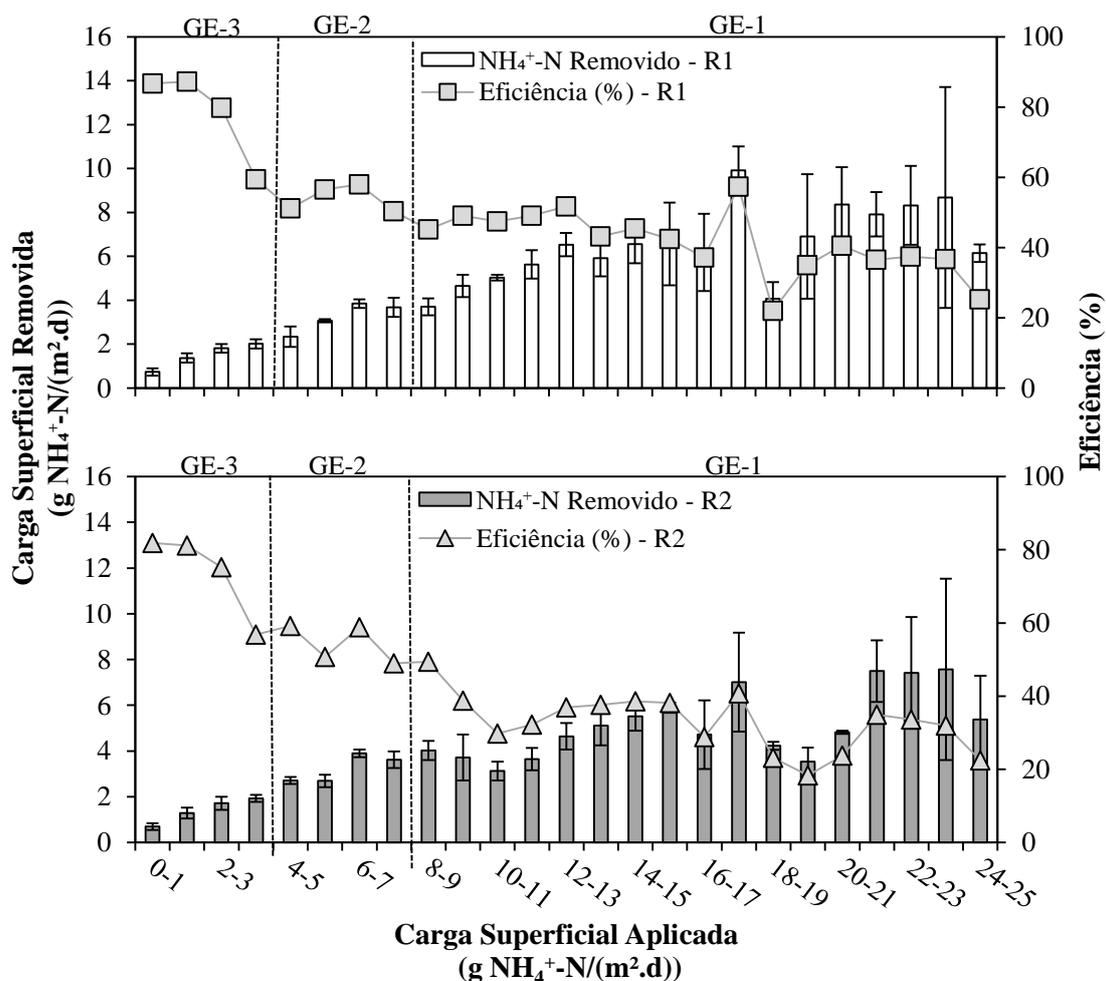


Figura 4-2: Valores médios de cargas superficiais amoniacais removidas e seus respectivos desvios padrão, bem como a eficiência de remoção de N amoniacal (%) para cada faixa de carga de N amoniacal aplicada aos reatores R1 e R2.

Nas faixas médias de 0 – 1 até a faixa de 2 – 3 g NH₄⁺-N/(m².d), ambos os sistemas apresentaram capacidade de remoção elevadas e crescentes: 0,7 ± 0,2 até 1,8 ± 0,2 g NH₄⁺-N/(m².d) para o R1 e 0,7 ± 0,1 a 1,7 ± 0,3 g NH₄⁺-N/(m².d) para o R2. As eficiências de remoção de N amoniacal foram de 87 e 80 % para o R1 e de 82 e 75 % para o R2, respectivamente. Para os dois reatores, foi possível observar diferença significativa (p<0,05) na remoção de N amoniacal para essas faixas de carga amoniacal aplicadas.

Bassin *et al.* (2016), ao estudarem dois sistemas *MBBR* de bancada utilizando-se das mesmas condições de TRH, tipos de suportes e frações de enchimento do presente estudo, porém com aporte de matéria orgânica biodegradável (DQO solúvel de 400 mg O₂/L) e carga superficial de NH₄⁺-N de 1,6 g NH₄⁺-N/(m².d), reportaram remoções de NH₄⁺-N na faixa de 50 a 86 % para o reator preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1 e de 35 a 73 % para o preenchido com Mutag Biochip. Os maiores valores de remoção de NH₄⁺-N observados na presente pesquisa estão relacionados à ausência de matéria orgânica no afluente dos sistemas, minimizando o crescimento de organismos heterotróficos e favorecendo o desenvolvimento dos nitrificantes (CHEN *et al.*, 1991).

No intervalo de faixas de 2 – 3 até 4 – 5 g NH₄⁺-N/(m².d), a eficiência de remoção de N amoniacal no reator R1 não apresentou diferença significativa (p-valor > 0,05). No entanto, houve um sensível aumento na remoção na faixa de 5 – 6 g NH₄⁺-N/(m².d), na qual a carga removida, foi, em média, de 3,1 ± 0,2 g NH₄⁺-N/(m².d). Na faixa seguinte, 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d), também foi possível observar um aumento significativo na remoção, alcançando-se uma carga removida de 3,8 ± 0,2 g NH₄⁺-N/(m².d). Não houve diferença estatística no desempenho do reator até a faixa de 8 – 9 g NH₄⁺-N/(m².d).

Para o reator R2, nas faixas 2 – 3 e 3 – 4 g NH₄⁺-N/(m².d), foram observadas cargas removidas similares, somente aumentando para o valor médio de 1,8 ± 0,5 g NH₄⁺-N/(m².d) na faixa aplicada de 4 – 5 g NH₄⁺-N/(m².d). Similarmente ao R1, quando aplicada a faixa de carga de 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d), a remoção de N amoniacal aumentou para 3,9 ± 0,2 g NH₄⁺-N/(m².d), apresentando nesta faixa, eficiência de remoção 59 %.

Zafarzadeh *et al.* (2010) estudaram sistemas *MBBR* de bancada que realizavam desnitrificação e nitrificação parcial. Com baixa relação C/N (igual a 2) e carga superficial aplicada de 4,5 g NH₄⁺-N/(m².d) (concentração afluente de 250 mg NH₄⁺-N/L), esses autores observaram uma remoção de aproximadamente 67 % da carga nitrogenada afluente, valor ligeiramente superior ao obtido nesse trabalho. Contudo, foi aplicado TRH 6,7 vezes superior ao estudado (TRH de 20 h).

Ao se prosseguir com o aumento das cargas de N amoniacal aplicadas, durante os intervalos de 9 – 10 a 12 – 13 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, não houve diferença significativa entre a remoção de nitrogênio amoniacal para o reator R1, sendo a carga removida, em média, de $5,1 \pm 0,4$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Posteriormente, a carga removida aumentou para $6,5 \pm 0,5$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ ($p < 0,05$) quando o sistema operou na faixa de 12 – 13 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, com eficiência de remoção de N amoniacal de 52 %. Já no reator R2, durante o intervalo aplicado de 6 – 7 até 11 – 12 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, as cargas removidas não divergiram significativamente, ficando, em média, em $3,7 \pm 0,5$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Para esse intervalo de cargas, a eficiência de remoção de N amoniacal decresceu de 59 para 29 %. Tal como observado no R1, houve o aumento significativo na carga removida quando o sistema foi submetido à carga de 12 – 13 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, que alcançou o valor de $4,6 \pm 0,6$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

A tendência de estabilização da quantidade de N amoniacal removida ao longo dos regimes com aumento de carga aplicada foi ainda mais perceptível a quando o sistema operou em cargas superficiais mais elevadas. Para o intervalo de cargas de 12 – 13 até 16 – 17 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, o reator R1 obteve remoção média de carga equivalente a $6,4 \pm 1,2$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Essa tendência foi ainda mais expressiva no R2, o qual, durante os intervalos de 12 – 13 até 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, apresentou remoção de carga iniciada em $4,6 \pm 0,6$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e finalizada em $3,5 \pm 0,6$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, apresentando decréscimo de 37 % para 18 % na eficiência de remoção de N amoniacal.

Quando o reator R1 foi submetido a faixa de carga de 17 – 18 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, a carga removida aumentou substancialmente, atingindo o valor máximo de $9,9 \pm 1,1$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Contudo, ao se elevar a carga aplicada para 18 – 19 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, uma diminuição significativa da carga removida foi observada, atingindo apenas $4,1 \pm 0,8$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, uma redução de aproximadamente 50 % frente à faixa anterior. Em cargas superiores a essa, foram observados grandes desvios padrão nos valores médios obtidos (em média de $\pm 2,1$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$), o que implica em uma elevada instabilidade na capacidade nitrificante quando os microrganismos foram submetidos a cargas nitrogenadas bastante elevadas. A remoção de N amoniacal durante as faixas de 19 – 20 até 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

No reator R2, somente quando aplicada a carga de 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, foi verificada alteração significativa ($p < 0,05$) na carga de N amoniacal removida. O sistema passou a remover $4,8 \pm 0,1$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, valor estatisticamente superior ao obtido na carga aplicada anterior, de $3,5 \pm 0,6$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Na carga subsequente (21 – 22 g

$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), houve um aumento substancial na capacidade nitrificante do sistema, atingindo-se o valor de carga removida de $7,5 \pm 1,3 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, o que sugeriu a adaptação do sistema ao aporte de elevadas cargas amoniacais aplicadas. Para os aumentos seguintes, tal qual para R1, além da maior instabilidade no desempenho (com desvios na faixa de $\pm 1,9$ a $4,0 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), foi observada a mesma tendência de estabilização da carga de N amoniacal removida, que foi de $7,4 \pm 2,4$ e $5,4 \pm 1,9 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ para as cargas aplicadas de 22 – 23 e 24 – 25 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, respectivamente.

De forma geral, foi possível observar que havia o incremento da carga de N amoniacal removida para os dois reatores em função do acréscimo da carga de N amoniacal aplicada. Contudo, quando os sistemas foram submetidos a faixas de cargas mais elevadas, para que houvesse um aumento significativo da remoção, era necessário maior período de adaptação dos organismos presentes nos biofilmes. A interação complexa entre o aumento de carga aplicada e as ações inibitórias do substrato nitrogenado alimentado e também dos subprodutos da nitrificação podem auxiliar a compreender a capacidade máxima de remoção de N amoniacal obtida nos sistemas quando operados em faixas de carga mais elevadas.

Aqeel e Liss (2020) estudaram a capacidade de remoção de elevadas cargas de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em *MBBR* contendo biofilmes autotróficos nitrificantes. Nesse estudo, foi realizada a aclimatação gradual do sistema com aumento da concentração afluyente de amônio de 130 até 1000 $\text{mg NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$ (aumento de carga de 0,5 a 3,7 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) durante 306 dias, aplicando TRH de 24 horas e usando um suporte não poroso. Para concentrações de amônio afluyente de até 750 $\text{mg NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$, a eficiência de remoção se manteve na faixa entre 70 e 100 %, o que correspondeu a uma carga superficial removida de até 2,4 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. O aumento da carga aplicada para 3,3 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ e a exposição do reator a longos períodos com elevadas concentrações de substrato tornou o sistema instável e reduziu a eficiência de remoção para a faixa de 20 a 30 % da carga afluyente. Esses resultados corroboram com a redução da capacidade de nitrificação observada nos sistemas R1 e R2 (se comparada à capacidade máxima de remoção) sob condições de cargas superficiais afluentes elevadas.

Ressalta-se, sobretudo, a carência de estudos que avaliem a robustez de sistemas autotróficos nitrificantes frente a elevadas cargas amoniacais aplicadas. Para o tratamento de correntes com concentrações elevadas de NH_4^+ , geralmente o aumento do TRH do reator é uma estratégia adotada, pois permite reduzir a carga nitrogenada aplicada. Contudo, nessa pesquisa, o objetivo foi avaliar a máxima capacidade de nitrificação de

sistemas *MBBR* autotróficos em condições de cargas aplicadas bastante elevadas e em TRH reduzido e invariável.

Uma outra análise a ser feita se baseia na comparação da diferença entre o desempenho dos reatores em relação à remoção de N amoniacal, quando submetidos às mesmas condições operacionais (carga amoniacal aplicada, OD e TRH), de modo a verificar a influência do suporte de crescimento microbiano na nitrificação. Para tal, a tabela (7-3), do Anexo (a), apresenta o resultado estatístico, a nível de 95 % de confiança (alfa de 0,05), utilizado como base para a discussão.

Quando os sistemas operaram sob cargas aplicadas baixas e médias (GE-3 e GE-2), não foi possível observar diferença significativa entre o desempenho na remoção de N amoniacal ($p > 0,05$) dos dois reatores, quando se compara as mesmas faixas de carga aplicadas. Nesse sentido, para essas condições de carga afluyente, o uso de um ou outro suporte não irá exercer influência na capacidade nitrificante do sistema. Contudo, outros fatores não analisados podem ser levados em consideração para a escolha do melhor suporte a ser usado nessas faixas de aplicação, como por exemplo a hidrodinâmica do suporte no reator e a quantidade de sólidos aderidos e suspensos, conforme será discutido posteriormente.

Para as faixas de cargas nitrogenadas mais elevadas, mais especificamente entre 10 – 11 até 14 – 15 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, houve diferença significativa entre o desempenho dos reatores, sendo observada maior capacidade nitrificante no R1, preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1, que removeu cargas de $5,0 \pm 0,1$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e $6,6 \pm 0,9$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, respectivamente. Já o reator R2, preenchido com o suporte Mutag, removeu $3,1 \pm 0,4$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e $5,5 \pm 0,6$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ para essas duas faixas de carga aplicada, respectivamente.

Os maiores valores de desvio padrão obtidos para os ensaios em cargas mais altas, consequência da maior dificuldade de adaptação dos dois sistemas, influenciaram na análise de desempenho dos reatores. De fato, considerando as mesmas as faixas durante o intervalo 15 – 16 até o de 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, não foi observada diferença significativa na remoção de N amoniacal para o R1 e R2. Contudo, ao se alcançar a faixa 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, novamente houve diferença no desempenho dos reatores de modo a sugerir que existe também uma distinção entre a capacidade de adaptação e tolerância dos organismos às elevadas cargas aplicadas, relacionada à configuração do suporte, que leva a uma estrutura do biofilme distinta.

O suporte AnoxKaldnes K1 possibilita a formação de um biofilme mais espesso, com microrganismos protegidos ao longo de sua espessura, enquanto no Mutag Biochip o crescimento microbiano se procede nos poros internos. Tal conformação pode resultar em maior sensibilidade dos organismos nitrificantes a agentes inibitórios nesse último tipo de suporte, cuja exposição do biofilme formado ao meio líquido contendo as espécies nitrogenadas é distinta em relação ao outro suporte.

Além disso, as diferentes estruturas dos suportes conferem aos reatores quantidades diferentes de sólidos aderidos. Em uma mesma carga aplicada, o suporte K1 pode apresentar maior teor de sólidos aderidos que o Mutag. Com a maior quantidade de bactérias aderidas aos suportes (SAV), maiores remoções podem ser observadas, mesmo que este sistema apresente menor atividade. Essa discussão acerca dos teores de sólidos e atividade dos reatores será mais detalhada no tópico 4.4.

Ao se prosseguir com o aumento das cargas amoniacais aplicadas (de 21 – 22 até 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), novamente os reatores contendo dois suportes diferentes apresentaram o mesmo desempenho na remoção de N amoniacal. Sendo assim, apesar do reator R2 ter tido a nitrificação mais afetada, após maior tempo de adaptação da comunidade microbiana nitrificante, foi capaz de retomar o desempenho a níveis próximos aos obtidos pelo R1.

De forma geral, as diferenças entre as eficiências de remoção dos reatores podem estar ligadas à inibição por NH_3 livre, ao efeito nocivo de NO_2^- acumulado, à estrutura do biofilme e também relacionadas à diferença dos teores de biomassa aderida e suspensa presente nos reatores. Tais fatores serão discutidos com mais detalhes conforme esses dados forem apresentados.

Alguns estudos reportaram desempenho similar na remoção na carga orgânica para *MBBR* preenchidos com diferentes suportes (BASSIN *et al.*, 2016; YOUNG *et al.*, 2017). Contudo, para a remoção de NH_4^+ via nitrificação, o tipo de suporte parece apresentar grande influência, sobretudo em elevadas cargas nitrogenadas, conforme observado nesse trabalho.

Durante todos os ensaios, os teores de OD no seio do líquido estavam em condições que garantiam suprimento de O_2 necessário para a ocorrência da nitrificação em sistemas com biofilme, de 3 a 4 mg O_2/L (HENZE *et al.*, 1997). A concentração de OD nos experimentos foi mantida entre 6 e 8 mg de O_2/L . A variação desse parâmetro frente as cargas médias de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas está apresentada na Figura (7-1) do Anexo (a).

É importante salientar que, para a condição de TRH adotada, com o aumento progressivo da carga aplicada e a conseqüente redução da eficiência de remoção para valores inferiores a 90 %, considerou-se que os sistemas estavam operando em sua capacidade máxima, ou seja, estavam removendo a máxima quantidade de substrato possível nas condições impostas. A queda de desempenho começou a ser observada, para os dois reatores, a partir da carga de N amoniacal aplicada de 2 – 3 g NH₄⁺-N/(m².d)).

A Figura (4-3) apresenta uma análise dos perfis de concentrações de amônio afluentes e efluentes para cada um dos sistemas.

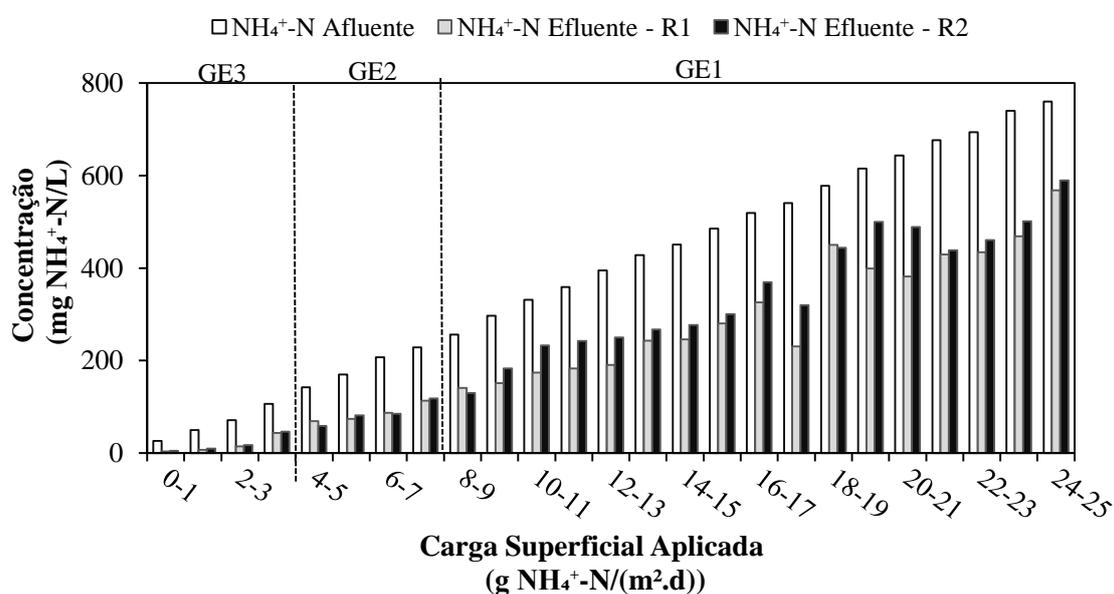


Figura 4-3: Perfil de concentrações de NH₄⁺-N afluente (igual para os dois reatores) e efluente dos reatores R1 e R2.

Para as concentrações de NH₄⁺-N afluentes similares às encontradas em esgoto doméstico (30 a 50 mg NH₄⁺-N/L), pode-se observar uma qualidade dos efluentes obtidos compatíveis com as impostas pelas legislações vigentes para o parâmetro analisado (5 mg NH₄⁺-N/L) (NT-202 R10 - INEA), em grande parte atendendo a esse limite ou ligeiramente ultrapassando o mesmo. As concentrações de amônio efluentes para as faixas de cargas de N amoniacal aplicadas de 0 – 1 e 1 – 2 g NH₄⁺-N/(m².d) foram de 3,40 e 6,84 mg NH₄⁺-N/L para o R1 e de 4,75 e 9,72 para o R2, respectivamente. Para faixas de cargas superiores, pode-se empregar o *MBBR* como estratégia de remoção parcial de NH₄⁺-N visto a capacidade de abater de 30 a 50 % da carga aplicada ao sistema.

Abzazou *et al.* (2016) estudaram a capacidade de utilização de sistemas *MBBR* como pré tratamento de efluente oriundo da etapa de digestão de lodo biológico de ETE,

corrente com elevadas concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (em média 676 ± 195 mg/L), carga superficial de N amoniacal aplicada de aproximadamente $1,5$ g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ e baixa carga orgânica, objetivando a nitrificação parcial. O suporte K1 foi utilizado, o TRH aplicado foi de 42 h \pm 21 h e o OD próximo a 3 mg O_2/L . Em tais condições, devido à variabilidade na concentração de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ afluente, a remoção de NH_4^+ também apresentou considerável oscilação (119 a 1118 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$), contudo sempre com eficiências de remoção próximas a 50 %. Ressalta-se que o efluente gerado apresentava uma proporção $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ efluente de 1 , além de baixa conversão a NO_3^- , próxima a zero.

4.2 – Balanço de nitrogênio e influência das condições do sistema no processo nitrificante

Tendo como base os dois produtos principais da nitrificação convencional (NO_2^- e NO_3^-), foi realizado um balanço de espécies nitrogenadas em solução para cada um dos reatores. Ressalta-se que as pequenas quantidades de NO_2^- -N e NO_3^- -N afluentes foram negligenciadas no balanço realizado, uma vez que são oriundas de alguma nitrificação no canal de alimentação dos reatores (não há aporte dessas espécies no meio de alimentação). A Figura (4-4) apresenta os perfis de concentração das espécies nitrogenadas afluente e efluente aos reatores frente às variações de carga amoniacal aplicada.

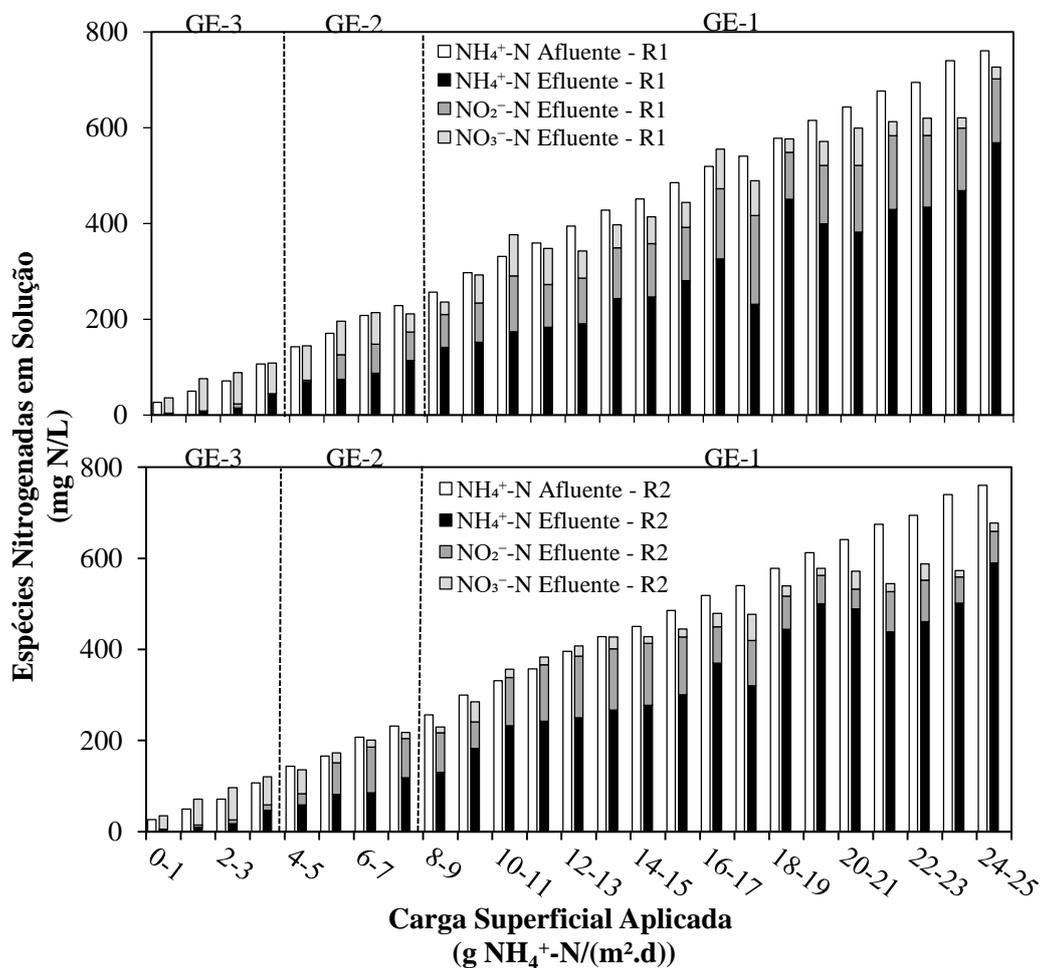


Figura 4-4: Balanço das espécies nitrogenadas solúveis afluente e efluente nos reatores R1 e R2.

Para o reator R1, durante o intervalo de cargas aplicadas de 0 – 1 a 4 – 5 g NH_4^+ -N/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$), pode-se observar as menores concentrações de N na forma de NO_2^- -N (0,2 a 8,7 mg NO_2^- -N/L) e predominância da espécie mais oxidada, o NO_3^- -N, com concentrações

de 32,0 a 72,0 mg NO_3^- -N/L. O mesmo perfil foi observado para o R2, contudo para o intervalo de cargas aplicadas de 0 – 1 a 3 – 4 g NH_4^+ -N/(m².d), apresentando concentrações de NO_2^- -N na faixa de 1,1 a 18,9 mg NO_2^- -N/L e com o NO_3^- -N como espécie nitrogenada oxidada predominante (29,3 a 62,0 mg NO_3^- -N/L). Para esses intervalos de cargas nitrogenadas, a maior parte do N amoniacal removido foi convertido a NO_3^- , ou seja, ocorreu o processo de nitrificação completa.

Bassin *et al.* (2016) operaram dois *MBBR*, um preenchido com suporte Kaldnes K1 e outro com o Mutag Biochip, nas condições de mesma área superficial (0,25 m²), carga orgânica superficial (12,8 g DQO/(m².d)), carga amoniacal superficial aplicada de 1,6 g NH_4^+ -N/(m².d)), concentração de NH_4^+ -N afluente (50 mg NH_4^+ -N/L) e TRH (3 h). Os autores reportaram concentrações efluentes de NO_3^- -N de 10 e 25 mg NO_3^- -N/L para cada reator, respectivamente. Esses valores são inferiores aos obtidos nos ensaios com biomassa autotrófica do presente trabalho para a faixa aplicada de 1 – 2 g NH_4^+ -N/(m².d): 67 mg NO_3^- -N/L para o R1 e 56 mg NO_3^- -N/L para o R2. Essa diferença pode estar relacionada à ocorrência do processo de desnitrificação simultânea, que ocorre quando o sistema opera em presença de matéria orgânica biodegradável.

De maneira geral, nos intervalos de cargas subsequentes, foi constatado o acúmulo de NO_2^- -N em ambos os reatores, indicando a ocorrência de nitrificação parcial. De maneira geral, para o R1, houve incremento da concentração de NO_2^- -N no sistema em função do aumento da carga superficial de NH_4^+ -N aplicada até a faixa de 17 – 18 g NH_4^+ -N/(m².d), enquanto que para faixas maiores, houve a ligeira redução na concentração de NO_2^- efluente. Quanto ao R2, a tendência de acréscimo no acúmulo de nitrito se evidencia até a faixa de 15 – 16 g NH_4^+ -N/(m².d). Para faixas mais elevadas, uma redução na concentração de NO_2^- -N foi observada nesse reator, fato consonante à hipótese de maior suscetibilidade do biofilme mais fino aos efeitos inibitórios ocorridos em cargas mais elevadas de N amoniacal que influenciaram, também, na própria remoção desse substrato devido à maior presença de NH_3 livre (ainda a ser abordado), que é inibidora tanto do processo de nitrificação como de nitratação.

Mais especificamente, durante os intervalos de cargas amoniacais aplicadas de 5 – 6 a 8 – 9 g NH_4^+ -N/(m².d), o reator R1 apresentou concentrações de NO_2^- -N na faixa de 50 a 70 mg NO_2^- -N/L, enquanto no R2, as concentrações médias de NO_2^- -N estavam na faixa de 70 a 100 mg NO_2^- -N/L. Os teores de NO_3^- -N para esse intervalo de cargas foram inferiores aos dos intervalos anteriores, decrescendo de 65 para 29 mg NO_3^- -N/L para o R1 e de 21 para 12 mg NO_3^- -N/L no R2. No intervalo de cargas de 9 – 10 a 17 – 18 g

$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, há o aumento expressivo da concentração de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ no R1, que variou de 82 até 186 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$ e a concentração de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ aumentou de 52 até 72 mg de $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$. Para o reator R2, nas faixas de carga aplicada de 9 – 10 a 15 – 16 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, a concentração de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ variou de forma crescente entre 58 e 130 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$ e a concentração de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ se manteve decrescente, situando-se entre 44 e 17 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$.

Nas faixas de carga superiores a 18 – 19 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, o R1 apresentou sensível redução da concentração de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ efluente, a qual oscilou entre 100 e 135 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$. A concentração de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ aumentou nas faixas aplicadas de 18 – 19 e 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, porém ao se aumentar a carga progressivamente até 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, foi observada a redução da concentração dessa espécie de 40 até 26 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$. Para o R2, nas mesmas faixas aplicadas, a concentração de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ decresceu de 100 para 60 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$ e a de NO_3^- oscilou na faixa de 40 a 18 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$.

Fux *et al.* (2004) estudaram a ocorrência de nitrificação parcial através da variação de carga superficial amoniacal em sistemas *MBBR* preenchidos com suportes K1, em escala de laboratório. Com biofilme autotrófico, teores de OD próximos a 3 mg O_2/L e variando a carga aplicada entre 1,9 e 11,3 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ (800 a 2000 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$ em termos de concentração), observaram que, em média, 50 % do N amoniacal foi removido e convertido a $\text{NO}_2^-\text{-N}$, com teores negligenciáveis de $\text{NO}_3^-\text{-N}$. O aumento dos teores de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ somente passaram a possuir relevância após onze meses de operação do sistema em cargas elevadas, alcançando valores de aproximadamente 25 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$, provavelmente devido a uma adaptação de parte da comunidade bacteriana responsável pela nitratação. Esses resultados corroboram com o acúmulo de NO_2^- notificado para ambos reatores estudados.

Em RBS piloto que realizava nitrificação-*anammox* com lodo granular, operando com teores de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ de aproximadamente 180 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$, TRH de 3 h, baixo OD e teor de matéria orgânica, Visigalli *et al.* (2020) obtiveram remoção de N amoniacal de 40 %, porém, tipicamente obtiveram teores de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ de 30 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$ sem acúmulo de NO_2^- . A concentração de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ foi próxima da observada para a faixa de 5 – 6 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ no reator R2 (22 mg $\text{NO}_3^-\text{-N}/\text{L}$), contudo, nessa condição, houve elevado acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$, em torno de 70 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$.

A Figura (4-5 a) apresenta o comparativo entre a fração de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ efluente e o total de produtos nitrogenados oxidados efluentes ($\text{NO}_x^-\text{-N} = \text{NO}_2^-\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$) para os reatores R1 e R2. Por sua vez, a Figura (4-5 b) mostra a relação entre o $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e NO_3^-

N efluente e a carga de nitrogênio amoniacal removida ($\text{NO}_x^- \text{-N} / \text{NH}_4^+ \text{-N}_{\text{removido}}$) nos sistemas, de modo a compreender a dinâmica da nitrificação bem como a relação entre as espécies nitrogenadas oxidadas geradas e a quantidade de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ consumido. Na Figura (7-2) do Anexo (a) é possível verificar, também, as frações de compostos nitrogenados efluente (NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^-) frente ao NT efluente para aos dois reatores.

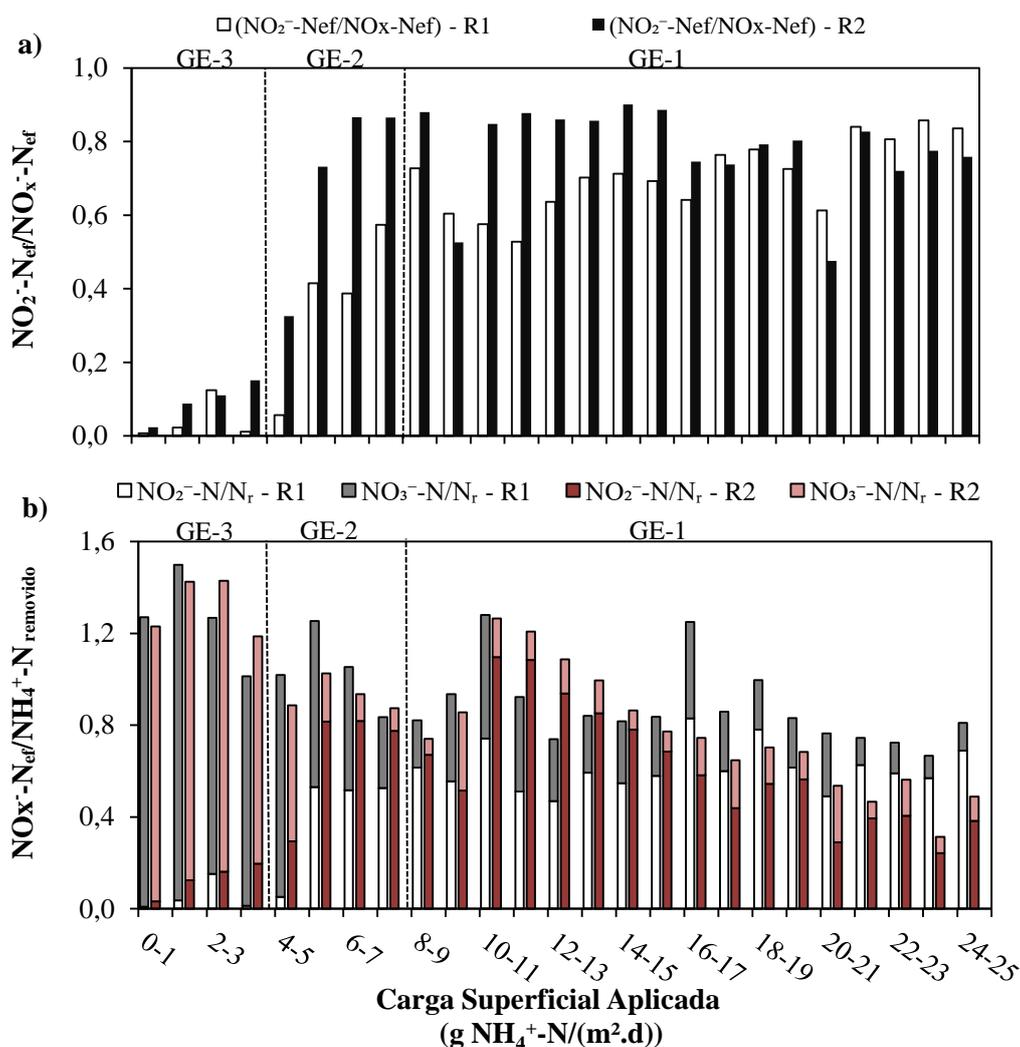


Figura 4-5: a) Relação entre $\text{NO}_2^- \text{-N}$ efluente e $\text{NO}_x^- \text{-N}$ efluente e b) Razão entre os produtos nitrogenados oxidados ($\text{NO}_2^- \text{-N}$ e $\text{NO}_3^- \text{-N}$) por $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ removido. N_r indica o nitrogênio amoniacal removido.

Em baixas cargas aplicadas (0 – 1 e 1 – 2 g $\text{NH}_4^+ \text{-N} / (\text{m}^2 \cdot \text{d})$) observou-se, predominantemente, o processo de nitrificação completa, sendo que o reator R1 apresentou maior capacidade de manter a atividade das BON no sistema. Além disso, a menor quantidade de substrato alimentada aos reatores nesses regimes de baixa carga, associada à pequena parcela de biomassa aderida que foi desprendida nessas condições, podem ter favorecido a lise celular de parte dos organismos suspensos nos reatores. Esse

rompimento celular promoveu a liberação de N no meio, o que pode justificar a ocorrência de maiores teores de produtos oxidados oriundos da nitrificação em relação ao $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removido.

Durante as faixas de carga de 3 – 4 até 14 – 15 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, houve o incremento das frações de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_x^-\text{-N}_{\text{ef}}$ nos dois reatores (Fig. 4-5 a)). Tais incrementos foram inferiores para o R1, indicando maior quantidade de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ e, conseqüentemente, maior capacidade de nitratação desse sistema. A maior proteção da comunidade nitratante a agentes inibitórios externos devido à maior espessura do biofilme no R1 é uma hipótese para o menor acúmulo de nitrito nesse reator.

Em faixas mais elevadas (16 – 17 a 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$), o acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ frente ao somatório de formas oxidadas se torna semelhante nos dois sistemas. Contudo, menores frações do $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removido foram convertidas a $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e $\text{NO}_3^-\text{-N}$, de 70 a 40 % para o R1 e de 60 a 30 % para o R2. É válido mencionar que uma pequena parcela do N amoniacal pode ter sido assimilada pelos organismos heterotróficos, que crescem através do consumo da matéria orgânica proveniente do decaimento dos organismos autotróficos. Além disso, há emissão de outros subprodutos nitrogenados gasosos, como por exemplo o NO e o N_2O . Esses fatores podem ter sido responsáveis pela diferença entre o N amoniacal removido e o N oxidado ($\text{NO}_x^-\text{-N}$) mensurado na saída do reatores (ALI *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2017).

No que se refere às menores frações de $\text{NO}_x/\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{removido}}$ obtidas para as cargas aplicadas mais elevadas, existe a hipótese de remoção de N através do processo de *air stripping*, pelo qual uma fração da NH_3 livre dissolvida foi carregada para a atmosfera pela aeração forçada que ocorria nos reatores (METCALF e EDDY, 1995).

Kim *et al.* (2003), ao estudarem a remoção de N em reatores do tipo *air lift*, também observaram acúmulo de NO_2^- quando o sistema foi operado em concentrações de N amoniacal afluyente na faixa de 300 a 750 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$ e carga volumétrica de 1,5 a 3,5 kg N/ $(\text{m}^3.\text{d})$. Para esse estudo, a relação de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_x\text{-ef}$ foi, em média, de 90 % quando operado em teor de OD em torno de 1,5 mg O_2/L e teores de NH_3 livre próximos a 30 mg $\text{NH}_3\text{-N}/\text{L}$. O aumento do OD para 3,5 mg O_2/L decresceu essa fração para níveis próximos a 0 em 40 dias de operação, o que ocorreu em consonância com a redução do teor de NH_3 livre do sistema.

A ação de substâncias inibidoras pode ser um dos fatores para a modificação no desempenho da remoção de N amoniacal e ocorrência da nitrificação completa. Dentre esses compostos, a ação do NH_3 livre pode ser um fator chave para a regulação do

processo nitrificante. O acúmulo de substrato amoniacal, de NO_2^- e de HNO_2 , a maior taxa de oxidação de NH_4^+ frente ao NO_2^- em temperaturas elevadas e o baixo teor de OD também podem ser considerados como influenciadores da nitratação (KIM *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2010).

Dessa forma, para compreender a dinâmica dos inibidores NH_3 livre e HNO_2 , a Figura (4-6) apresenta a concentração desses compostos, além das variações dos pH dos reatores e da entrada (afluente) ao longo dos regimes, variando a carga aplicada.

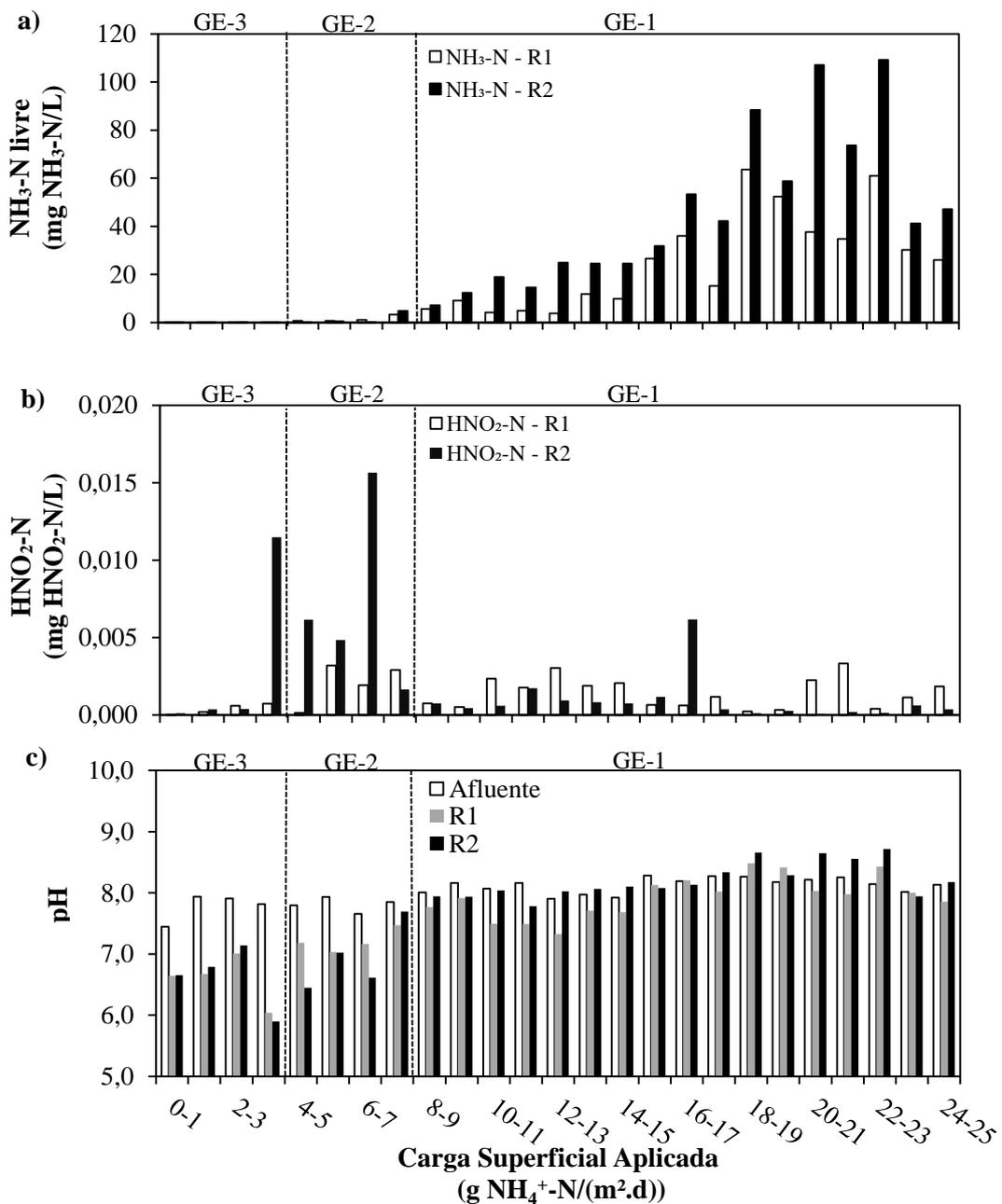


Figura 4-6: Perfis estimados de a) $\text{NH}_3\text{-N}$ livre, b) $\text{HNO}_2\text{-N}$ e c) pH para os reatores R1 e R2.

Durante os regimes com baixas cargas de N amoniacal aplicadas, os dois reatores apresentaram baixas concentrações de amônia livre, inferiores a 5 mg NH₃-N/L. O aumento progressivo dos teores desse composto foi observado a partir da faixa de 8 – 9 até 22 – 23 g NH₄⁺-N/(m².d), alcançando valores máximos de 61 e 110 mg NH₃-N/L para os reatores R1 e R2, respectivamente. Ressalta-se que, para essas faixas, as concentrações de NH₄⁺-N afluyente variaram de 265 a 695 mg NH₄⁺-N/L.

Para o intervalo de 23 – 24 e 24 – 25 g NH₄⁺-N/(m².d), há uma redução substancial dos teores de NH₃ livre, variando de 30 a 26 e 41 a 48 mg NH₃-N/L para o R1 e R2, respectivamente. Para essas faixas, os valores de pH nos reatores foram menores que os das etapas subsequentes, o que incide em menor concentração de NH₃ livre nos sistemas.

Conforme apresentado por Liu e colaboradores (2019), maiores teores de amônia livre podem afetar mais as BON, responsáveis pela nitratação em sistemas nitrificantes. Segundo o mesmo autor, o controle do teor desse inibidor pode ser um importante parâmetro para o bom funcionamento de reatores nitrificantes autotróficos que objetivam a nitrificação parcial. Foi reportado por Anthonisen *et al.* (1976) que faixas de 10 a 150 mg NH₃-N/L são potenciais inibidoras das BOA, enquanto que para as BON esses valores são ainda menores, na faixa de 0,1 a 10 mg NH₃-N/L (VLAEMINCK *et al.*, 2009; BELMONTE *et al.*, 2017).

Sendo assim, a remoção de N amoniacal pode ter sido governada pelos crescentes teores de NH₃ livre nos dois reatores. De fato, a redução da atividade metabólica das BOA foi mais pronunciada para o R2, no qual maiores teores de NH₃-N foram observados. Além disso, os elevados teores de NH₃ livre estiveram diretamente relacionados com o acúmulo de nitrito, confirmando a maior sensibilidade dos BON a esse potencial inibidor. Para o R1, em concentrações abaixo de 0,10 mg NH₃-N/L, a fração de NO₂⁻-N acumulada se encontrava com o valor máximo equivalente a 10 % do total de N oxidado (NO_x⁻-N_{ef}) do sistema. Para valores de NH₃-N próximos a 9,1 mg NH₃-N/L, a fração de NO₂⁻-N aumentou para, em média, 65 % do N oxidado, e para teores de 61 mg NH₃-N/L, obtido nas cargas aplicadas de 22 – 23 g NH₄⁺-N/(m².d), a fração de NO₂⁻-N/NO_x⁻-N_{ef} aumentou para 81%.

O reator R2 se mostrou ainda mais sensível ao aumento dos teores de NH₃ livre, sendo que a concentração de 4,8 mg NH₃-N/L levou a uma razão NO₂⁻-N/ NO_x⁻-N_{ef} de 87 %. O aumento do teor de NH₃ livre para valores entre 60 e 100 mg NH₃-N/L no R2 não acarretou em aumento da fração de NO₂⁻-N em relação ao N oxidado, mantida em valores superiores a 70 %, para as faixas de cargas aplicadas superiores a 11 – 12 g NH₄⁺-

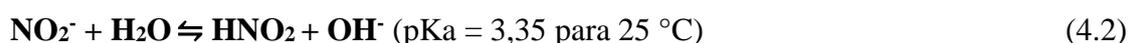
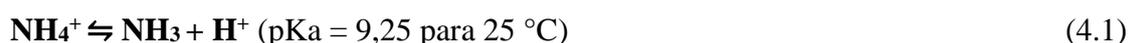
N/(m².d). Contudo, houve maior quantidade (em termos mássicos) de produtos nitrogenados oxidados se comparadas essas faixas à faixa de 7 – 8 g NH₄⁺-N/(m².d), para as quais o teor de NH₃ livre foi de 4,8 mg NH₃-N/L. Esse resultado revela uma adaptação dos organismos à amônia livre conforme o sistema foi submetido a maiores cargas aplicadas. A diferença na sensibilidade observada entre os reatores pode estar associada às características do biofilme. Para um biofilme mais fino, como observado no R2, ocorria maior exposição ao agente inibidor, e por consequência, a microbiota responsável pela nitratação, mais sensível à NH₃, foi mais afetada.

Ao estudar um RBS alimentado com uma corrente cuja concentração de amônia livre era de 210 mg NH₃-N/L, Wang e colaboradores (2017c) também observaram maior sensibilidade das BON frente às BOA quando expostas a elevadas concentrações desse inibidor. A pesquisa foi realizada com biomassa suspensa e em um dia de exposição à NH₃ livre, o sistema perdeu aproximadamente 50 % da eficiência de remoção de NH₄⁺-N, além da conversão de NO₂⁻ a NO₃⁻ ter cessado, ou seja, ocorria somente a nitrificação parcial.

A capacidade biocida de elevadas concentrações de NH₃ livre também deve ser mencionada. Em altas cargas de NH₄⁺-N aplicadas (16 – 17 a 24 – 25 g NH₄⁺-N/(m².d)), maiores teores de NH₃ livre foram quantificados, e nessas faixas, também haviam menores frações dos compostos nitrogenados oxidados em relação ao NH₄⁺-N removido. Tal fato foi mais explícito para o reator R2, com concentrações de NH₃ livre na faixa de 60 a 100 mg NH₃-N/L, corroborando a hipótese de influência do inibidor no processo nitrificante de forma geral. Essa inibição é, então, um fator a ser considerado para o entendimento da perda de N solúvel do sistema, ocorrida em outra parte pelo processo de *air stripping*. Essas condições levaram a menores frações de N oxidado/NH₄⁺-N removido em condições de maior carga amoniacal aplicada.

Ambos os sistemas apresentaram concentrações bastante reduzidas de HNO₂, tanto nas menores faixas de cargas amoniacais aplicadas, quanto nas mais elevadas. Contudo, para faixas de 3 – 4 a 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d), o reator R2 apresentou teores de ácido nitroso entre 0,01 e 0,02 mg HNO₂-N/L, faixa de concentração próxima àquela reportada como a mínima responsável pela inibição de BON, isto é, de 0,011 a 0,07 mg HNO₂-N/L (ZHOU *et al.*, 2011). Nessas faixas, a contribuição inibitória do ácido nitroso pode ter sido uma das razões pelo aumento da fração de NO₂⁻ em relação aos produtos oxidados totais, uma vez que as concentrações de NH₃ livre, outro inibidor da nitrificação, foram menores.

A diferente dinâmica dos valores de pH entre os grupos de ensaios estudados regula a presença dos inibidores de nitrificação citados anteriormente. O mesmo esgoto sintético era alimentado aos reatores, sempre mantendo a relação N/alcalinidade necessária para a ocorrência da nitrificação. A manutenção do afluente em baixas temperaturas minimizou a biodegradação e possíveis alterações do pH afluente ao reator. Em valores de pH superiores a 7,5, a presença de NH₃ livre em equilíbrio com o NH₄⁺ ainda é inferior a 10 % do nitrogênio amoniacal total, contudo quando se trabalha com altas concentrações de amônio afluente, essa parcela de NH₃-N livre pode representar concentrações próximas aos limites inibitórios do processo nitrificante. Além disso, em pH inferiores a 6,5, uma pequena fração do NO₂⁻ acumulado está na forma protonada (HNO₂), o que também pode conferir teores de ácido nitroso nocivos ao sistema. As equações químicas de equilíbrio dos compostos são apresentadas nas Equações (4.1 e 4.2) (HELLINGA *et al.*, 1998; LAW *et al.* 2011).



Para as menores cargas aplicadas (GE-3 e GE2), foi possível verificar a redução de pH nos efluentes de ambos os reatores, ocorrida devido ao consumo do HCO₃⁻ disponível pelos organismos nitrificantes. Os valores de pH na faixas de 5,5 e 6,5 durante as cargas aplicadas de 3 – 4 a 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d) (GE3 e GE-2, respectivamente) justificam a ocorrência de HNO₂ e, por consequência, contribuíram para a inibição de parte das BON.

Ao se realizar o acréscimo das cargas de nitrogênio amoniacal, foi observado o aumento do pH e, também, maiores teores de NH₃ livre nos sistemas. Em especial para o reator R2, a partir da carga aplicada de 17 – 18 g NH₄⁺-N/(m².d), foi possível observar pouca variação no pH ou até mesmo o aumento desse quando se comparou o valor do afluente ao do efluente, mesmo ocorrendo a nitritação parcial, que acarretou no consumo de alcalinidade do meio devido à conversão do NH₄⁺ a NO₂⁻. Esse aumento de pH pode estar relacionado à elevada concentração de HCO₃⁻ remanescente, que estaria em níveis superiores aos exigidos pelo processo nitrificante, mantendo o sistema tamponado. Dessa forma, mesmo havendo maiores remoções de N amoniacal, as quantidades de N amoniacal e de HCO₃⁻ remanescentes também foram maiores, o que pode ter influenciado no tamponamento do sistema.

Para verificação dessa hipótese, foi realizado um teste de acompanhamento da variação dos valores de pH do afluente e dos efluentes aos reatores R1 e R2. Para uma faixa de operação em que o pH efluente foi superior ao da alimentação, foram retiradas amostras (afluentes e efluentes) que foram filtradas em membrana estéril (0,22 μm) e posteriormente aeradas por 35 minutos com o mesmo ar comprimido utilizado nos ensaios contínuos. Assim garantiu-se mistura similar à dos reatores, porém sem microrganismos no meio. Nesse ensaio, ao longo do tempo de teste, foi possível observar o aumento do pH para as amostras de efluentes dos reatores, enquanto que o pH do afluente não se alterou.

Possivelmente esse resultado esteja relacionado à dinâmica de equilíbrio químico de compostos do sistema. Especula-se que o excesso de HCO_3^- presente no meio possa, em parte, ter sido convertido com o CO_2 e que também ocorra o aumento do pH em função da maior quantidade de NH_3 livre formada, que está em equilíbrio dinâmico no sistema (parte arrastada para atmosfera e parte sendo formada pelo deslocamento de equilíbrio dos íons amônio em excesso). Os perfis dos pH obtidos para esse teste, bem como a dinâmica de NH_3 livre e pH para os dois reatores durante os regimes contínuos de operação podem ser consultados no Anexo (a), Figura (7-3) e (7-4).

Kim *et al.* (2006) confirmaram o efeito inibitório da amônia livre em reatores do tipo *air lift* com biomassa aderida que tratavam efluentes com elevados teores de N em diferentes temperaturas. Na concentração de 0,7 mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$, a capacidade de nitratação das BON foi reduzida em 50 %, além disso, o aumento do pH em concentrações elevadas de N amoniacal aumentou os teores de NH_3 livre no reator, reduzindo ainda mais a nitratação. Esse mesmo reator, quando operado em temperaturas de aproximadamente 28 °C e após um choque de carga de substrato, apresentou decréscimo na atividade das BON. Após longo período de adaptação seguida de ajustes de pH, houve a redução dos teores de NH_3 livre e aumento na taxa de nitrificação quando comparada às condições de baixas temperaturas.

Ressalta-se que, no presente estudo, os reatores eram mantidos a temperatura ambiente, com valor médio de 25 °C \pm 3 °C, temperatura favorável para a atividade nitrificante. Sendo assim, as variações de pH e NH_3 livre foram então, preponderantes pelo acúmulo de NH_4^+ e de NO_2^- observados a partir do GE-2.

4.3 – Óxido nitroso

4.3.1 – Fluxos de emissão e variáveis envolvidas na emissão de N₂O

Após avaliar a capacidade nitrificante de sistemas *MBBR* autotróficos submetidos às variações de cargas nitrogenadas e preenchidos com diferentes suportes, foi avaliada a emissão de N₂O em cada condição operacional.

Tomando como premissa a aeração forçada e contínua fornecida aos dois reatores, acredita-se que a fração dissolvida de N₂O no meio líquido tenha sido pequena, tal como observado por Chai *et al.* (2019). Esses autores reportaram que a emissão de N₂O na fase aeróbia em um *SBBR* era muito superior àquela na fase anóxica, não aerada, devido ao arraste forçado da fração dissolvida no líquido.

A Figura (4-7) apresenta os fluxos médios de emissão de N₂O-N, em g N₂O-N/(m².d), para as faixas médias de cargas amoniacais aplicadas. A análise estatística com os resultados de p-valores é apresentada nas Tabelas (7-4) a (7-6) do Anexo (b).

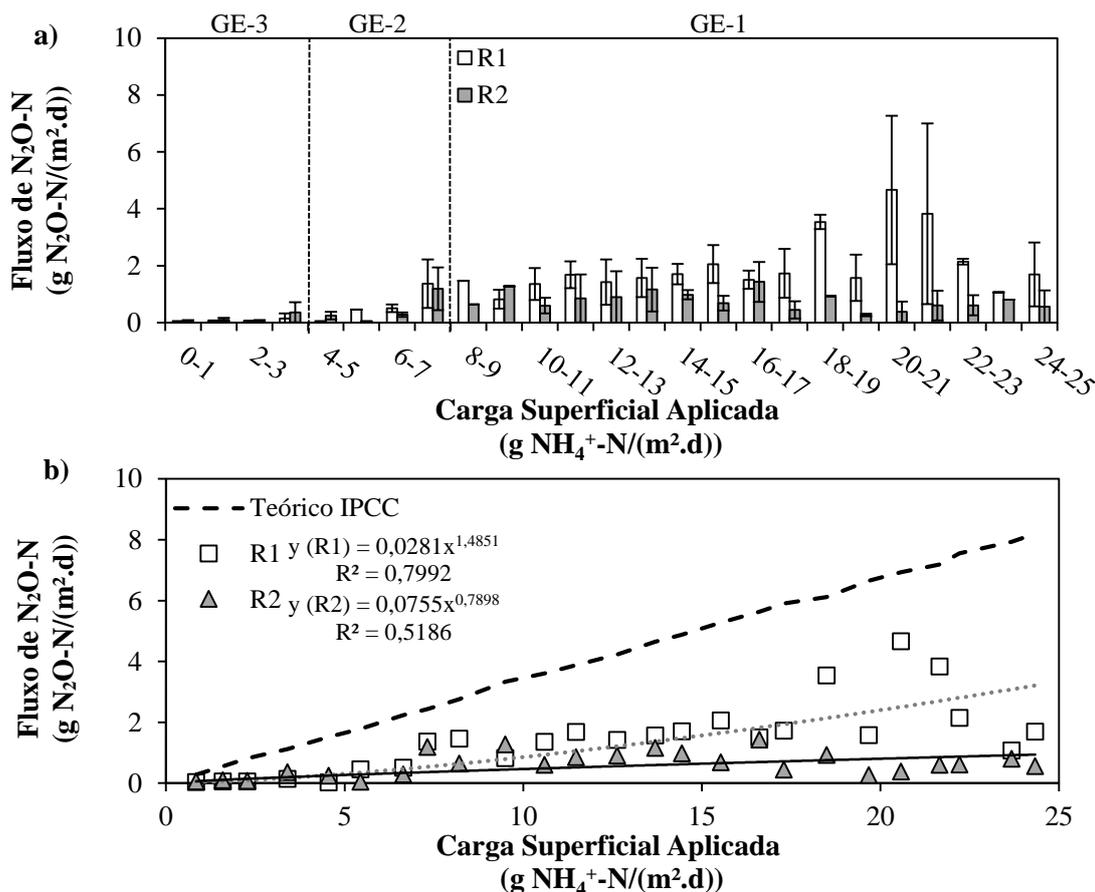


Figura 4-7: (a) Fluxos médios de N_2O-N , em $g N_2O-N/(m^2.d)$ e (b) Fluxos médios de N_2O-N com tendências ajustadas com ajuste exponencial. A curva cinza pontilhada é referente ao R1, a curva preta contínua se refere ao R2 e a curva preta pontilhada ilustra os fluxos de N_2O-N teóricos de acordo com FE médio proposto pelo IPCC 2019 para sistemas de tratamento centralizados e com remoção intencional de N (FE IPCC = 1,6 %).

Para os ensaios em baixas e médias cargas de N amoniacal aplicadas, os fluxos de emissão de N_2O-N em ambos os sistemas foram pequenos e similares entre si. Durante o intervalo de cargas aplicadas de 0 – 1 até o de 6 – 7 $g NH_4^+-N/(m^2.d)$, os fluxos médios se mantiveram na faixa de $0,037 \pm 0,018$ até $0,510 \pm 0,135$ $g N_2O-N/(m^2.d)$ para o reator R1, com pequeno crescimento do fluxo de N_2O com o aumento da carga aplicada. Já para o reator R2, nas mesmas faixas de cargas aplicadas, os valores foram de $0,055 \pm 0,035$ até $0,238 \pm 0,079$ $g N_2O-N/(m^2.d)$.

Ao se estudar a remoção de N em estação de tratamento de efluentes de escala real, Duan e colaboradores (2020) observaram fluxos de emissão médios variando entre 0,5 e 1,5 $g N_2O-N/(m^2.d)$. Foram estudados três RBS com biomassa suspensa que realizavam a remoção simultânea de matéria orgânica, nitrificação e desnitrificação em baixas concentrações de N amoniacal aplicadas (40 $mg NH_4^+-N/L$). Os valores foram superiores ao do presente estudo, devido, possivelmente, à presença de matéria orgânica

e a ocorrência do fenômeno de desnitrificação na etapa anóxica, uma vez que não havia acúmulo considerável de NO_2^- e NO_3^- no efluente tratado. Para um sistema *UCT-IFAS MBR* (*University of Cape Town - Integrated fixed-film activated sludge –Membrane Bioreactor*), com um *MBBR* como reator aeróbio que operava em carga nitrogenada próxima a $0,7 \text{ g N}/(\text{m}^2.\text{d})$, estudado por Mannina *et al.* (2017c), o fluxo médio no reator aeróbio foi de $0,074 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, valor mais próximo do obtido nessa pesquisa.

Com o aumento progressivo das cargas de N amoniacal, nas faixas de 8 – 9 até 17 – 18 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, o fluxo de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para o reator R1 se manteve sem variações significativas. Os valores de fluxo foram de $1,371 \pm 0,854$ a $1,729 \pm 0,859 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, atingindo o maior valor para esse intervalo ($2,058 \pm 0,668 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) para a faixa de carga aplicada de 15 – 16 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

Em faixas acima de 17 – 18 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, foi verificado um perfil mais oscilatório, para o fluxo de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ no R1. O sistema atingiu a maior emissão média observada, $4,865 \pm 2,609 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, na faixa de carga aplicada de 20 – 21 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, e o fluxo de emissão reduziu significativamente ($p < 0,05$) com o subsequente aumento da carga amoniacal aplicada, atingindo valores próximos aos observados nas faixas de 15 – 16 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. É importante ressaltar que os maiores valores de desvio padrão amostral observados para as faixas de carga aplicadas mais elevadas podem estar relacionados às maiores instabilidades de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ observadas nessas condições.

Para o reator R2, a partir do intervalo de 8 – 9 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, o aumento da carga superficial amoniacal aplicada não influenciou muito nos fluxos de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$. Na Figura (4-7 b) observa-se que, para esse reator, o ajuste exponencial realizado apresentou coeficiente de determinação inferior ao apresentado pelo reator R1 (para o R1, o coeficiente (r^2) foi de 0,80 enquanto que para o R2 foi de 0,52). Com o aumento gradual da carga, esse reator atingiu o maior fluxo observado, isto é, $1,431 \pm 0,701 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, para a faixa de carga aplicada de 16 – 17 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

Nas faixas de cargas aplicadas superiores às anteriormente citadas, houve pequena redução dos valores dos fluxos de $\text{N}_2\text{O-N}$ emitidos, cujos valores oscilaram bastante, tal como observado no reator R1. Para a faixa de 17 – 18 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, o fluxo foi de $0,450 \pm 0,302 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e para a de 23 – 24 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, de $0,803 \pm 0,001 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. Esses valores de fluxo são superiores ao valor de $0,024 \text{ g N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ obtido por Todt e Dörsch (2015) durante a operação de sistema *MBBR* em dois estágios

com concentrações de N amoniacal em torno de 1000 mg N/L, porém com carga aplicada de 4,4 g NH₄⁺-N/(m².d).

A emissão de N₂O na etapa aeróbia da remoção de N ocorre durante a oxidação da NH₄⁺ a NO₂⁻ devido à degradação biológica e/ou química do intermediário NH₂OH (WRAGE *et al.*, 2001; ALI *et al.*, 2014). Quando existe limitação de O₂, combinada a baixas cargas orgânicas e elevados teores de N, outro processo também pode ser responsável pela emissão de N₂O nesses sistemas, a desnitrificação autotrófica. Por meio desta, as BOA são capazes de obter energia através da redução de NO₂⁻ (acceptor de elétrons) a N₂O, utilizando a NH₃, o H₂ ou formas sulfuradas como doadores de elétrons (POTH and FOCHT, 1985). Essa segunda via pode ser a responsável pela contribuição majoritária na emissão de N₂O, a depender das condições de OD.

As mudanças significativas nos fluxos de emissão, para o R1, ocorreram em certas faixas de carga aplicada. A primeira grande variação ocorreu no intervalo de carga de N amoniacal aplicada de 5 – 6 g NH₄⁺-N/(m².d), para o qual foi verificado o aumento no fluxo de emissão de 0,026 ± 0,025 g N₂O-N/(m².d) para 0,0458 ± 0,025 g N₂O-N/(m².d). A partir dessa faixa, uma mudança significativa só foi verificada para a carga aplicada de 23 – 24 g NH₄⁺-N/(m².d), em que fluxo de emissão decresceu de 2,145 ± 0,103 g N₂O-N/(m².d) na faixa anterior para 1,070 ± 0,001 g N₂O-N/(m².d) nessa faixa.

Realizando um comparativo análogo para o R2, pode-se observar que a primeira modificação significativa do fluxo de N₂O-N emitido foi observada somente no intervalo de 9 – 10 g NH₄⁺-N/(m².d), aumentando de 0,644 ± 0,001 g N₂O-N/(m².d) para 1,277 ± 0,001 g N₂O-N/(m².d). Na faixa de 19 – 20 g NH₄⁺-N/(m².d), houve um decréscimo significativo no fluxo, que passou de 0,932 ± 0,008 g N₂O-N/(m².d) para 0,269 ± 0,043 g N₂O-N/(m².d).

A diferença entre os fluxos dos reatores é estatisticamente verificada pela primeira vez na faixa de 14 – 15 g NH₄⁺-N/(m².d), em que o fluxo para o R1, 1,705 ± 0,375 g N₂O-N/(m².d), foi superior ao do R2: 0,981 ± 0,160 g N₂O-N/(m².d). Quando as cargas de N amoniacal aplicadas foram ainda mais elevadas, as diferenças entre os fluxos de emissão de N₂O-N de cada reator foram pronunciadas. O reator R1 apresentava fluxo de emissão superior ao R2 para as faixas de 18 – 19, 19 – 20, 22 – 23 e 23 – 24 g NH₄⁺-N/(m².d).

A diferença entre os fluxos de emissão de N₂O-N, assim como a emissão de N₂O-N para os sistemas *MBBR*, pode estar relacionada às suas distintas capacidades de remoção de N amoniacal, às diferentes formas de resposta aos inibidores presentes (excesso de substrato, NH₃ livre e acúmulo de NO₂⁻) e ao comportamento distinto dos

fluxos co-difusionais dos componentes químicos no interior do biofilme, cujas propriedades estiveram relacionadas com o suporte utilizado em cada reator (SABBA *et al.*, 2015). Além disso, a incerteza associada à técnica utilizada para a amostragem de gás para a quantificação de N_2O acarreta em maiores desvios. A realização de um maior quantitativo de amostragens poderia refinar mais as tendências de emissão observadas e as diferenças significativas entre as faixas.

As Figuras (4-8) e (4-9) apresentam, respectivamente, a emissão de N_2O -N frente à carga de N amoniacal removida e à concentração de NH_4^+ -N efluente (quantidade de substrato de N amoniacal remanescente no meio líquido) para cada faixa de carga amoniacal aplicada. No Anexo (b), Figura (7-5), é apresentada a relação entre a emissão em termos de CO_2 equivalente associada às referidas emissões de N_2O para cada carga nitrogenada testada, conferindo a contribuição da emissão de cada reator em termos de pegada de carbono dos sistemas.

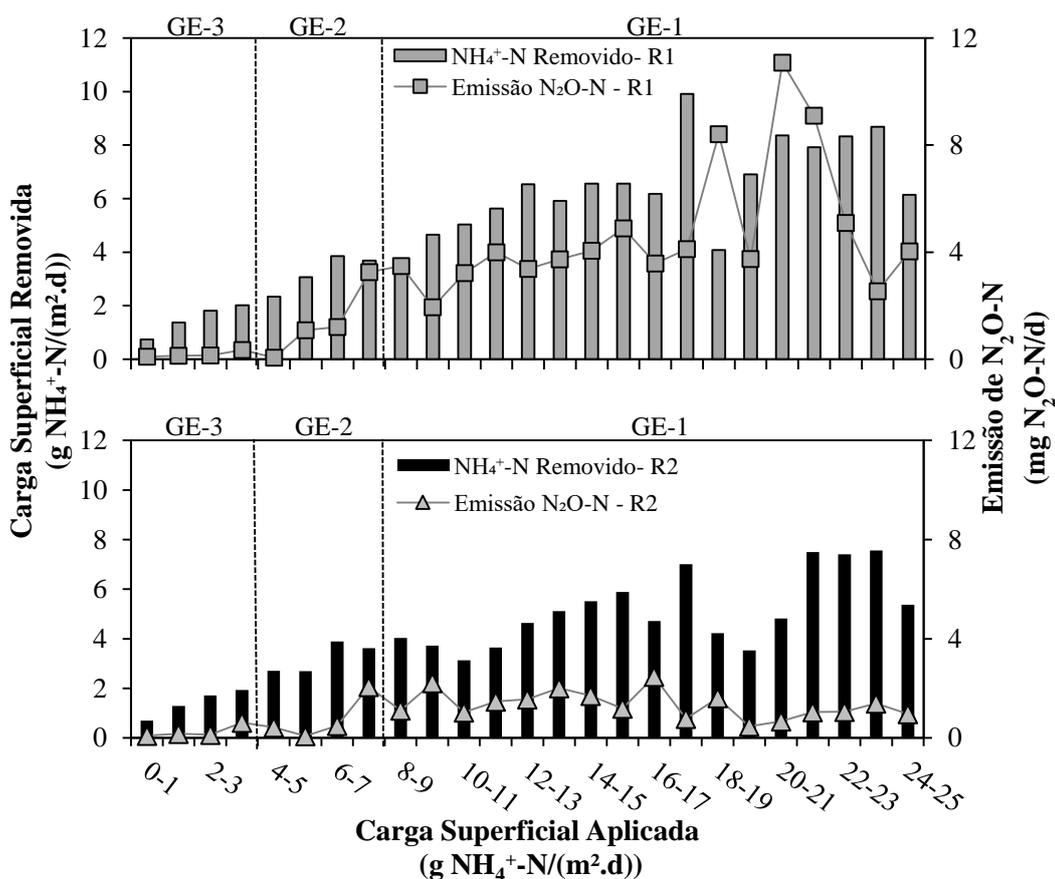


Figura 4-8: Perfis de carga de N amoniacal removida e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

Com o aumento das cargas de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas, houve um incremento das cargas de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removidas. Pode-se observar que, para o R1, o acréscimo na remoção de N amoniacal foi consonante com a tendência de aumento das emissões de $\text{N}_2\text{O-N}$, ou seja, em maiores quantidades de N amoniacal nitrificado foram observados maiores valores de taxa de emissão de N_2O . Essa tendência só não se mostra válida a partir da faixa de 22 – 23 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, em que a emissão cai de 9,08 mg $\text{N}_2\text{O-N}/\text{d}$ (para a faixa de 21 – 22 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) para 5,1 mg $\text{N}_2\text{O-N}/\text{d}$.

Para o R2, a relação entre o aumento da carga de N amoniacal removida e da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ se comportou de forma distinta à observada para o R1. Houve o aumento na emissão com o aumento da carga removida na faixa de 7 – 8 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, contudo, ao se aumentar a carga aplicada, a remoção de N amoniacal continuou aumentando e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ permaneceu com pouca variação, aumentando pouco na carga de 16 – 17 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, alcançando 2,48 mg $\text{N}_2\text{O-N}/\text{d}$ e em seguida reduzindo para 0,781 mg $\text{N}_2\text{O-N}/\text{d}$. A diferença de emissão entre os dois reatores reforça que outros parâmetros, como por exemplo a conformação do biofilme e a ação dos inibidores, podem influenciar na produção e emissão N_2O em sistemas com biofilme.

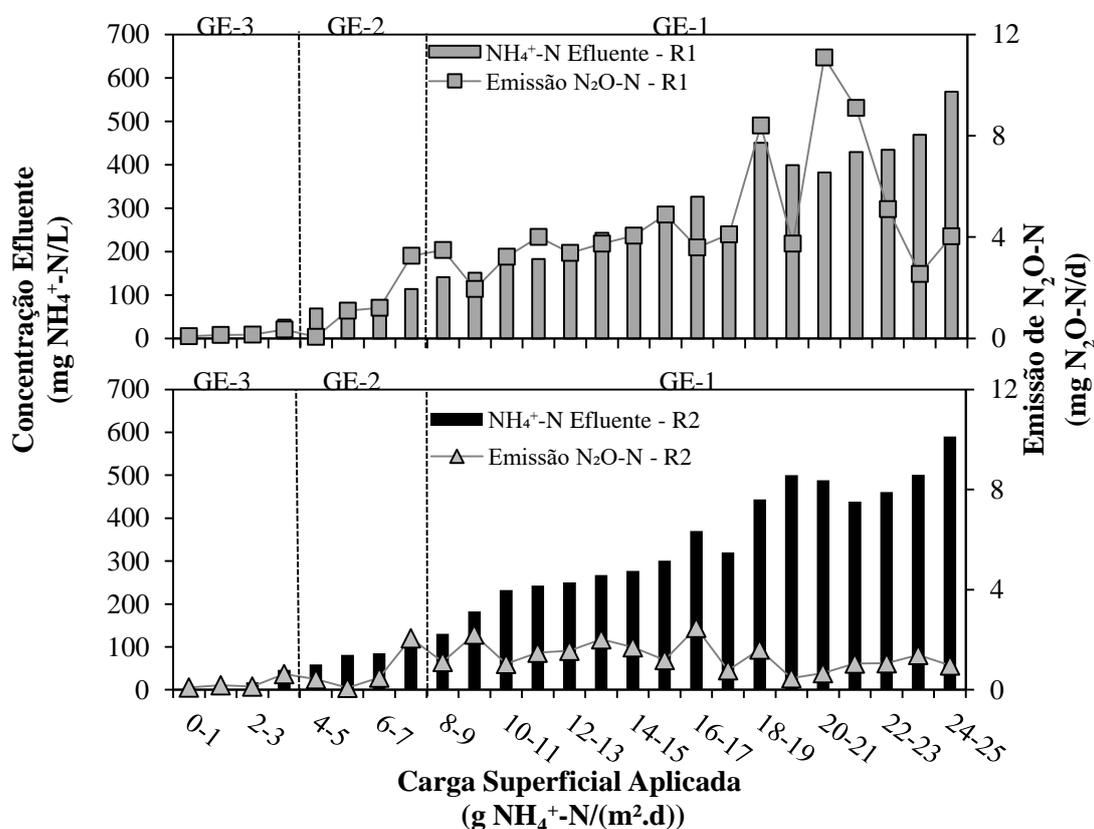


Figura 4-9: Perfis de concentração de N amoniacal efluente e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

Em menores concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ efluente, a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para ambos os reatores foi baixa, uma vez que a quantidade de N amoniacal removida também foi pequena, se comparada às de cargas aplicadas mais elevadas. Com o aumento das cargas aplicadas, houve um incremento das quantidades de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removidas, porém, houve também o incremento dos teores de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ remanescentes na corrente efluente aos reatores (substrato em excesso), o qual pode ter contribuído para o aumento das emissões de N_2O , uma vez que assim há maior quantidade de NH_3 livre no sistema. De fato, para os dois sistemas, as emissões de N_2O passaram a ser mais pronunciadas a partir da carga aplicada de 5 – 6 para o R1 e 7 – 8 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ para o R2, pouco após ser observado o aumento das concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ efluentes.

Ressalta-se que, anteriormente à aplicação da faixa de 4 – 5 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, o processo nitrificante se realizava completamente, com conversão praticamente completa de N amoniacal a nitrato. Além disso, os menores valores de pH dos sistemas, na faixa de 6,3 a 6,8, não eram favoráveis ao acúmulo de NH_3 livre nem para a degradação química e/ou biológica da NH_2OH , intermediário reacional também responsável pela geração de N_2O em sistemas nitrificantes (WRAGE *et al.*, 2001).

A Figura (4-10) representa as relações entre a presença de NH_3 livre no sistema e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os dois reatores.

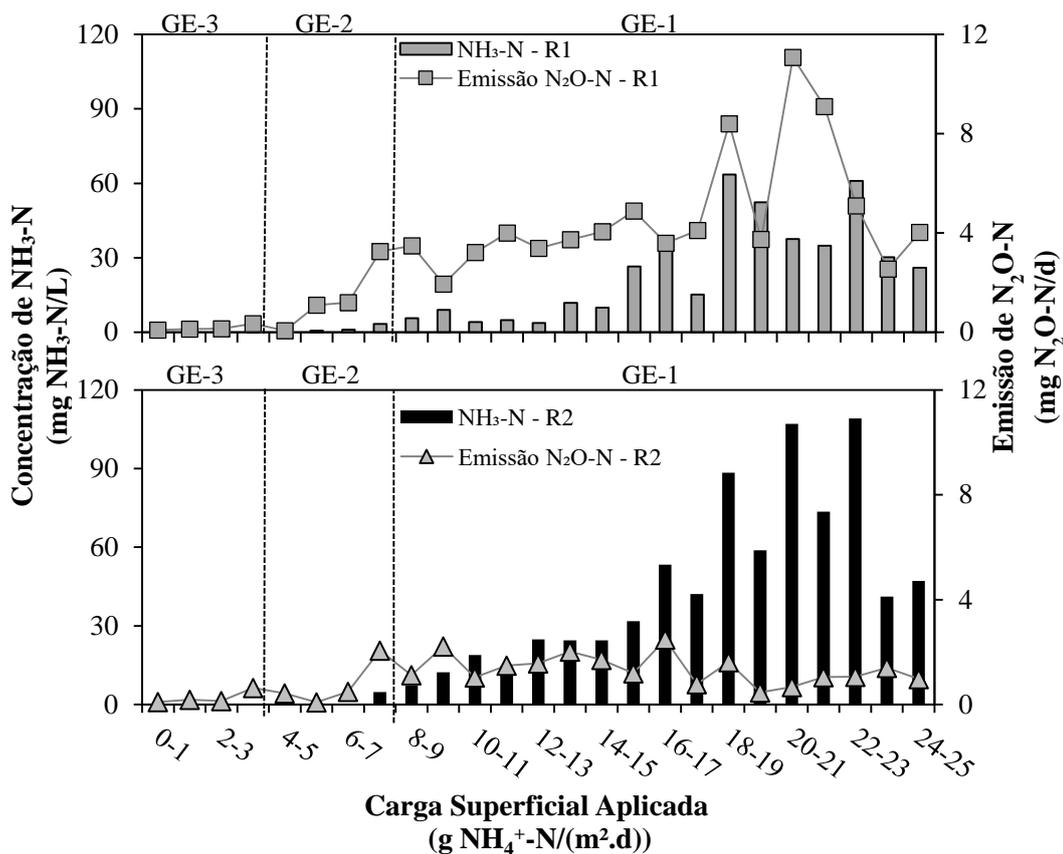


Figura 4-10: Perfis de concentrações de NH₃-N livre e de emissão de N₂O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

O aumento substancial dos teores de NH₃ livre a partir da carga aplicada de 7 – 8 g NH₄⁺-N/(m².d) contribuíram para o acréscimo das emissões de N₂O nos sistemas. Para o R1, houve o aumento da emissão conforme havia o aumento dos teores de NH₃ livre. Já para o R2, a emissão se estabilizou, sendo observada uma pequena queda quando os teores de NH₃ livre foram mais elevados (na faixa de 60 a 110 mg NH₃-N/L). O acúmulo desse inibidor reduz a capacidade de nitratação das BON e, conseqüentemente, favorece o acúmulo de NO₂⁻ no meio, além de influenciar na capacidade de oxidação da NH₂OH a NO₂⁻, intermediário do processo de nitratação e que também pode ser biologicamente decomposto a N₂O (MANNINA *et al.*, 2017a).

Para o reator R1, houve o aumento gradual das concentrações de NH₃ livre no sistema, porém esse aumento foi de menor magnitude que o observado no R2. Esse perfil pode estar relacionado com as maiores emissões de N₂O para esse reator, de forma que houvesse menor efeito inibitório da NH₃ à comunidade de BOA localizada em camadas mais internas ao biofilme. As menores concentrações de NH₃ poderiam facilitar, que nessas condições propícias, houvesse maior decomposição da NH₂OH a N₂O.

O aumento da concentração de NH_3 livre nas condições de carga de N amoniacal aplicada mais elevadas, mais expressivo para o reator R2, pode ter colaborado para as menores emissões de N_2O observadas nesse sistema. Isso ocorre devido à redução da atividade metabólica das BOA, o que conseqüentemente também reduz a degradação biológica de NH_2OH a N_2O e que pode ter conferido o perfil de emissão quase constante a despeito do aumento das cargas amoniacaais aplicadas. Além disso, para o R2, a utilização de um suporte fino em que o crescimento do biofilme ocorre no interior dos microporos estabelece uma determinada espessura máxima do filme biológico e garante gradientes de concentração menores para os compostos presentes no meio líquido, de forma que os microrganismos fiquem mais expostos aos inibidores.

Elevadas concentrações de NO_2^- -N acumuladas em sistemas nitrificantes têm sido um dos principais fatores responsáveis pelo aumento das emissões de N_2O -N em ETE (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009). Tendo como base essa premissa, a relação entre o perfil de NO_2^- -N efluente e a emissão de N_2O -N para o presente estudo é apresentada na Figura (4-11).

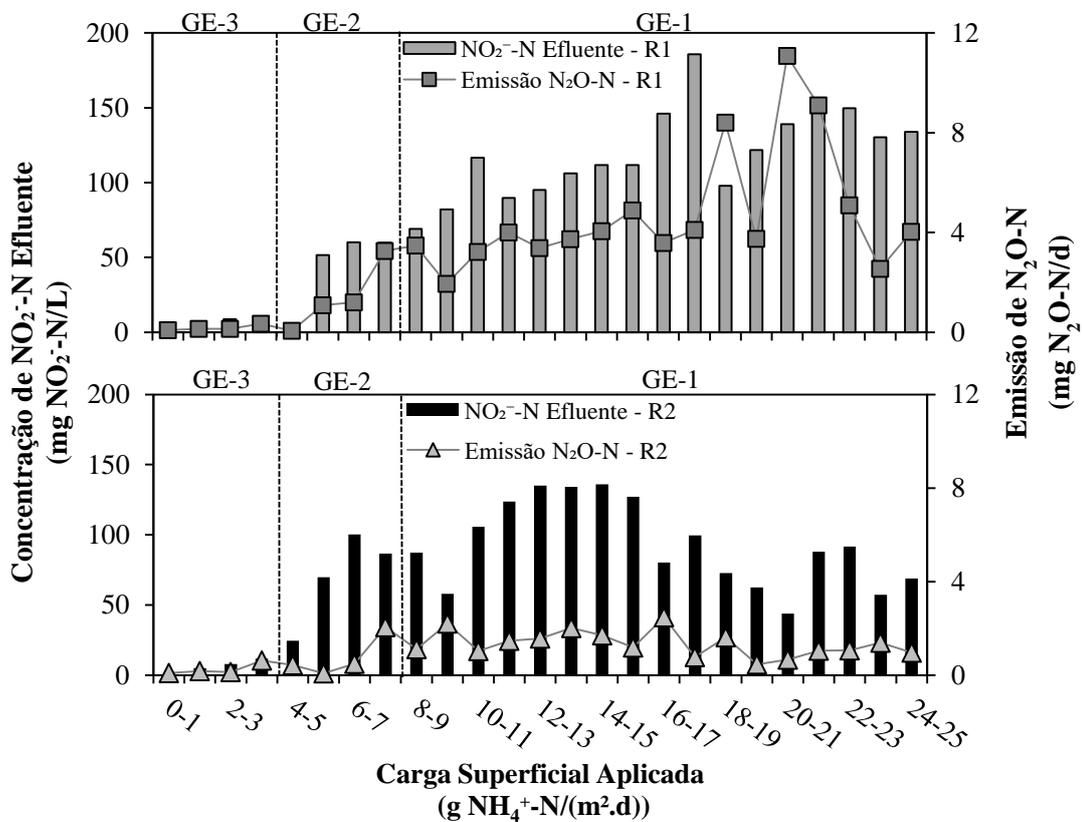


Figura 4-11: Perfis de concentração de NO_2^- -N efluente (concentração igual ao do interior dos reatores) e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

Durante as faixas aplicadas de 0 – 1 até 3 – 4 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ (GE-3), a nitratação foi pronunciada, ou seja, a maior fração de NH_4^+ foi oxidada completamente a NO_3^- e nessas condições, em que a amônia livre e o nitrito estiveram em baixas concentrações, as emissões de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os dois reatores foram baixas, de 0,344 e 0,626 mg $\text{N}_2\text{O-N}$ para o R1 e R2, respectivamente, para faixa de N amoniacal aplicada de 3 – 4 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

O notável acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ observado para o R1 na faixa de 5 – 6 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ foi coincidente com o aumento da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para 1,089 mg $\text{N}_2\text{O-N}/\text{d}$. Com o aumento das cargas aplicadas, foi observado o crescente acúmulo de NO_2^- no reator e, também, uma tendência de incremento na emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$. Esse fato confirma a hipótese da grande influência do NO_2^- na emissão de N_2O reportada por Kampschreur *et al.*, 2009. Somente para cargas de N amoniacal aplicadas muito elevadas (22 – 23 a 24 – 25 $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$), foi observado uma diminuição na emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$, mesmo com o acúmulo de nitrito se tornando mais pronunciado, o que pode estar relacionado com a ação dos outros inibidores que levavam à menor atividade dos organismos nessas cargas aplicadas muito elevadas.

Para o R2, o comportamento da emissão foi distinto ao observado no R1. Durante as faixas de 4 – 5 até 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, houve acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ no sistema e um pequeno aumento na taxa de emissão de N_2O frente às faixas anteriores. Somente na carga aplicada de 7 – 8 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ ocorreu o notável aumento da emissão desse gás, o que pode estar relacionado com o aumento do pH do meio (Fig. 4-6 c), que passou de 6,6 na faixa de 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, para 7,7 nessa carga aplicada. Nessas condições, além do acúmulo do nitrito, houve o aumento da concentração de NH_3 livre (4,8 mg $\text{NH}_3\text{-N}/\text{L}$), que nesse teor também influencia positivamente na emissão de N_2O . Para as cargas de N amoniacal subsequentes, houve acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ no sistema, contudo a emissão não apresentou a tendência de aumento, tal qual observado para o R1 nessas condições.

Em estudo realizado por Law *et al.* (2013) foi possível constatar que, em maiores teores de OD, a rota de emissão de N_2O predominante era a de oxidação da NH_2OH e, quando as faixas de NO_2^- estavam compreendidas entre 50 e 1000 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$, havia considerável redução na taxa de emissão de N_2O . Para tal, utilizaram um sistema RBS de bancada com biomassa suspensa e que operava em processo de nitratação, prévio a um reator *anammox*, com concentrações afluentes de N amoniacal na faixa de 600 a 1400 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$, acúmulo de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ na faixa de 0 a 1000 mg $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{L}$ e faixas de OD variando de 0,5 a 2,3 mg O_2/L .

Quando esse sistema foi operado na faixa de 20 – 25 mg NO₂⁻-N/L, a taxa de emissão específica de N₂O era maior, com aproximadamente 0,6 mg N₂O-N/(g SSV.h) e foi reduzida para 0,2 mg N₂O-N/(g SSV.h) quando o acúmulo de NO₂⁻-N era superior a 200 mg NO₂⁻-N/L. Os mesmos autores citaram também que o acúmulo de NO₂⁻ em níveis elevados, observados em reatores biológicos para processos de tratamento de correntes secundárias (*side stream*), pode ser utilizado como ferramenta de mitigação na emissão de N₂O, uma vez que a taxa de N₂O-N emitida obtida para maiores faixas de NH₄⁺-N foram similares às de sistemas nitrificantes submetidos a menores cargas de substrato amoniacal. Contudo, ressaltaram, ainda, a possibilidade de aumento das emissões caso os reatores operem com teores de OD elevados e concentrações de NO₂⁻-N acumulado em faixas intermediárias.

Mais recentemente, Duan e colaboradores (2019), estudando sistemas RBS com biomassa suspensa, em escala de bancada, alimentados com concentrações de NH₃-N próximas à 210 mg NH₃-N/L e posteriormente com NO₂⁻-N a 400 mg NO₂⁻-N/L, verificaram a redução na emissão de N₂O, obtendo fatores de emissão de 2,1 e 1,7 %, respectivamente. Tal redução foi significativa frente ao FE de N₂O-N de 3,3 % referente ao mesmo sistema quando operava com acúmulo de NO₂⁻ de 500 mg NO₂⁻-N/L e sem choque de NH₃ livre.

Existe certa complexidade na distinção dos mecanismos responsáveis pela emissão de N₂O em sistemas de tratamento de efluentes, especialmente em sistemas com biomassa aderida, para os quais a dificuldade é maior devido à difusão dos compostos no biofilme. Por esse motivo, a quantidade de informações acerca desses sistemas é menor. Há uma grande carência na implementação de metodologias de quantificação *in situ* que diferenciem teores internos ao biofilme e também de modelos matemáticos mais refinados, o que auxiliaria na diferenciação dos mecanismos responsáveis pela emissão de N₂O em sistemas com biomassa imobilizada.

A diferença no perfil de emissão entre os dois reatores pode, então, estar relacionada com o mecanismo responsável pela emissão de N₂O-N em cada sistema. Em elevados teores de OD, a degradação biológica da NH₂OH vem se mostrando como um importante fator influenciador da emissão de N₂O. Segundo Sabba *et al.* (2015), em biofilmes autotróficos espessos, nos quais possam ocorrer limitação da transferência de O₂ até zonas mais internas, é possível que haja mais emissão de N₂O devido à difusão da NH₂OH produzida no meio líquido. Ao se acumular nas zonas sem O₂, a NH₂OH pode ser degradada pelas BOA em condição metabólica que favorece a geração de N₂O. Além

disso, as zonas anóxicas dos biofilmes nitrificantes, ricas em NO_2^- e pobres em OD, favorecem a desnitrificação autotrófica, que tem o N_2O como produto final da redução do NO_2^- pelas BOA (PENG *et al.*, 2016).

Dessa forma, a maior emissão do reator R1 frente ao R2 pode também estar relacionada aos fenômenos difusionais da NH_2OH e da possibilidade, mesmo que pequena, de ocorrência de desnitrificação autotrófica. A maior espessura do biofilme formado no R1 e, por conseguinte, o maior teor de sólidos quando operado em cargas elevadas será abordada com mais detalhes na seção 4.4.

Reforça-se que a desnitrificação autotrófica não é favorecida nos sistemas uma vez que o OD foi mantido entre 5 e 8 mg O_2/L no *bulk* e havia satisfatória mistura do conteúdo do reator de modo a garantir condições hidrodinâmicas favoráveis para o transporte de O_2 e movimentação dos suportes. Contudo, quando o R1 operava em altas cargas aplicadas, devido à maior espessura do biofilme formado, microzonas anóxicas internas podem ter sido formadas, favorecendo a degradação da NH_2OH , que migra para o interior do biofilme, e é convertida a N_2O , e também à ocorrência de desnitrificação autotrófica, uma vez que existiam doadores e aceptores de elétrons disponíveis (NH_3 e NO_2^- , respectivamente) para que esse fenômeno pudesse ocorrer.

Acredita-se que a rota de degradação da NH_2OH foi a preponderante. Segundo Caniani *et al.* (2019), pequenas reduções nos teores de OD em altas concentrações de NH_2OH podem favorecer a emissão de N_2O em sistemas autotróficos aerados, o que pode ter ocorrido no R1.

O R2 apresentava, de forma esporádica, problemas de fluidização dos suportes no reator. Esses problemas foram causados pela própria conformação do suporte e do reator, de forma que com as flutuações nas vazões de ar comprimido insuflado, ocorria o acúmulo temporário de parte dos suportes no fundo do reator, próximo ao ponto onde era feita a alimentação, criando regiões suscetíveis a maiores choques de carga aplicada e, conseqüentemente, ocasionando maior inibição aos organismos. Mesmo com esse problema, como o biofilme era mais fino, foi desconsiderada a hipótese da ocorrência de desnitrificação autotrófica. Sendo assim, a menor emissão observada pode ser justificada pelo fato das condições de OD do meio favorecerem maior conversão da NH_2OH a NO_2^- e não a N_2O .

Em um estudo envolvendo experimentos e modelagem, realizado por Pocquet *et al.* (2016), foi possível observar que a operação de sistemas com remoção de N em elevados teores de OD reduziu a emissão de N_2O -N. Quando operado em OD próximo de

1 mg O₂/L, o FE de N₂O-N foi de 8 %, enquanto em concentrações próximas a 4 mg O₂/L, apenas 1 % da carga aplicada era emitida sob a forma de N₂O-N. Esse resultado pode indicar que a prevenção do fenômeno de desnitrificação autotrófica com o controle de OD pode ser uma estratégia mitigadora da emissão de N₂O-N em sistemas nitrificantes que não realizam desnitrificação ou *anammox* no mesmo estágio.

As concentrações estimadas de HNO₂, em geral bastante reduzidas, apresentaram pouca relação com as emissões de N₂O, conforme apresentado na Figura (4.12).

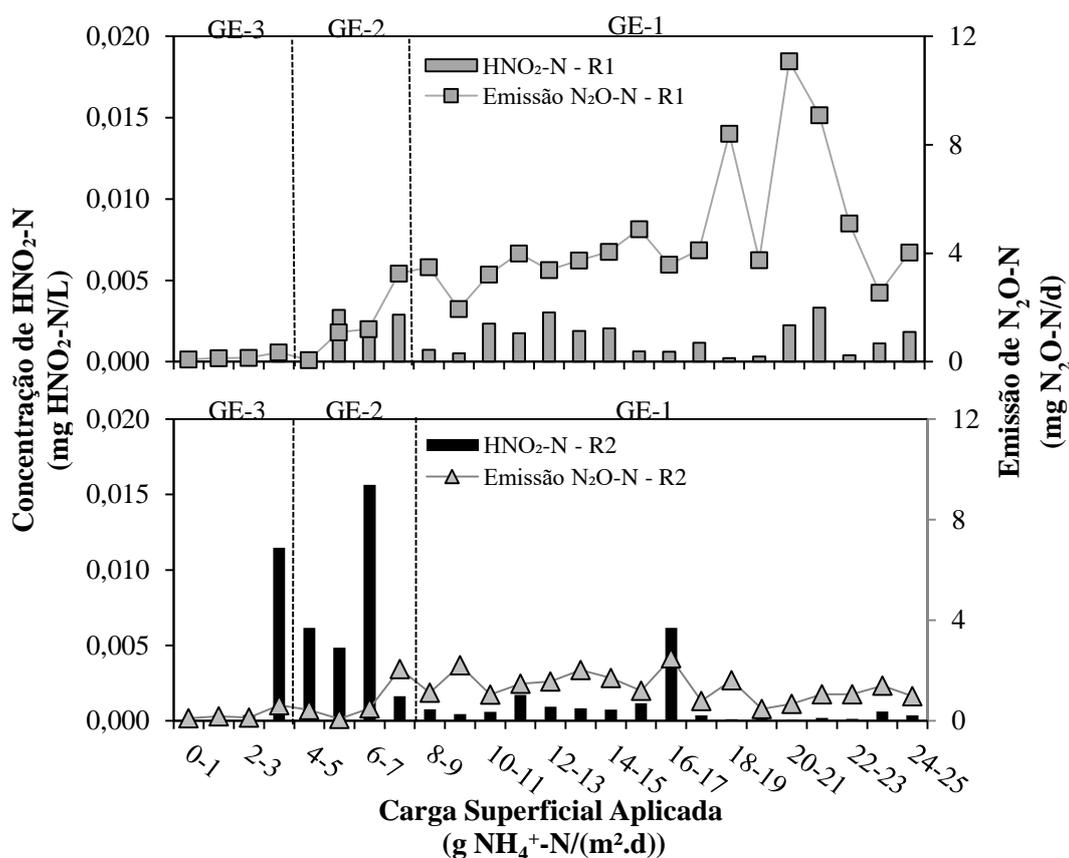


Figura 4-12: Perfis de concentrações de HNO₂-N e de emissão de N₂O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

Somente no R2, para as cargas aplicadas de 3 – 4 a 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d), foi notificado um possível efeito inibitório do HNO₂ na atividade das BOA, podendo ser uma das justificativas para os baixos valores de emissão para essas faixas. O acúmulo de NO₂⁻ (Fig. 4-11), juntamente aos menores valores de pH nos reatores (Fig. 4-6 c) obtidos nessas condições, contribuíram para a maior concentração de HNO₂ e conseqüentemente, para o perfil de emissão de N₂O-N observado. Quando a emissão de N₂O nessas faixas foi comparada à obtida nas cargas aplicadas anteriores, observa-se um pequeno incremento da emissão em função do aumento da carga de N amoniacal removida, porém esse

aumento só ocorre de forma mais expressiva após a redução dos teores de HNO_2 do sistema.

Law *et al.* (2011) atentaram para a redução da emissão específica de $\text{N}_2\text{O-N}$ para níveis próximos a $0,15 \text{ mg N}_2\text{O-N}/(\text{g SSV.h})$ em um RBS operado em pH igual a 6. Em pH 8, a emissão foi superior a $0,5 \text{ mg N}_2\text{O-N}/(\text{g SSV.h})$.

Pequenas concentrações de HNO_2 podem ocasionar efeito positivo na emissão de N_2O . Pocquet *et al.* (2016) observaram que a variação de 0,15 para $1 \mu\text{g HNO}_2\text{-L}$ em sistemas de batelada sequenciais, mantendo outras condições operacionais constantes, foi responsável pelo aumento de 25 % nas emissões de N_2O .

Para maiores teores de HNO_2 , na faixa de 2 – 3 $\text{mg HNO}_2\text{-N/L}$, Peng *et al.* (2020) observaram redução na emissão de N_2O devido ao efeito inibitório desse composto. Em reatores *IFAS* alimentados com esgoto doméstico, submetidos a choques inibitórios com correntes de *side stream* e baixos teores de OD ($1 \text{ mg O}_2\text{/L}$), o FE médio reduziu de 2 para 1 % quando houve o aumento do teor de HNO_2 para as faixas citadas.

Segundo o estudo de Peng *et al.* (2020), o efeito inibitório do HNO_2 está relacionado com a inativação da enzima NirK, responsável pela decomposição do NO_2^- a N_2O na rota de desnitrificação autotrófica. No entanto, nas condições estudadas na presente pesquisa, há pequena possibilidade de ocorrência desse processo, especialmente para o reator R2, onde a pequena espessura do biofilme e o elevado teor de OD no seio do líquido proporcionavam maior transferência de massa de O_2 no biofilme, reduzindo as zonas anóxicas.

No Anexo (b) são apresentados os perfis de emissão de N_2O frente à variação de pH, OD, T, Q_{ar} e teor de sólidos voláteis totais (SVT) para as cargas de N amoniacal aplicadas nos dois reatores. Esses parâmetros não apresentaram relações tão claras para a emissão de N_2O , por isso são apresentados para consulta no Anexo (b), Figuras (7-6) a (7-10).

Vale ressaltar que, quando o reator R2 apresentou valores de pH superiores a 8,5 (observado para as faixas de carga aplicada superiores a $18 - 19 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\text{.d})$), a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ foi mais baixa. Esse comportamento também foi observado por Su *et al.* (2019), ao estudarem o efeito do aumento do pH na emissão de GEE em sistemas RBS com altas taxas de nitrificação, sob alta carga nitrogenada, contudo com baixo teor de OD. Nesse estudo, o aumento progressivo de pH da faixa de 6,0 até 8,0 incrementaram a emissão de N_2O , variando de 1,2 a 7,3 % do N amoniacal removido, contudo, ao se elevar o pH do sistema para 8,5 a taxa de emissão reduziu para 4,3 % do N amoniacal removido.

Para essa redução, os autores pontuam que além do efeito inibitório da NH_3 livre, que é mais acentuado em pH maiores, no sistema analisado havia o consumo de parte do N_2O produzido pela ação da enzima NOS, mais ativa em pH elevado. Ou seja, ocorria também a desnitrificação heterotrófica, favorecida nesse pH. No presente estudo, a hipótese de redução da emissão é limitada à ação inibitória do NH_3 livre por não haver aporte de matéria orgânica e os teores de OD serem elevados.

Para maior detalhamento das relações de cada variável com a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ foi realizada uma análise individual do coeficiente de correlação (r) e da correlação de Pearson (ρ) para cada parâmetro/resposta frente à emissão de N_2O . A Tabela (4-1) resume esses dados e os gráficos de dispersão dos parâmetros estão apresentados no Anexo (b), Figuras (7-11) a (7-30).

Tabela 4-1: Valores dos coeficientes de correlação (r), obtido através de ajuste de potência e as correlações de Pearson (ρ) entre diferentes parâmetros e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$.

Parâmetro	Coeficiente de correlação (r)		Correlação de Pearson (ρ)	
	R1	R2	R1	R2
NH_4^+ Afluente	0,8940	0,7201	0,74	0,38
NH_4^+ Removido	0,8710	0,7183	0,66	0,43
NH_3 Livre	0,8885	0,7308	0,69	0,20
NO_2^- Efluente	0,9058	0,7146	0,71	0,58
HNO_2 Efluente	0,6036	0,0200	0,31	-0,16
pH	0,7879	0,5925	0,69	0,51
OD	0,4893	0,4040	0,38	0,34
Q_{ar}	0,5809	0,0200	-0,51	0,01
T	0,1265	0,2494	-0,15	0,26
SVT	0,5417	0,5822	0,40	0,54

No cenário estudado, os parâmetros de maior relação com a emissão de N_2O foram a carga de N amoniacal aplicada (expressa pela concentração de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ afluente), a capacidade de remoção de N amoniacal do sistema, a concentração de NO_2^- acumulado e também o teor de NH_3 livre, controlado pelo pH do meio. Tais parâmetros também foram citados como fortes influenciadores da emissão de N_2O por Kampschreur *et al.* (2009) e Bortoli *et al.* (2012). A diferença entre os teores de SVT nos dois reatores também pode ter interferido na variação da magnitude da emissão observada entre os reatores.

Além disso, as maiores correlações foram encontradas para o reator R1, que fazia uso do suporte K1. Para o R2, o maior efeito inibitório pode ter conferido maior complexidade à dinâmica de emissão de N_2O do sistema, a qual reduziu mesmo em condições de maior carga aplicada e de acúmulo de NO_2^- , ambas condições que seriam favoráveis para o seu aumento, mas que nesse reator atuaram como mitigadores da quantidade de N_2O emitida.

4.3.2 – Determinação dos fatores de emissão (FE) de N_2O

Além do estudo de emissão N_2O , com as possíveis rotas e variáveis intensificadoras do processo de formação e emissão desse gás, também foi realizado o comparativo entre os FE (%) de N_2O-N obtidos frente ao valor de 1,6 %, pressuposto pelo *IPCC* para sistemas de tratamento de efluentes centralizados que realizam a remoção intencional de N. A Figura (4-13) representa esse comparativo para cada faixa de carga de NH_4^+-N aplicada.

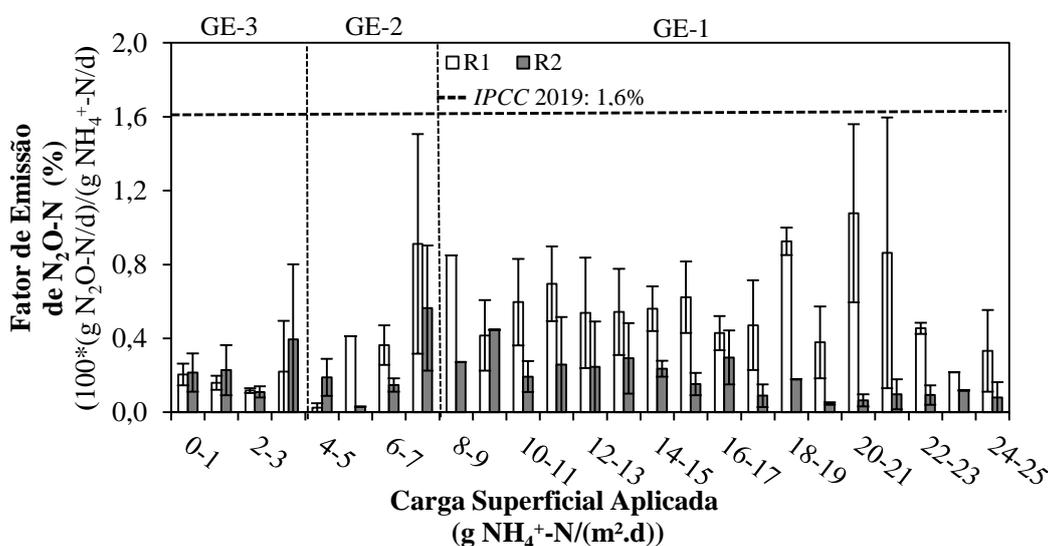


Figura 4-13: Fatores de emissão de N_2O-N percentuais (FE %) normalizados pela carga de N afluente ($100*(g N_2O-N/d)/(g NH_4^+-N/d)$) para as faixas de cargas superficiais de NH_4^+-N aplicadas aos reatores R1 e R2, com os respectivos desvios padrão. A linha preta pontilhada horizontal representa o FE % médio pressuposto pelo *IPCC* 2019, isto é, 1,6 %, para sistemas de tratamento de efluentes centralizados que realizam a remoção intencional de N.

Quando comparado ao pressuposto pelo refinamento de 2019 do *IPCC*, para todas as cargas aplicadas, ambos reatores apresentaram valores de FE inferiores ao valor médio estipulado pelo inventário. Somente no R1, para as cargas aplicadas de 7 – 8, 20 – 21 e

21 – 22 g NH₄⁺-N/(m².d), considerando os valores máximos e os elevados desvios padrão, foi possível observar FE similares ao reportado pelo inventário, sendo eles: 0,9 ± 0,6; 1,1 ± 0,5 e 0,9 ± 0,7 %, respectivamente. Esses valores também são próximos ao intervalo de FE de N₂O de 0,5 a 1,5 %, apresentado por Ma *et al.* (2015), contudo nesse estudo, o reator *MBBR* operava com carga de N amoniacal aplicada de aproximadamente 1 g NH₄⁺-N/(m².d), concentração de 200 mg NH₄⁺-N/L, OD de 1,7 mg O₂/L e TRH de 1,5 dias.

A normalização dos valores de N₂O-N emitidos pela quantidade de N amoniacal afluente dificultam a visualização de um perfil da variação do FE de N₂O-N. Uma tendência de redução mais clara somente é observada para as condições em que a carga aplicada de N amoniacal foi muito elevada, mais especificamente a partir das cargas de 22 – 23 g NH₄⁺-N/(m².d) para o R1, atingindo o valor de 0,455 ± 0,094 %, e a partir da carga de 19 – 20 g NH₄⁺-N/(m².d) para o R2, com valor de 0,194 ± 0,007 %.

Ao se realizar a análise com a média das cargas de N amoniacal afluente para cada grupo de ensaio, considerando que para o GE-3 foi aplicada baixa carga, para o GE-2 média carga e para o GE-1 alta carga de nitrogênio amoniacal, pode se observar as seguintes tendências e desvios, conforme apresentado na Figura (4-14).

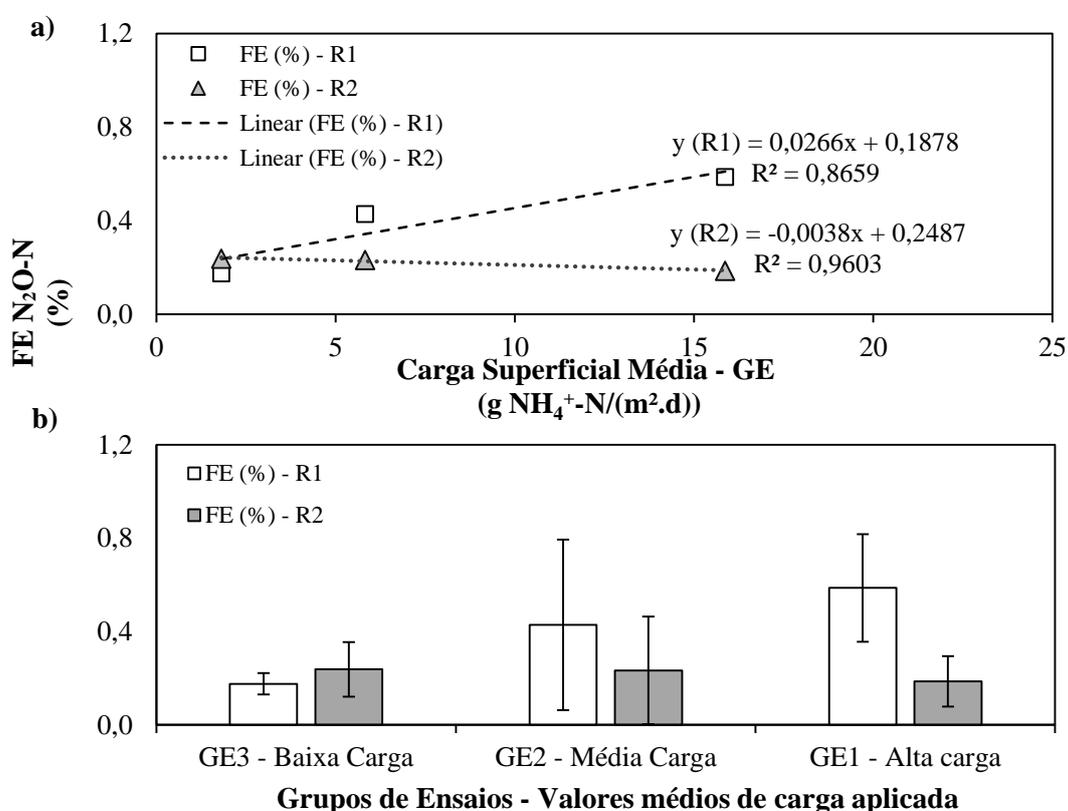


Figura 4-14: a) Correlação entre o fator de emissão de N₂O-N (%) e a carga superficial de N amoniacal média aplicada, em g NH₄⁺-N/(m².d), para cada grupo de ensaio (GE) estudado e b) valores médios de FE de N₂O-N (%) para cada GE e seus respectivos desvios padrão amostrais.

Ao se comparar o perfil médio de FE de N₂O-N para os dois reatores, observa-se também que mesmo de forma geral, o reator R1 apresentou correlação positiva entre a emissão de N₂O-N e o aumento da carga de N amoniacal aplicada, enquanto que para o reator R2, observou-se pequena redução da emissão com o aumento da carga aplicada. Além disso, foi possível perceber que principalmente para os grupos de ensaio 2 e 1, o FE de N₂O-N apresentou elevado desvio padrão para os dois sistemas. Houve maior variabilidade no FE mesmo com variações pequenas da carga amoniacal afluyente (Fig. 4-13), fato justificado pela predominância da nitrificação parcial e, por consequência, acúmulo de subprodutos (NH₃ livre e HNO₂) e nitrito nos reatores.

Tais resultados reforçam a hipótese da não adoção de um FE único para diversos sistemas de tratamento que realizam remoção intencional de N, conforme proposto pelo IPCC, visto que mesmo para uma mesma tecnologia, como *MBBR* nesse estudo, variando somente o tipo de conformação da biomassa aderida ou as faixas de cargas de substrato aplicadas, já é possível verificar diferentes perfis de emissão de N₂O, reiterando a complexidade dos fenômenos biológicos envolvidos na produção desse gás. A adoção de FE mais específicos pode contribuir para a maior acurácia na adoção de estratégias de minimização de pegada de carbono de uma ETE, de forma a se atuar com alternativas de mitigação eficazes em cada etapa do processo que, porventura, possa ser um potencial gerador e emissor de N₂O.

Uma outra análise dos resultados foi relacionada ao valor observado para o FE de N₂O-N frente ao resultado quantitativo, absoluto, de N₂O-N emitido pelo sistema, conforme apresentado na Tabela (4-2).

Tabela 4-2: Comparativo entre os valores absolutos de emissão de N₂O-N e os FE de N₂O-N (%) para os valores médios de carga aplicada em cada grupo de ensaio estudado para os reatores R1 e R2.

Reator	Grupo de Ensaio	Emissão de N ₂ O-N média (mg N ₂ O-N/d)	FE N ₂ O (%)
R1	GE-3	0,2	0,18
	GE-2	1,4	0,43
	GE-1	4,7	0,59
R2	GE-3	0,3	0,24
	GE-2	0,8	0,24
	GE-1	1,3	0,19

Para o R1, com o aumento dos valores absolutos de emissão, ocorreu um ligeiro aumento do FE de N₂O-N. Em termos mássicos, a quantidade de N₂O-N emitida quando o sistema operava em altas cargas é consideravelmente superior à emitida em baixas e médias cargas aplicadas. Já para o reator R2, o pequeno aumento absoluto da quantidade de N₂O-N emitida repercutiu em uma ligeira redução do FE de N₂O-N do sistema, resultado que foi observado devido ao aumento substancial da quantidade de N aplicada do GE-3 para GE-1. Portanto, o FE pode não ser diretamente proporcional à emissão absoluta de N₂O-N se a comparação é feita em condições de N afluentes diferentes e a análise desse fator deve sempre ser acompanhada das condições de operação e alimentação do reator, de forma a não acarretar em interpretações errôneas das emissões do sistema estudado.

O relatório do *IPCC* apresenta, para a determinação do FE de N₂O-N único, uma análise média realizada através da regressão linear dos valores encontrados para trinta sistemas de tratamento de efluentes domésticos, aeróbios, e que utilizavam biomassa suspensa (lodos ativados e suas variantes). Há grande variabilidade nos valores, mesmo para sistemas de tratamento com biomassa suspensa de larga escala que realizam remoção intencional de N.

Rodríguez-Caballero *et al.* (2015) obtiveram resultados de FE de N₂O-N na faixa de 0,3 a 6,8 % operando um sistema RBS, com OD de 2 a 4 mg O₂/L na fase aerada, que tratava efluente municipal (concentração de NH₄⁺-N: 39 mg N/L; DQO: 600 mg O₂/L), somente alterando a quantidade e o tempo das etapas aeróbia e anóxica no ciclo do reator. A utilização de duas etapas aeradas mais curtas e alternadas entre as duas etapas anóxicas proporcionou menores FE de N₂O-N. O maior FE (6,8 % em relação ao N afluente) foi observado quando foram realizadas etapas aeradas e anóxicas únicas e mais longas. O FE obtido por esses autores foi superior aos obtidos pelos sistemas para o GE-3 (0,18 ± 0,05 e 0,24 ± 0,12 % para o R1 e R2, respectivamente), fato justificado pela presença de etapas anóxicas no tratamento estudado por Rodríguez-Caballero.

Ao se comparar os resultados dos estudos realizados em sistemas com biomassa aderida em escala de bancada e em escala real, pode-se observar que grande parte dos que visam a remoção de N, utilizando *MBBR* e relacionando o desempenho de remoção à emissão de N₂O, são relativos aos processos de nitrificação parcial-*anammox* em sistemas de tratamento por desamonificação, para correntes líquidas provenientes da etapa de desague e digestão de lodo. Há pouca informação acerca da emissão de N₂O-N para sistemas *MBBR*, ou tecnologias semelhantes, em correntes principais, que geralmente,

possuem maiores concentrações de matéria orgânica e menores teores de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ que as correntes *side stream*. Ressalta-se que o efluente sintético usado no presente estudo, por apresentar concentrações de nitrogênio amoniacal médias e elevadas na maior parte do período operacional, possui similaridade a um efluente de digestão de lodo. Outras similaridades para as condições estudadas podem ser revisitadas na Tabela (3-6).

Zhou *et al.* (2020) estudaram a ocorrência de processos simultâneos de nitrificação-desnitrificação e *anammox*, além da emissão de N_2O associada, utilizando um *SBBR* em escala de bancada que operava com baixo teor de OD (1 mg $\text{O}_2\text{/L}$, mantido constante durante todo o ciclo), TRH de 12 horas, teor de N amoniacal de 50 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ e relação C/N de 2,5. Para esse sistema, o FE de $\text{N}_2\text{O-N}$ médio do ciclo era de 2,2 % em relação ao N afluente. Esses valores foram superiores aos obtidos quando os reatores R1 e R2 operavam em baixas cargas de N amoniacal aplicadas (para o GE-3 o FE médio foi de $0,18 \pm 0,05$ e $0,24 \pm 0,12$ % para o R1 e R2, respectivamente). Essa maior emissão pode ter ocorrido devido aos reduzidos teores de OD do estudo e presença de matéria orgânica, que pode estimular a emissão de N_2O , intensificada durante a nitrificação, e também emitida ou consumida durante a desnitrificação heterotrófica (TALLEC *et al.*, 2006b).

Contudo, o FE do sistema estudado por Zhou foi ainda inferior ao obtido em estudos anteriores realizados em sistemas submetidos à baixa relação C/N e teores de N semelhantes, em *SBBR*. Chai *et al.* (2019), por exemplo, obtiveram FE de N_2O na faixa de 3,4 a 6,3 %. Nesse estudo, a aeração foi intermitente, o que gerava maior produção de N_2O durante a desnitrificação, e por consequência, maior emissão acumulada na fase aerada.

Em escala piloto/real, para concentrações de N similares a de efluentes municipais (60 mg NT-N/L), com carga aplicada de 0,7 g N/(m².d), o *MBBR* aeróbio, que fazia parte de um sistema *UCT-IFAS-MBR*, estudado por Mannina *et al.* (2017c), apresentou FE de N_2O de aproximadamente 0,21 %, em consonância com o valor médio obtido nesse estudo para as faixas de baixas cargas de N amoniacal aplicadas. O sistema de tratamento, de modo geral, apresentou FE global de 0,95 % em relação ao NT aplicado, sendo que a maior parte da emissão foi oriunda do *MBBR* aeróbio, responsável pelo processo de remoção de N amoniacal, e do *MBR* aerado, para os quais o FE foram de 0,21 e 0,74 %, respectivamente. Novamente, parte da emissão ocorreu devido ao processo de arraste por ar (*air stripping*), que removia fisicamente parte do N_2O produzido nas etapas anaeróbias e anóxicas e transferido até os reatores aeróbios.

No Brasil, para um filtro biológico percolador de baixa carga orgânica e amoniacal com aeração natural, utilizado como pós tratamento de reator *UASB* em ETE municipal do Paraná, Ribeiro *et al.* (2020) observaram baixos fluxos e FE de $\text{N}_2\text{O-N}$ em monitoramento sazonal realizado por 24 horas. Para a amostragem realizada no inverno (temperaturas médias de 12 °C), os fluxos se mantiveram menores, na faixa de 0,11 a 0,34 mg $\text{N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2\cdot\text{h})$. No verão (com temperaturas próximas a 21 °C), o fluxo de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ máximo atingiu o valor de 0,58 mg $\text{N}_2\text{O-N}/(\text{m}^2\cdot\text{h})$. Para ambos os cenários, o FE médio foi em torno de 0,005 %. Esses valores reduzidos foram relacionados à baixa remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e à ausência de um sistema de aeração forçada, que favoreceria o arraste por ar e aumentaria também a taxa de nitrificação do sistema. Portanto, para sistemas de tratamento que usam biomassa aderida, a depender das condições operacionais, a emissão pode ser bem diferente da proposta pelo *IPCC*.

No presente estudo, as condições de maiores cargas de N amoniacal aplicadas se assemelham aos cenários observados em sistemas de tratamento de correntes secundárias, o que favorece a comparação entre esse estudo e outras pesquisas de emissão de N_2O .

Mesmo nas condições de maiores cargas aplicadas, e conseqüentemente, maiores concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, os FE de $\text{N}_2\text{O-N}$ médios obtidos no presente estudo ($0,19 \pm 0,11 - 0,59 \pm 0,23$ %) foram inferiores ao observado por Wei *et al.* (2017), que reportaram FE de 4,5 % para *SBBR* que realizava nitrificação parcial com concentração de 250 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ e carga de N amoniacal aplicada de 2 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. Kong *et al.* (2013), em *SBBR* de nitrificação parcial, alimentado com concentrações de nitrogênio amoniacal de aproximadamente 400 – 550 mg N/L (carga aplicada próxima a 3 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) e submetido a OD de 1,3 mg O_2/L , obtiveram FE de $\text{N}_2\text{O-N}$ de 1,5 %. Já o estudo realizado por Ma *et al.* (2015) em *MBBR* contínuo (carga de N amoniacal aplicada de aproximadamente 1 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, concentração de 200 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$, OD de 1,7 mg O_2/L e TRH de 1,5 dias) apresentou FE de 0,5 %, valor mais próximo ao obtido no presente estudo. Essas e outras pesquisas realizadas em escala de bancada averiguando a produção de N_2O em sistemas de tratamento podem ser consultadas na Tabela (2-7).

Ekström (2010) estudou um sistema *MBBR* em escala de laboratório que realizava nitrificação parcial-*anammox* em correntes de *side stream*, com carga aplicada de em média 1,9 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, porém com concentração de 265 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$, suporte AnoxKaldnes K1 (mesmo usado nessa pesquisa) e com OD mantido na faixa de 1 a 1,5 mg O_2/L . Nesse cenário, o FE de N_2O variou na faixa de 1,5 a 4,3 % em relação à carga nitrogenada aplicada, valores superiores aos comparados com o observado durante o GE-

3. Somente para a faixa de carga de N amoniacal aplicada de 7 – 8 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, no GE-2, considerando o valor máximo do FE previsto pelo desvio padrão (no valor de aproximadamente 1,55 %), o valor do presente estudo se assemelhou ao valor mínimo apresentado por Ekström. Possivelmente, os maiores valores observados foram ocasionados pela condição operacional de baixo teor de OD e o acúmulo de nitrito decorrente da nitrificação parcial.

Fang e colaboradores (2020) obtiveram fatores de emissão de aproximadamente 1,6 % em *SBBR* em escala piloto com ausência de fonte de carbono, realizando o processo *CANON*-desnitrificação em único estágio com concentração de NT de 360 mg N/L, carga volumétrica aplicada de 0,180 Kg/ $(\text{m}^3\cdot\text{d})$, elevados TRH (48 h) e OD na faixa de 1,5 a 2,0 mg O_2/L durante as fases aeradas. A maior remoção de NT alcançada (82 %) e a aeração intermitente podem ter sido responsáveis pela emissão de N_2O . Além disso, através de análise isotópica, foi possível inferir que 61 % da emissão de N_2O foi atribuída ao fenômeno de redução do NO_2^- através da via de desnitrificação autotrófica e apenas 5 % relativa à oxidação da NH_2OH .

Estudando faixas de concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em torno de 1000 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$, Yang *et al.* (2013) verificaram FE médio de 0,4 a 1,6 % operando *MBBR* piloto que realizava nitrificação parcial-*anammox* com suporte Kaldnes K1 e OD contínuo na faixa de 1,0 a 2,5 mg O_2/L . Esses valores também foram superiores aos valores médios observados no GE-1 ($0,53 \pm 0,23$ %) para o reator R1, que operava com maior teor de OD, menor TRH e teores de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em torno de 750 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$. Ressalta-se que a carga aplicada ao sistema operado por Yang *et al.* (2013) estava na faixa de 1,5 a 3,7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, para as quais o presente estudo apresentou FE ainda mais baixos $0,18 \pm 0,05 - 0,43 \pm 0,35$ %.

Para processos de nitrificação/nitrificação parcial-*anammox*, que operam sob relações C/N baixas ou nulas, foi reportado recentemente em revisão realizada por Li *et al.* (2020) que há considerável variação na emissão de N_2O , a depender da escala do tratamento. Para a escala de laboratório, o estudo determinou faixa de FE entre 0,08 a 4,00 %, para a piloto entre 0,51 e 3,60 % e para a escala real entre 0,35 e 6,60 %. Tais valores oscilam, majoritariamente, em função das configurações do biorreator, da estratégia de operação adotada e das condições de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ afluentes.

Yang *et al.* (2016) estudaram a emissão N_2O em *MBBR* de escala real que realizava nitrificação-*anammox* com concentração de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em torno de 1400 mg NH_4^+/L , o que representava uma carga superficial aplicada de 3,3 g N/ $(\text{m}^2\cdot\text{d})$, OD

intermitente de 3 mg O₂/L e utilizando o suporte Kaldnes K1. Para esse estudo, o FE médio foi de 0,51 % (na faixa de 0,31 – 1,33 %), valores de FE compatíveis com a faixa apresentada por Li *et al.* (2020) e mais próximo do valor obtido para o GE-1 do presente estudo (0,59 ± 0,23 e 0,19 ± 0,11 % para o R1 e R2, respectivamente), para o qual a concentração de NH₄⁺ afluyente foi menor, mas as cargas aplicadas foram superiores devido ao reduzido TRH e menor área superficial de crescimento.

Apesar de todos esses estudos citados apontarem FE para sistemas que apresentam elevadas concentrações de N amoniacal afluyente, atenta-se para a escassez de pesquisas com sistemas que utilizam de biomassa aderida e avaliam a remoção de N com emissão de N₂O-N associada a altas cargas aplicadas, tais quais estudadas no presente estudo.

Em suma, os resultados confirmaram que houve geração de N₂O durante a operação dos *MBBR* nitrificantes, mantidos em condições autotróficas. Mesmo com os sistemas *MBBR* operando em alta carga de N amoniacal aplicada, alcançando satisfatórias remoções de N amoniacal e concentrações consideráveis de subprodutos intensificadores da emissão (NH₃ livre e NO₂⁻), os FE obtidos foram inferiores aos propostos pelo *IPCC*. Tais fatos sugerem que a adoção desse tipo de sistema pode ser uma alternativa de tratamento para a remoção de NH₄⁺ de efluentes concentrados em nitrogênio e com baixa carga orgânica, de modo a obter menor emissão de GEE e maior sustentabilidade do processo.

Além disso, esses resultados também mostraram que mesmo em condições de clima tropical (temperatura próxima de 25 °C), que podem favorecer a nitrificação e, conseqüentemente, intensificar a emissão de N₂O, os sistemas *MBBR* autotróficos se mostraram promissores na tentativa de se realizar o tratamento de correntes com distintas cargas de N amoniacal aplicadas emitindo menos N₂O-N que o proposto pelo *IPCC*.

No processo de remoção de N em efluentes, a nitrificação possui contribuição considerável na emissão de N₂O. A outra parcela da emissão é relativa à desnitrificação, que por não possuir aeração, emite menos N₂O e parte do que do é produzido nela somente é emitido na etapa aerada do processo de remoção de N. Com isso, geralmente nos processos reais, a emissão observada na etapa nitrificante pode representar a soma dos dois processos e a contribuição relativa a nitrificação pode ser de difícil determinação. Ressalta-se que nesse estudo foi possível mapear a quantidade de N₂O produzida e emitida somente pela etapa nitrificação, compreendendo melhor a dinâmica de produção desse gás nesta etapa, além de apresentar informações úteis para a previsão da emissão durante a operação de reatores nitrificantes em maiores escalas de processo.

4.4 – Perfil de biomassa e taxas específicas de remoção de N amoniacal

4.4.1 – Teor de sólidos suspensos e aderidos e observação do biofilme

Os diferentes perfis de sólidos durante os regimes operacionais auxiliaram na análise do comportamento do biofilme e da conversão dos compostos nitrogenados. Por se tratar de um sistema autotrófico, sem aporte de carga orgânica, esperava-se que a biomassa presente fosse majoritariamente autotrófica e que crescesse mais lentamente, necessitando de mais tempo para se adaptar às variações de cargas aplicadas, o que conferiu maior tempo de operação do estudo (620 dias). Além disso, os sistemas *MBBR* eram submetidos a baixo TRH (3 h) e agitação efetiva, ocasionando arraste dos sólidos suspensos que, porventura, se desprendessem do biofilme, diminuindo sua concentração e acúmulo nos reatores.

A Figura (4-15) apresenta o perfil de sólidos suspensos totais (SST) e suspensos voláteis (SSV) para os reatores R1 e R2 durante as variações de carga superficial amoniacal aplicadas, sendo também apresentada a relação SSV/SST.

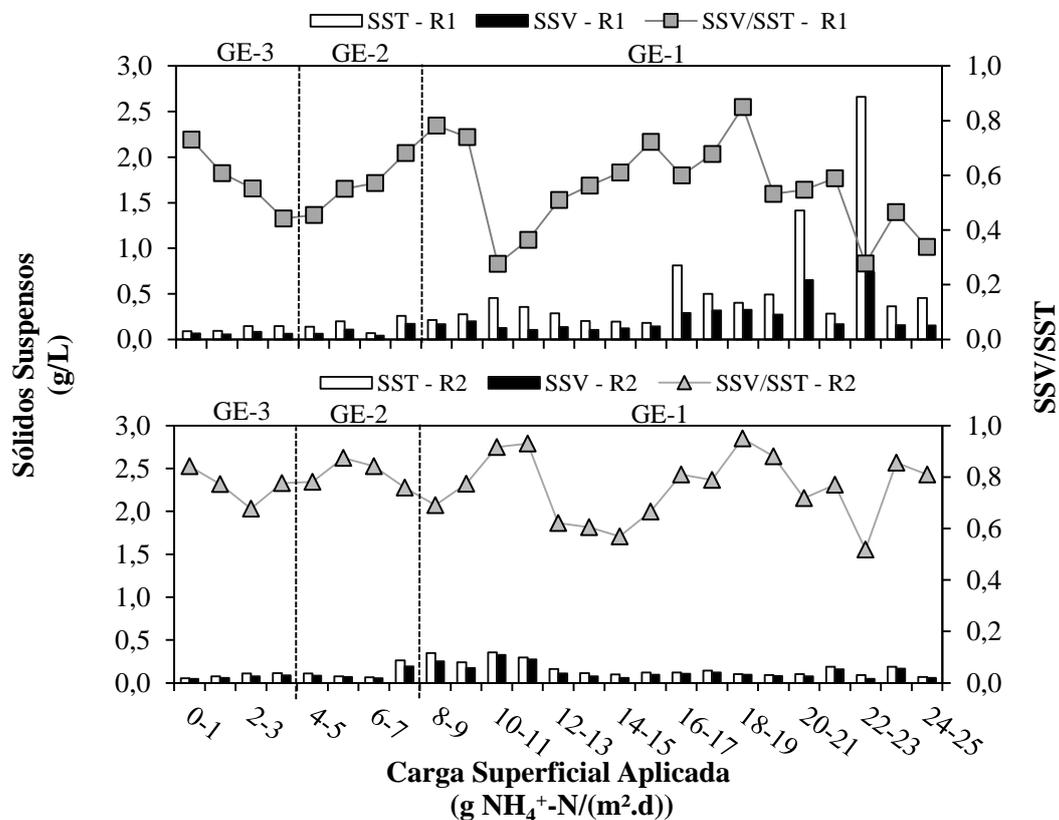


Figura 4-15: Perfis de SST, SSV e da fração SSV/SST para as cargas superficiais aplicadas aos reatores R1 e R2.

Durante os ensaios com baixas cargas aplicadas, ambos os reatores apresentaram os menores teores de SSV. No intervalo de 0 – 1 até 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$, em média, os reatores continham apenas 0,07 g SSV/L. Nesse intervalo, para o R1, a relação SSV/SST se manteve na faixa de 40 a 70 %, indicando considerável fração inorgânica no lodo.

Mesmo com o subsequente aumento das cargas aplicadas, os teores de SSV se mantiveram inferiores a 1 g/L. Entre as faixas de 7 – 8 a 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$, para o R1, a concentração de SSV se manteve entre 0,1 e 0,3 g/L, maiores concentrações observadas nas maiores cargas dentro o intervalo citado. No intervalo seguinte, de 20 – 21 a 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$, houve maior oscilação na concentração da biomassa suspensa, possivelmente, ocasionada pelo maior desprendimento de parte da biomassa aderida. O maior teor de SSV foi observado para o intervalo de carga de 22 – 23 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$, chegando a 0,7 g SSV/L, contudo, ressalta-se a maior fração inorgânica no lodo suspenso, com SSF atingindo 1,9 g SSF/L (72 % do SST) para essas mesmas condições. Tal fato pode estar associado à maior quantidade de lodo mineralizado que estava se desprendendo do biofilme do R1. O maior percentual de sólidos inertes foi observado nas maiores faixas de carga aplicada (22 – 23 a 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$), para as quais menos de 50 % da fração de SST correspondia ao material suspenso volátil.

Para o R2, as maiores concentrações de SSV foram obtidas nas faixas de cargas aplicadas de 7 – 8 a 11 – 12 g $\text{NH}_4^+\text{-N/ (m}^2\text{.d)}$, variando de 0,1 a 0,3 g SSV/L. O aumento progressivo das cargas, contudo, acarretou em menores teores de sólidos suspensos no sistema, em média 0,07 g SSV/L. A menor quantidade de SSV pode estar vinculada à capacidade de controle da espessura de biofilme conferida pela conformação do suporte Mutag Biochip. O limitado crescimento externo e a constante ação das forças de cisalhamento na superfície do suporte impedem a formação de camadas espessas de microrganismos que, porventura, se desprendem mais facilmente, permanecendo por um período suspensos no reator e posteriormente sendo arrastados com o fluxo hidráulico do sistema. De forma distinta ao reator R1, de 50 a 90 % dos sólidos suspensos é composto por SSV, indicando que a parcela suspensa do lodo apresenta maior quantidade de biomassa, possivelmente ativa.

A menor quantidade de sólidos suspensos no R2 e a maior facilidade de arraste desses sólidos, devido à menor quantidade de suportes nesse reator, é uma das possibilidades que lhe conferiram menor teor de SST. Para o R1 foram utilizados 100 suportes, nos quais foi formado um biofilme espesso e de mais fácil desprendimento,

enquanto para o R2 foram usados apenas 29 suportes, com biofilme mais aprisionado nos poros. A maior quantidade de suportes do reator R1 atuava como uma barreira física que mantinha parte dos sólidos suspensos no reator, que era arrastado em uma taxa inferior ao do R2.

Além da biomassa suspensa, foi determinado o teor de biomassa aderida (SAV) para os reatores. Para o suporte K1, usado no R1, devido à maior facilidade de remoção do biofilme aderido, a quantificação da biomassa imobilizada foi realizada de forma direta. Porém, para o suporte Mutag Biochip, empregado no R2, a remoção completa do biofilme dos poros não era possível, sendo assim, foi realizada a determinação indireta através do produto entre o SAT e a relação SSV/SST para cada condição estudada. Essa foi a alternativa para obtenção do SAV definida como a mais viável, conforme reportado por Fonseca e Bassin (2019).

A Figura (4-16) apresenta os perfis de SAT, SAV e as relações SAV/SAT frente às variações de carga de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicada para os reatores R1 e R2.

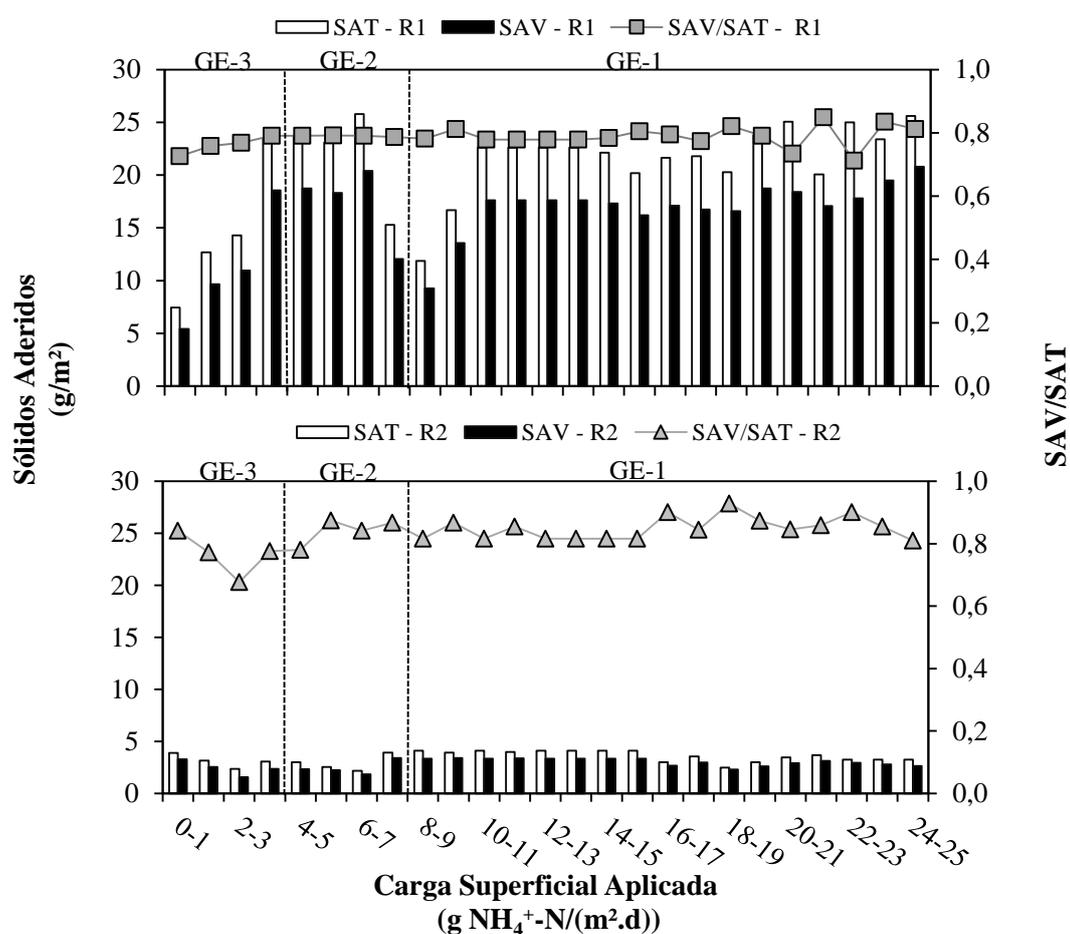


Figura 4-16: Teores de SAT, SAV e relação SAV/SAT frente às diferentes cargas superficiais de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicadas aos reatores R1 e R2 (área de 0,05 m²).

Apesar dos reatores possuírem a mesma área superficial teórica (0,05 m²), a diferença entre forma de adesão e de crescimento do biofilme nos dois tipos de suportes utilizados acarretou em variação entre os teores de sólidos aderidos nos dois sistemas. Além disso, de forma mais pronunciada para o reator R1, observa-se que quando o sistema foi submetido a menores cargas de N amoniacal, o teor de sólidos aderidos foi menor e aumentava em função do incremento da carga aplicada, atingindo uma determinada capacidade de preenchimento limite.

Para o R1, com o aumento gradual das cargas de 0 – 1 até 3 – 4 g NH₄⁺-N/(m².d), houve um aumento do teor de SAV no reator, e conseqüentemente, da espessura do biofilme. A concentração de SAV variou de aproximadamente 5 a 19 g SAV/m². Nas faixas subsequentes, houve pouca variação no teor de sólidos e somente para os intervalos de 7 – 8 até 9 – 10 houve redução do SAV, decrescendo para a faixa de 9 a 13 g/m². Tal variação pode ter sido relacionada ao desprendimento de parte da biomassa inativa, corroborando com o ligeiro aumento na quantidade de SSV do sistema para essas faixas.

Ao se elevar a carga de N amoniacal afluyente, foi observado um aumento visual da espessura do biofilme e por consequência maior teor de SAV, mantido na faixa de 16 a 21 g/m² durante as cargas testadas de 15 – 16 a 24 – 25 g NH₄⁺-N/(m².d). Para esse reator, a fração inorgânica dos sólidos aderidos (SAF) se manteve entre 20 e 30 % do total de sólidos imobilizados (SAT) durante todo o período experimental, o que indica que a maior parte do conteúdo era relativa à fração orgânica, composta pelos microrganismos e EPS associada.

Para o R2, observou-se menor diferença entre os teores de SAV e SAT para as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas. Esses teores variaram entre 1,6 e 3,6 g SAV/m² e 2,2 e 4,1 g SAT/m², respectivamente. Além disso, realizando um comparativo entre os teores máximos de SAV e SAT dos dois reatores, foi possível observar que as quantidades máximas obtidas no R2 correspondem a aproximadamente 17 % do valor máximo de SAV e 15 % do SAT determinados no R1 (20,8 g SAV/m² e 25,8 g SAT/m²).

Ashkanani *et al.* (2019), estudando diversos sistemas de tratamento secundário que visavam a remoção de N com diferentes tipos de suportes e temperaturas, observaram que para concentrações de N afluyente em torno de 65 mg N/L, os teores de SAV se mantinham constantes. Para o *MBBR* preenchido com o suporte K1, os autores observaram concentração média de 5 mg SAV/suporte. Realizando o comparativo para condições aplicadas similares, essa concentração obtida é superior à do teor de SAV para a concentração de aproximadamente 60 mg NH₄⁺-N/L no reator R1, isto é, 1,4 mg

SAV/suporte. No presente estudo, a ausência de aporte de matéria orgânica restringe o crescimento dos organismos heterotróficos, de modo a selecionar os organismos nitrificantes, de crescimento mais lento, conferindo menores teores de SAV aos reatores.

Em sistemas *MBBR* convencionais, a fração de biomassa volátil aderida é responsável pela maior parte da biodegradação dos compostos poluentes enquanto que a contribuição da fração suspensa geralmente é pequena (GONG *et al.*, 2012). Alguns estudos evidenciam, porém, que em sistemas onde a carga orgânica aplicada é elevada, há o aumento da espessura do biofilme formado no suporte. Nesses casos, o desprendimento do biofilme torna-se mais pronunciado e a biomassa suspensa responsável pela conversão de parcela considerável do N afluente (BASSIN *et al.*, 2016).

A Figura (4-17a) apresenta os perfis comparativos entre o SAV, o SSV e, também, os perfis carga de N amoniacal removida para cada reator. As razões (em percentual) entre os SAV e SSV e os respectivos teores de sólidos voláteis totais (SVT) para os dois reatores (SAV/SVT e SSV/SVT) são também apresentadas (Figura (4-17b)). Para essa análise, o conteúdo de SAV foi expresso em massa por volume de reator (g SAV/L), de modo a permitir a comparação com os sólidos suspensos SSV.

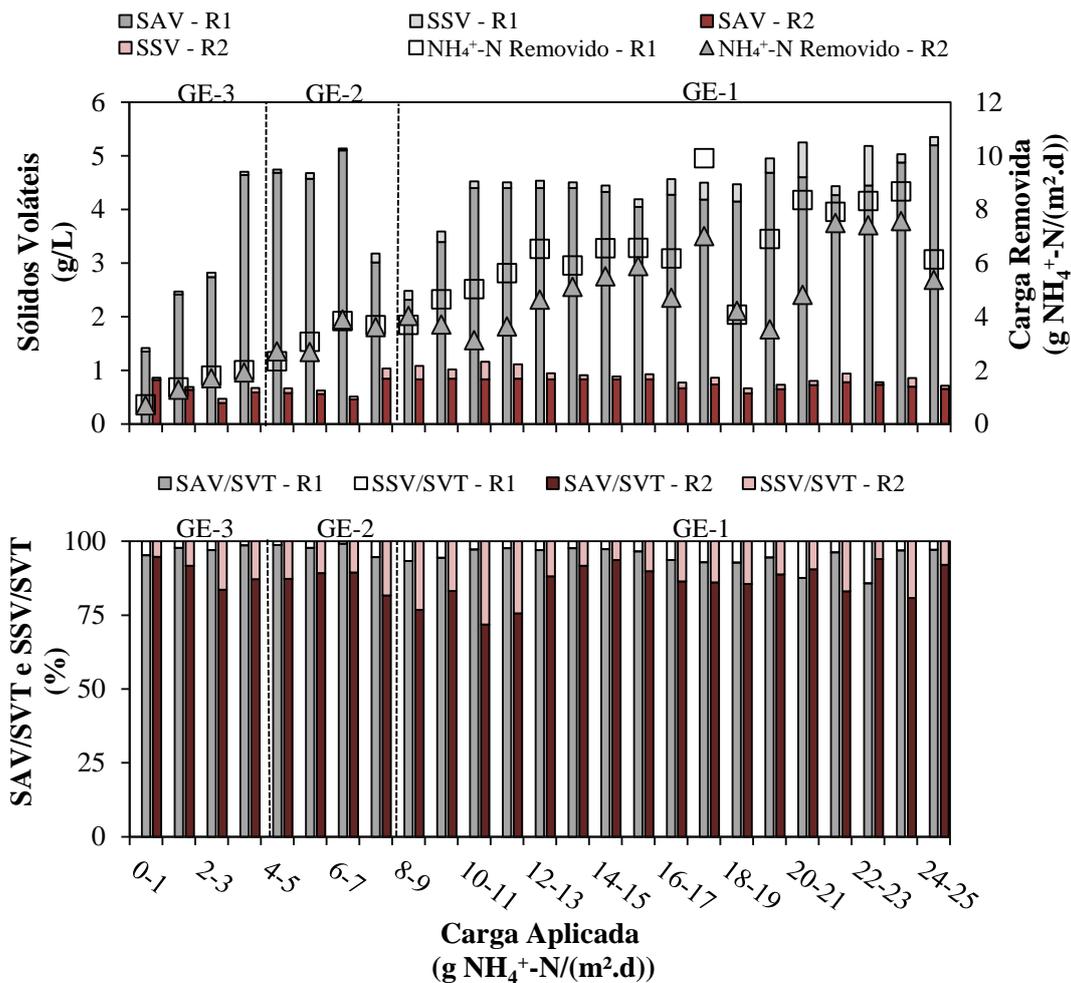


Figura 4-17: Perfil de SAV e SSV (em g/L) e da razão (em percentual) entre os sólidos suspensos e aderidos voláteis e os sólidos voláteis totais (SSV/SVT e SAV/SVT) para os reatores R1 e R2.

Durante o GE-3 (0 – 1 a 3 – 4 g NH₄⁺-N/(m².d)), no reator R1, observou-se que havia o incremento dos teores de SVT com o aumento da quantidade de N amoniacal removida. Praticamente todo aumento do SVT foi ocasionado pelo incremento do teor de SAV, muito maior que o SSV. Nas faixas 4 – 5 a 6 – 7 g NH₄⁺-N/(m².d), prosseguiu-se com notório aumento da remoção N amoniacal, mas o teor de SVT se elevava com menor intensidade que nas cargas aplicadas anteriores, passando de 4,6 para 5,1 g SVT/L. Nessa faixa, visualmente, o biofilme já preenchia completamente a superfície disponível para crescimento no suporte K1.

Ainda para o R1, nas cargas aplicadas de 7 – 8 a 8 – 9 g NH₄⁺-N/(m².d), houve uma redução dos teores de SVT para a faixa de 3,1 a 2,6 g SVT/L e a remoção de N amoniacal se manteve próxima à da carga aplicada anterior, em torno de 3,7 g NH₄⁺-N/(m².d). Essa tendência sugere o desprendimento de parte de biomassa aderida que já não estava mais ativa, possivelmente por ter sofrido inibição devido aos maiores teores

dos agentes inibitórios presentes no sistema. O subsequente aumento dos teores de SVT sugerem a readaptação da biomassa, que se manteve com pouca variação até a faixa aplicada de 18 – 19 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. O aumento da remoção de N amoniacal observado ao longo desse intervalo sugere maior atividade dos organismos nitrificantes.

Em faixas superiores a 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, houve um ligeiro aumento do teor de SVT, com acréscimo da fração volátil suspensa, que para o R1, em geral, representou menos que 10 % da fração volátil total. Somente para as cargas mais elevadas, de 20 – 21 e 22 – 23 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, a relação SSV/SVT aumentou para a faixa entre 12 a 14 %.

Para o R2, as concentrações de SVT foram menores que as obtidas no R1, fato justificado pelas diferentes formas de crescimento dos microrganismos nos suportes. Apesar das menores concentrações de SVT, a remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aumentou ao longo dos incrementos de carga aplicada, atingindo valores de remoção pouco menores que o R1 com uma quantidade muito menor de SVT (variação de 0,4 a 1,1 g SVT/L durante os intervalos aplicados). Esse fenômeno sugere que a biomassa presente no Mutag foi mais ativa e, portanto, com maior capacidade de oxidação de amônio. Esse parâmetro será discutido mais detalhadamente no tópico (4.4.2)

Houve um pequeno aumento do teor de SVT, observado a partir da carga aplicada de 7 – 8 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$. A partir dessa faixa, o sistema se manteve com poucas variações na quantidade de biomassa. Esse resultado, juntamente ao aumento no teor de SSV, sugerem o preenchimento dos poros do suporte, que supostamente, atingiu sua capacidade de adesão limite.

Maiores quantidades de SVT foram observadas para o reator R2. Para esse, em média, 15 % dos SVT estava em suspensão, contudo, entre o intervalo de 7 – 8 até 11 – 12 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, a razão SSV/STV aumentou, variando de 17 a 28 %. Esse resultado está possivelmente associado aos menores teores de sólidos aderidos presente nos suportes Mutag Biochip no R2, nos quais o crescimento do biofilme era limitado pela espessura do próprio suporte poroso.

Bassin *et al.* (2016), ao avaliarem a remoção de matéria orgânica e de N em sistemas *MBBR* também preenchidos com os suportes K1 e Mutag Biochip, constataram diferença entre os teores de biomassa para os dois sistemas, operando com a mesma área superficial. A biomassa aderida (teor de SAV) para o reator preenchido com o suporte K1 variou entre 15 e 27 g SAV/m² e para o reator com o suporte Mutag Biochip entre 5 e 10 g SAV/m². A condição empregada para o crescimento dos organismos autotróficos

nitrificantes no R1 e R2, com ausência de matéria orgânica afluyente, justifica os menores valores de SAV obtidos nessa pesquisa. No mesmo trabalho, os autores observaram que aumento da carga orgânica aplicada também acarretou em maiores frações de SSV nos dois reatores.

As diferenças entre a forma de adesão dos biofilmes formados no suporte K1 e no Mutag Biochip foram monitoradas, com auxílio de um estereoscópio, para algumas faixas de carga de N amoniacal aplicadas, conforme apresentado na Figura (4-18).

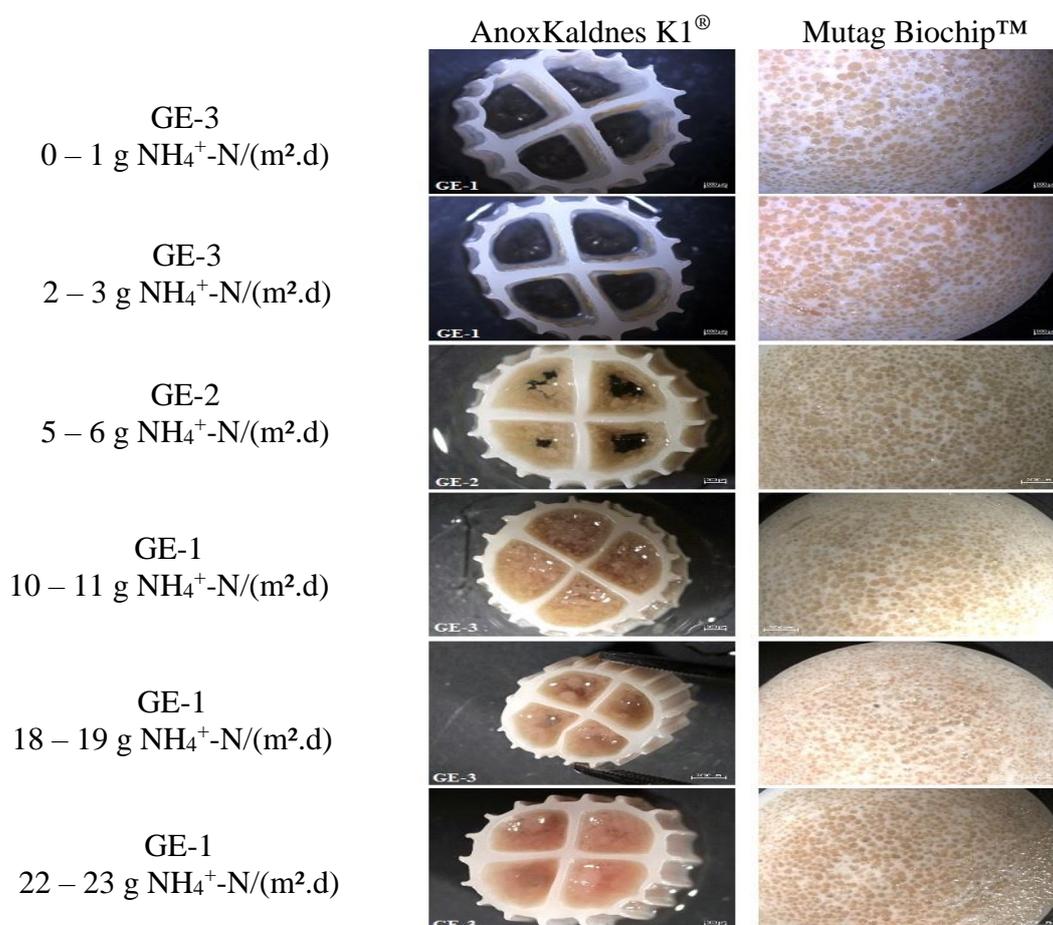


Figura 4-18: Imagens obtidas em estereoscópio relativas ao biofilme autotrófico aderido aos suportes AnoxKaldnes K1 (R1) e Mutag Biochip (R2) em função do aumento da carga de N amoniacal aplicada.

Para o R1, quando mantido sob baixa carga de N amoniacal aplicada, o biofilme contido no suporte K1 era bem fino. A espessura aumentou em função do incremento da carga até que todo o espaço interno do suporte fosse preenchido, o que foi observado a partir da faixa de carga aplicada de 5 – 6 g NH₄⁺-N/(m².d). Para o R2, até mesmo em baixas cargas, os suportes já apresentavam coloração amarelada nos pequenos poros, indicando crescimento microbiano. O aumento da carga somente ocasionou a

intensificação da coloração da biomassa nos suportes Mutag Biochip, que passou a apresentar cor alaranjada. Ainda para o R2, foi possível observar, de maneira qualitativa e visual, que o tempo para que o suporte vazio adquirisse coloração e biofilme similar aos suportes que já estavam no reator foi maior, por volta de 25 dias, enquanto para o K1 foi, em média, de 15 dias.

No suporte K1, o crescimento do biofilme se dá na estrutura interna e vazada do suporte. O maior espaço livre entre as peças, protegido dos choques hidráulicos decorrentes da movimentação do líquido no reator, proporciona uma região propícia para o aumento da espessura do biofilme formado e, conseqüentemente, leva ao aumento do teor de SAV, regulado pela carga amoniacal aplicada ao sistema. Contudo, quando se trata de um biofilme autotrófico, parte da biomassa mais interna pode ter sua atividade comprometida por conta de problemas co-difusionais de nutrientes (PICULELL *et al.*, 2016).

A estrutura parabólica do meio suporte Mutag Biochip, aliada à presença de microporos internos, favorece a formação de um biofilme com espessura limitada e, conseqüentemente, menores teores de SAV. Além disso, a maior propensão ao entupimento dos poros com biofilme (células microbianas e EPS) ou com possíveis incrustações de natureza química podem reduzir a área superficial disponível para colonização das bactérias no suporte.

Forrest *et al.* (2016) reportaram que a seleção de suportes com maiores áreas superficiais para sistemas de tratamento que visem a remoção terciária de altas cargas nitrogenadas utilizando *MBBR* pode acarretar em pior desempenho devido à maior propensão ao entupimento dos mesmos e, com isso, maior tempo de adaptação a variações bruscas de cargas aplicadas. Nesse estudo, os autores observaram que a eficiência de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ reduziu 16 % quando o suporte AnoxKaldnes P estava colmatado. Esse e outros trabalhos apontam que o tipo de suporte escolhido para a operação de sistemas *MBBR* deve ser um fator a ser considerado no projeto dos reatores e não somente a área superficial teórica (BASSIN *et al.*, 2016; FORREST *et al.*, 2016).

No presente estudo, em especial no GE-1, foi constatada diferença significativa na eficiência de remoção de altas cargas aplicadas de N em função do tipo de suporte usado, sendo o R1 mais eficiente. Isso pode estar associado com a capacidade distinta de retenção de sólidos em cada tipo de suporte. O reator R2, preenchido com o suporte Mutag Biochip apresentou menor quantidade de biomassa aderida, causado em parte pela colmatação do suporte e pelo alcance de um limite para imobilização de microrganismos.

Já o R1 foi preenchido com o suporte Kaldnes K1 permite, como já mencionado, o crescimento na estrutura interna vazada.

Foster *et al.* (2016) ainda ressaltaram que, para baixas e moderadas cargas (0,9 a 1,9 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$), o dimensionamento de *MBBR* nitrificantes pode ser realizado levando em conta somente a área superficial de crescimento, visto que o tipo de suporte não apresentou diferença significativa na remoção de N, nas mesmas condições de carga superficial aplicada. A mesma conclusão pode ser obtida ao se comparar o desempenho do R1 (com suporte AnoxKaldnes K1) e do R2 (com suporte Mutag Biochip) em baixas cargas de N no GE-3.

As taxas de desprendimento de sólidos do biofilme para cada intervalo de carga nitrogenada aplicada são apresentadas na Figura (4-19).

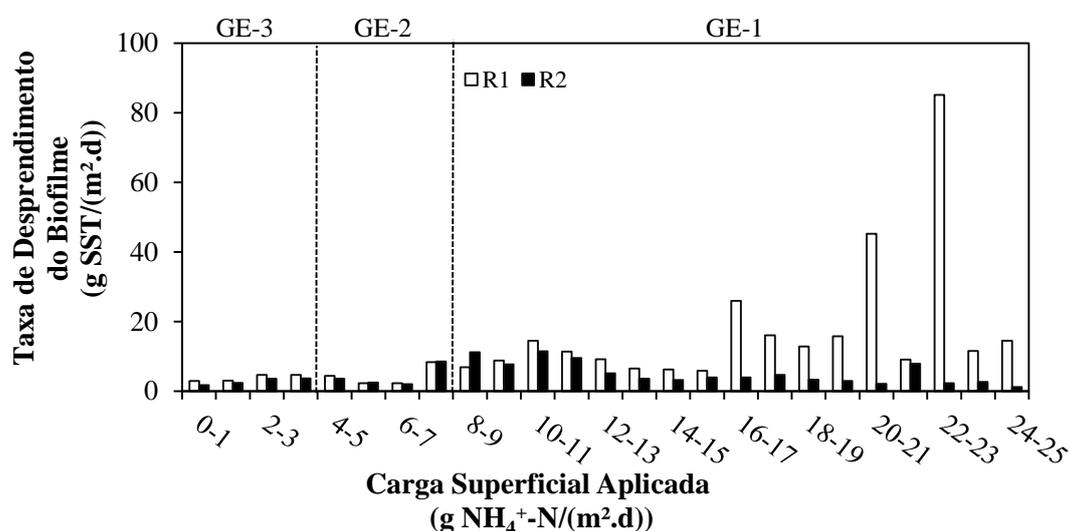


Figura 4-19: Taxas de desprendimento de biofilme em função da carga nitrogenada aplicada para os reatores R1 e R2.

Em baixas cargas aplicadas (GE-3 e GE-2), as taxas de desprendimento para os dois sistemas são similares, em média 3,4 e 2,7 g SST/ $\text{m}^2.\text{d}$ para o R1 e R2, respectivamente. Com o aumento gradual da carga para o intervalo de 7 – 8 até 10 – 11 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, houve o aumento da taxa média de desprendimento para 9,9 e 9,7 g SST/ $\text{m}^2.\text{d}$ para os reatores R1 e R2, respectivamente. Tal fato pode ser resultado da seleção dos organismos presentes no biofilme frente ao ambiente mais extremo devido à maior concentração de agentes inibidores (NH_3 livre e HNO_2) e nitrito acumulado. Há o aumento do decaimento celular dos organismos mais sensíveis e, como consequência, maior desprendimento. Parte dos organismos que resistem às mudanças de condições

necessitam de maior tempo de adaptação. Após essa adaptação às cargas mais elevadas, houve um decréscimo da taxa de desprendimento para, em média, 7,8 e 4,9 g SST/(m².d) nos reatores R1 e R2, respectivamente.

Ashkanani *et al.* (2019) observaram taxas de desprendimento de biofilme variando entre 4 e 7 % para sistemas nitrificantes com cargas aplicadas baixas e intermediárias, utilizando suporte Kaldnes K1. Realizando a relação percentual entre os sólidos desprendidos e o SAT presente nos suportes, para o reator R1, obteve-se uma relação de em média 1 a 8 % de desprendimento de biofilme, próxima à reportada por esses autores.

Para o R1, nas condições mais elevadas de carga de N amoniacal aplicada (21 – 22 a 24 – 25 g NH₄⁺-N/(m².d)), com o maior teor de SAV, foi observado o aumento das taxas de desprendimento do biofilme, que variaram de 9 a 85 g SST/(m².d). Isso reitera a instabilidade do reator, não só em relação à remoção de N amoniacal e emissão de N₂O, mas também para a dinâmica de formação do biofilme relativamente espesso que coloniza o suporte. O R2, em contrapartida, mesmo se mostrando instável na remoção de N amoniacal, não apresentou variações grandes na taxa de desprendimento, uma vez que os poros já tinham seus espaços preenchidos e a biomassa aderida era mais ativa.

4.4.2 – Capacidade de remoção específica de NH₄⁺-N e emissão específica de N₂O-N dos *MBBR* nitrificantes

Durante todos os experimentos, a área superficial para crescimento do biofilme foi mantida constante, o que acarretou em diferenças significativas no teor de biomassa presente em cada reator em função do tipo de suporte utilizado. Dessa forma, a atividade específica de remoção de N de cada sistema foi diferente. A Figura (4-20) apresenta a relação entre a remoção de NH₄⁺-N e a quantidade de biomassa, isto é, a taxa específica de remoção de NH₄⁺-N. Para efeito de comparação, também são mostradas as cargas de nitrogênio amoniacal removidas nos reatores para cada faixa de carga aplicada.

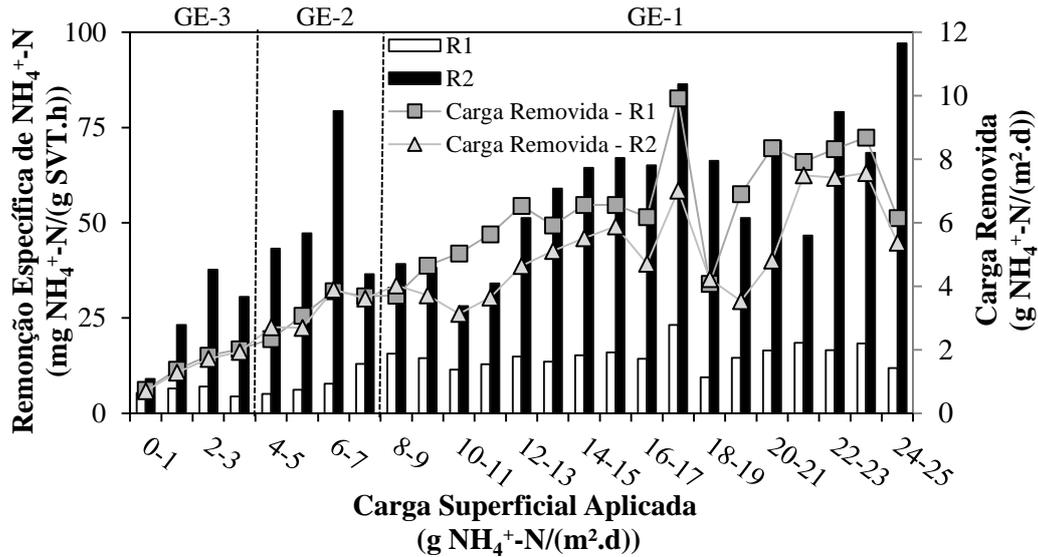


Figura 4-20: Remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e carga removida para cada faixa de carga aplicada para os reatores R1 e R2.

Para todas as cargas afluentes, a comunidade nitrificante presente no reator R2 apresentou maiores taxas específicas de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, o que sugere maior atividade nitrificante da biomassa contida nesse reator. Mesmo com menores teores de biomassa aderida (SAV), os microrganismos nitrificantes apresentaram capacidade de remoção de N amoniacal em quantidades próximas às do reator R1, que possuía teor de SVT 6 vezes superior. Vale lembrar que o teor de SSV em ambos os reatores foi próximo (variando de 0,1 a 0,7 g SSV/L para e de 0,1 a 0,3 g SSV/L para o R2).

Também foi possível observar que, de forma geral, em ambos os reatores houveram intervalos de carga aplicada em que a comunidade nitrificante apresentava maior sensibilidade às alterações das condições aplicadas, e que com a variação gradual da carga, havia a restabilização da remoção específica dos sistemas. Essa tendência foi facilmente notada no R2, em que ocorreu o aumento da remoção específica em função do aumento da carga aplicada até a faixa de 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, decaindo na faixa seguinte e gradativamente aumentando até a faixa de 18 – 19 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

No grupo de ensaio GE-3, a remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ no reator R1 variou entre 4 e 7 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$. Nessas condições, houve um aumento gradual da remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em consonância ao incremento do teor de sólidos voláteis, evidenciado, também, pelo aumento visual da espessura do biofilme. Para o R2, houve um acréscimo na remoção específica, entre 9 e 38 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$. Essa tendência se manteve até a faixa de carga aplicada de 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, para a qual se alcançou uma taxa de 79 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$.

Em cargas aplicadas de 0,8 e 1,6 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, Bassin *et al.* (2016) obtiveram remoção específica de N nas faixas de 3,8 a 8 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$ em um *MBBR* preenchido com suporte K1 e na faixa de 2 a 3,9 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$ ao utilizar o suporte Mutag Biochip. Contudo, os sistemas operavam em presença de matéria orgânica. Os valores obtidos para o R1, nas faixas de 0 – 1 e 1 – 2 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, foram próximos do reportado por esses autores. No entanto, a ausência de carga orgânica no R2, comparando o mesmo intervalo citado para o R1, proporcionou maior atividade nitrificante dos organismos autotróficos, de 3 a 5 vezes superior à observada na literatura.

Ao fim do GE-2, o reator R1 apresentou um pequeno aumento no perfil de remoção específica, decorrente da redução de teor de SVT do sistema, menor espessura do biofilme e assim, maior capacidade nitrificante específica. Ao ser retomada a concentração de SVT, a remoção específica se manteve constante durante quase todo GE-1, e somente nas faixas de 17 – 18 e 18 – 19 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ ocorreu o aumento com posterior redução da remoção específica de 23 para 9,5 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$, fato consonante com a redução da quantidade de N amoniacal removido para essas faixas.

Para o R2, no GE-2, a redução da atividade foi observada na faixa de carga de 7 – 8 e novamente na de 10 – 11 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, na qual se iniciou a diferenciação entre as capacidades de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ dos reatores, com o R1 possuindo remoção superior. A partir das cargas aplicadas de 19 – 20 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, a remoção específica do reator R2 passou a ter comportamento mais oscilatório, alcançando o valor máximo de 97 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$ no intervalo de 24 – 25 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$.

Blum *et al.* (2018) observaram taxas de remoção específica de N em torno de 24 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$ em um RBS operando em ciclos de longa duração, alimentado com afluente com concentração de aproximadamente 300 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$ e ausência de matéria orgânica. Para valores próximos a essa concentração (correspondente, no presente estudo, ao intervalo de carga aplicada de 9 – 10 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$), foram obtidas as taxas específicas de remoção de N amoniacal de 14 e 38 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT.h})$ para os reatores R1 e R2, respectivamente.

Os resultados sugerem que a biomassa presente no reator R2 apresentou maior atividade nitrificante. Diante da menor espessura do biofilme formado e com isso menores distâncias difusionais, a comunidade de BOA, mesmo em menor quantidade absoluta se comparada à do R1, foi capaz de converter mais $\text{NH}_4^+\text{-N}$ por quantidade de biomassa. Em contrapartida, esse mesmo sistema também era mais exposto aos agentes inibitórios, o que favoreceu, por exemplo, a supressão da atividade das BON pela NH_3 livre, levando,

com isso, a uma maior relação $\text{NO}_2^- \text{-N}/\text{NO}_x^- \text{-N}$ efluente. Sob altas cargas de N amoniacal aplicadas, a inibição caracterizou a menor capacidade de remoção mássica de NH_4^+ .

A presença de um biofilme denso pode conferir maior proteção das bactérias a agentes inibitórios, contudo, dificulta o seu acesso aos substratos, o que pode reduzir a atividade dos organismos aeróbios autotróficos, conforme observado no R1. Em estudo de simulação da remoção de N por sistema autotrófico com biofilme, Peng *et al.* (2016) observaram que além do controle de carga aplicada e do OD, ao se realizar o controle da espessura do biofilme em valores inferiores a 1000 μm , havia maior capacidade de nitrificação do sistema.

Em termos de operação de sistemas *MBBR* visando à remoção de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, a otimização da superfície ativa no suporte se torna mais importante que a maximização do teor de biomassa total do sistema. Essa maximização também afetou as emissões de $\text{N}_2\text{O-N}$, conferindo diferentes perfis aos dois sistemas, conforme apresentado na Figura (4-21).

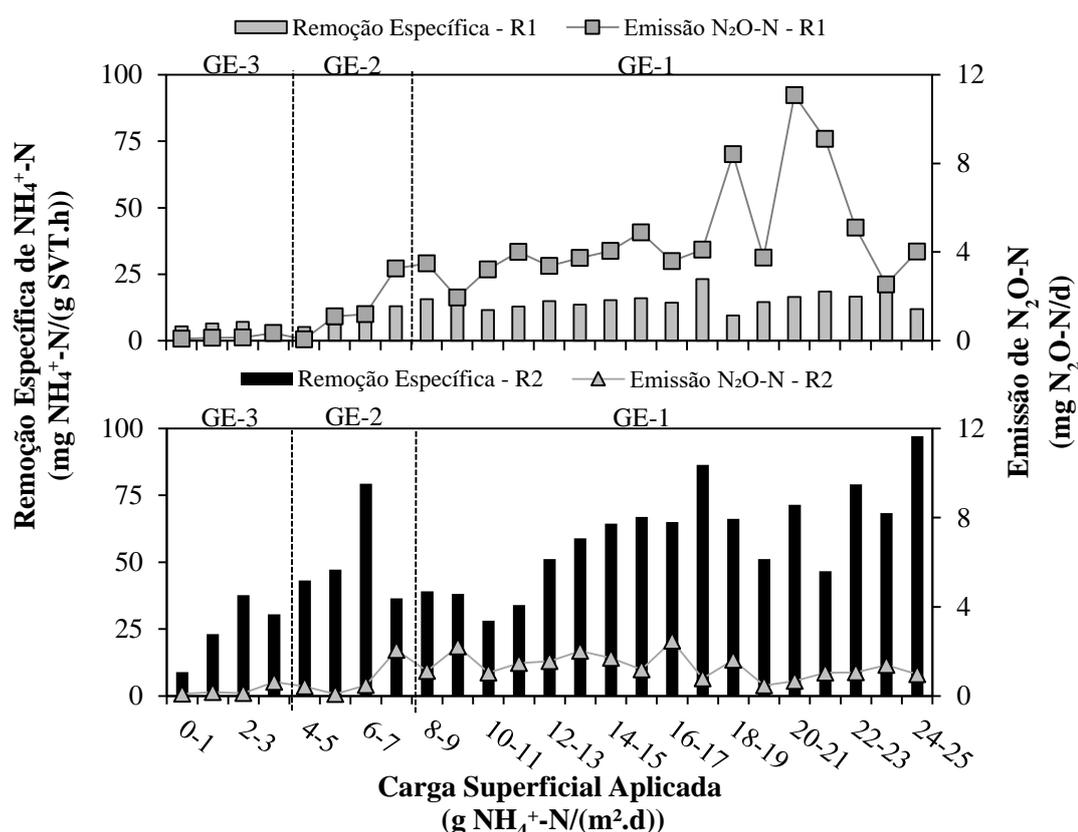


Figura 4-21: Perfis de remoção específica de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ e de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os reatores R1 e R2.

Quando o sistema operava em condições de baixa carga de substrato aplicada, mesmo com distintas atividades de remoção específica de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, as emissões de N_2O

permaneceram baixas para os dois tipos de suportes testados. A partir da carga aplicada de 6 – 7 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, foi observada uma distinção entre os perfis de emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ dos dois sistemas, com o reator R2 mais ativo e com menos SAV apresentando menor emissão frente ao R1 (com diferença para a faixa de 14 – 15 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), mantendo igual tendência mesmo com o aumento da carga de N amoniacal aplicadas nos reatores.

Ainda para o R1, foi possível perceber que o aparecimento de um perfil crescente da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ se dava a partir do aumento da taxa de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, após a faixa de 5 – 6 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, embora isso não tenha sido claramente observado para o R2. Yu *et al.* (2010) e Kong *et al.* (2013a) evidenciaram uma correlação positiva entre o aumento da remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e a emissão de N_2O .

As menores capacidades de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ do reator R1, também causadas pela maior quantidade de SAV e pela maior espessura do biofilme, podem ter acarretado a produção de N_2O em regiões mais internas do biofilme, através da degradação da NH_2OH a N_2O . Com os elevados teores de OD e as condições autotróficas, o N_2O era difundido para o meio líquido e emitido pela aeração forçada e contínua, não ocorrendo consumo interno desse gás.

Já o R2, com um biofilme mais ativo e menos espesso, possuía condições mais propícias para a conversão da NH_2OH em NO_2^- , reduzindo a quantidade de N_2O emitido, mesmo nas cargas nitrogenadas aplicadas mais elevadas. Além disso, vale mencionar que nessas condições, para as quais os reatores apresentaram maior atividade de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ foi menor, possivelmente devido à maior capacidade de metabólica das BOA.

A Figura (4-22) apresenta a análise da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ em função do teor de SVT dos sistemas, isto é, a emissão específica de $\text{N}_2\text{O-N}$.

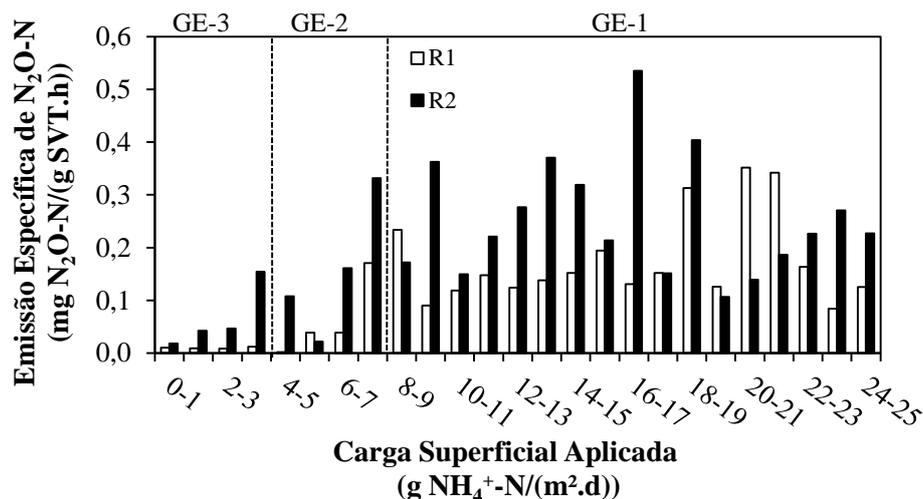


Figura 4-22: Comparativo entre a emissão específica de N₂O-N para os reatores R1 e R2.

O sistema R2, que apresentava teores de SVT em média 6 vezes inferiores aos do R1, apresentou, para quase todos os regimes, maior emissão específica de N₂O-N, de forma que a maior atividade das BOA no biofilme, juntamente com a maior exposição a choques de carga, possa ter estimulado também as conversões da NH₂OH a N₂O. Contudo, a menor quantidade de organismos no R2 conferiu valores menores de taxa global de emissão (mg N₂O-N/d) para esse reator.

Em contrapartida, o R1, mesmo com teores mais altos de SVT e a baixa atividade de parte do biofilme contido em camadas mais internas do suporte, produziu maiores quantidade de N₂O, porém a uma taxa específica inferior. Esse resultado sugere que, caso esse sistema estivesse operando com menores teores de sólidos aderidos e com biomassa mais ativa (biofilme mais fino), a quantidade de N₂O emitido pudesse ser menor e a capacidade de remoção da carga de N amoniacal afluente pouco afetada ou até estimulada. Há, portanto, a necessidade de se maximizar não somente o teor de sólidos aderidos no reator, mas também a área efetiva de contato dos microrganismos responsáveis pela nitrificação, especialmente quando altas cargas nitrogenadas são aplicadas.

Além disso, ao se realizar a correlação entre a remoção específica de NH₄⁺-N e a emissão de N₂O-N, pode-se observar que os maiores coeficientes de correlação (r) e correlações de Pearson foram obtidos para o reator R1, conforme apresentado na Tabela (4-3). Os gráficos relativos a essas correlações estão disponíveis no Anexo (b), Figuras (7-32 e 7-33).

Tabela 4-3: Coeficientes de correlação (r) e de Pearson (ρ) entre a taxa de remoção específica de NH₄⁺-N e a taxa de emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d), para os reatores R1 e R2.

Parâmetro	Coeficiente de Correlação (r)		Correlação de Pearson (ρ)	
	R1	R2	R1	R2
Remoção específica de NH ₄ ⁺ -N	0,692	0,221	0,605	0,201

De maneira geral, para o reator R1, a emissão de N₂O está bastante relacionada com a remoção específica de NH₄⁺-N. A maior proteção dos microrganismos nas camadas internas do biofilme juntamente com a menor atividade dos organismos nitrificantes conferiu maiores efeitos de outros parâmetros intensificadores da emissão de N₂O, como por exemplo, o NO₂⁻ acumulado nesse reator. Nas cargas aplicadas mais elevadas, o efeito inibitório da NH₃ livre pode ter reduzido a relação entre as taxas específicas de remoção de NH₄⁺-N e de emissão de N₂O, em especial para o R2, para qual a dinâmica entre efeitos dos parâmetros influenciadores da geração de N₂O se tornou ainda mais complexa que a observada no R1, devido ao biofilme mais exposto presente nesse sistema, levando aos menores valores de correlações observados.

Blum *et al.* (2018) relataram que a taxa específica de emissão de N₂O em um sistema RBS que realizava o processo de nitrificação-*anammox* apresentou correlação forte e linear com a remoção específica de NH₄⁺-N. Quando o sistema era alimentado com alta concentração de NH₄⁺-N (300 mg N/L), taxas específicas de remoção de NH₄⁺-N acima de 5 mg NH₄⁺-N/(g SSV.h) foram obtidas, e as taxas específicas de emissão de N₂O-N encontravam-se em torno de 0,45 a 1,8 mg N₂O-N/(g SSV.h), com coeficiente de determinação (r²) de 0,97 entre essas duas variáveis.

Mesmo com a grande diferença no teor de SVT entre os dois reatores (maior SVT no R1), os resultados revelaram que ambos removeram quantidades consideráveis e comparáveis de NH₄⁺-N devido às diferenças na atividade específica de remoção de NH₄⁺-N (biofilme com maior atividade no R2). A Figura (4-23) apresenta um comparativo de desempenho médio dos sistemas para cada grupo de ensaio (GE-3, GE-2 e GE-1), levando em consideração a capacidade média de remoção N amoniacal e de emissão de GEE (contabilizado em termos de emissão de N₂O-N), de modo a verificar diferenças significativas devido ao uso de suportes diferentes, propondo alternativas de operação mais sustentáveis e eficazes para a etapa de nitrificação. A Tabela (7-7), que apresenta os p-valores calculados para essa análise, está disposta no Anexo (b).

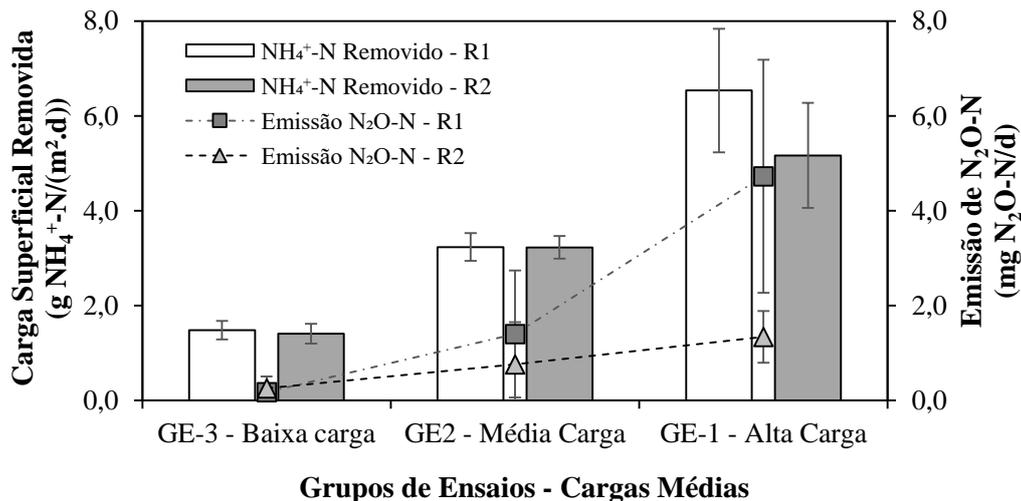


Figura 4-23: Comparativo entre o desempenho médio de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ para os reatores durante os grupos de ensaios realizados.

Quando submetidos à baixas cargas nitrogenadas superficiais, GE-3 que apresentava cargas aplicadas de 0 – 1 a 3 – 4 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, concentrações afluentes de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ variando entre 30 e 120 $\text{mg NH}_4^+\text{-N}/\text{L}$, os dois sistemas apresentaram desempenho de remoção de N amoniacal similares e pequenas quantidades, também similares, de $\text{N}_2\text{O-N}$ foram emitidas, de forma que, nessas condições, o tipo de suporte não teve grande influência nesses parâmetros. Também não foi observada diferença na remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ para o GE-2 entre os dois *MBBR* e mesmo com a emissão média do R2 sendo 41 % menor que a do R1, não houve diferença significativa entre elas ($p > 0,05$).

Já para o GE-1, a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ do R2 foi 71 % inferior à do R1, além disso, sua remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ foi 20 % inferior à do R1. Ambos valores apresentaram significância a $p < 0,05$, ou seja, foram diferentes entre si.

Dessa forma, a utilização do suporte Mutag Biochip em sistemas *MBBR* operando em faixas de carga de N amoniacal aplicada de 8 – 9 até 24 – 25 $\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ pode vir a ser uma alternativa para a redução da emissão de GEE total de uma ETE, por exemplo, em etapas de tratamento de efluentes ricos em N e com baixa carga orgânica, como por exemplo o efluente de desague de lodo, previamente digerido anaerobicamente.

Vale ressaltar também que em maiores faixas de carga de N amoniacal aplicada (GE-1), apesar da menor emissão do R2, existe a questão da limitação da capacidade mássica de remoção do sistema, de modo que a quantidade de N amoniacal removida deve ser considerada como fator importante para as seguintes etapas de tratamento que possam ser realizadas, de modo a garantir uma remoção global efetiva de N. Além disso, tanto no GE-2 quanto no GE-1, deve-se levar em conta a maior capacidade de nitrificação

completa do reator R1, que foi capaz de converter maiores teores de NO_2^- a NO_3^- . Caso o objetivo seja realizar a nitrificação parcial para combinar ao processo *anammox*, o reator R2 pode apresentar maior aplicabilidade devido à sua maior capacidade de supressão das BON e consequente acúmulo de NO_2^- .

As Figuras (4-24) e (4-25) apresentam as condições aplicadas e os parâmetros de respostas analisados em cada grupo de ensaio, de modo a gerar um resumo de operação do sistema e na resposta de produção de N_2O . Além disso, no Anexo (c) são apresentados dois mapas qualitativos relativos às possibilidades de emissão de N_2O (baixa, média e alta) frente às combinações de carga de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ aplicada, NH_3 livre e NO_2^- efluente, mostrando a complexidade do processo de emissão de N_2O . Esses dados podem servir como auxílio para a operação de *MBBR* nitrificantes em larga escala e na proposição de modelos matemáticos mais realistas para *MBBR*, levando em consideração tanto o tratamento da corrente líquida como a emissão de N_2O , de modo a encontrar uma solução de compromisso entre o maior desempenho da planta e a minimização da sua pegada de carbono.

Vale ainda ressaltar que a elaboração de mapas de possibilidades de emissão é complexa, visto a grande quantidade de parâmetros operacionais que influenciam na emissão e que devem ser consideradas simultaneamente. E devido à grande variabilidade de condições obtidas quando os sistemas operavam em condições de média e elevada carga de N amoniacal, tal tarefa se torna ainda mais complicada.

A utilização de análise multivariada de dados pode ser uma alternativa para a obtenção das condições mais relevantes, que possam ser consideradas para estudos em escalas ampliadas. Essa ferramenta pode ser uma aliada para permitir a operação de estações de tratamento com satisfatória remoção de N na corrente líquida e com menores quantidades de carbono equivalente emitidas. Isso confere maior crédito de carbono a ETE e pode servir como estratégia de otimização do uso desse crédito, principalmente em países em desenvolvimento.

A previsão básica da emissão de N_2O em diferentes sistemas de tratamento de águas residuárias em diversas regiões (levando em conta a influência sazonal) também pode ser um aliado no reaproveitamento de correntes gasosas com potencial oxidante. A utilização do gás para o aumento da capacidade de queima do metano (CH_4) é um exemplo, uma vez que o N_2O aumenta o calor de reação em -329 kJ/mol frente ao O_2 (SCHERSON *et al.*, 2013). Tal fato reforça ainda mais a necessidade de mais estudos

exploratórios acerca da temática de emissão de GEE em plantas de tratamento de águas residuárias.

As distintas condições de tratamento e a variabilidade dos FE observadas nos mapas proporcionaram a aquisição de valores médios de FE em condições exploratórias de baixa, média e alta carga nitrogenada amoniacal aplicada a sistemas *MBBR* autotróficos (condições propícias à nitrificação e que podem representar uma etapa específica de um sistema de tratamento). Tais proposições contribuem para um maior detalhamento relacionado à emissão de N_2O em plantas de tratamento de águas residuárias, não se levando em conta somente um fator médio e único que tem como base tecnologias com biomassa suspensa.

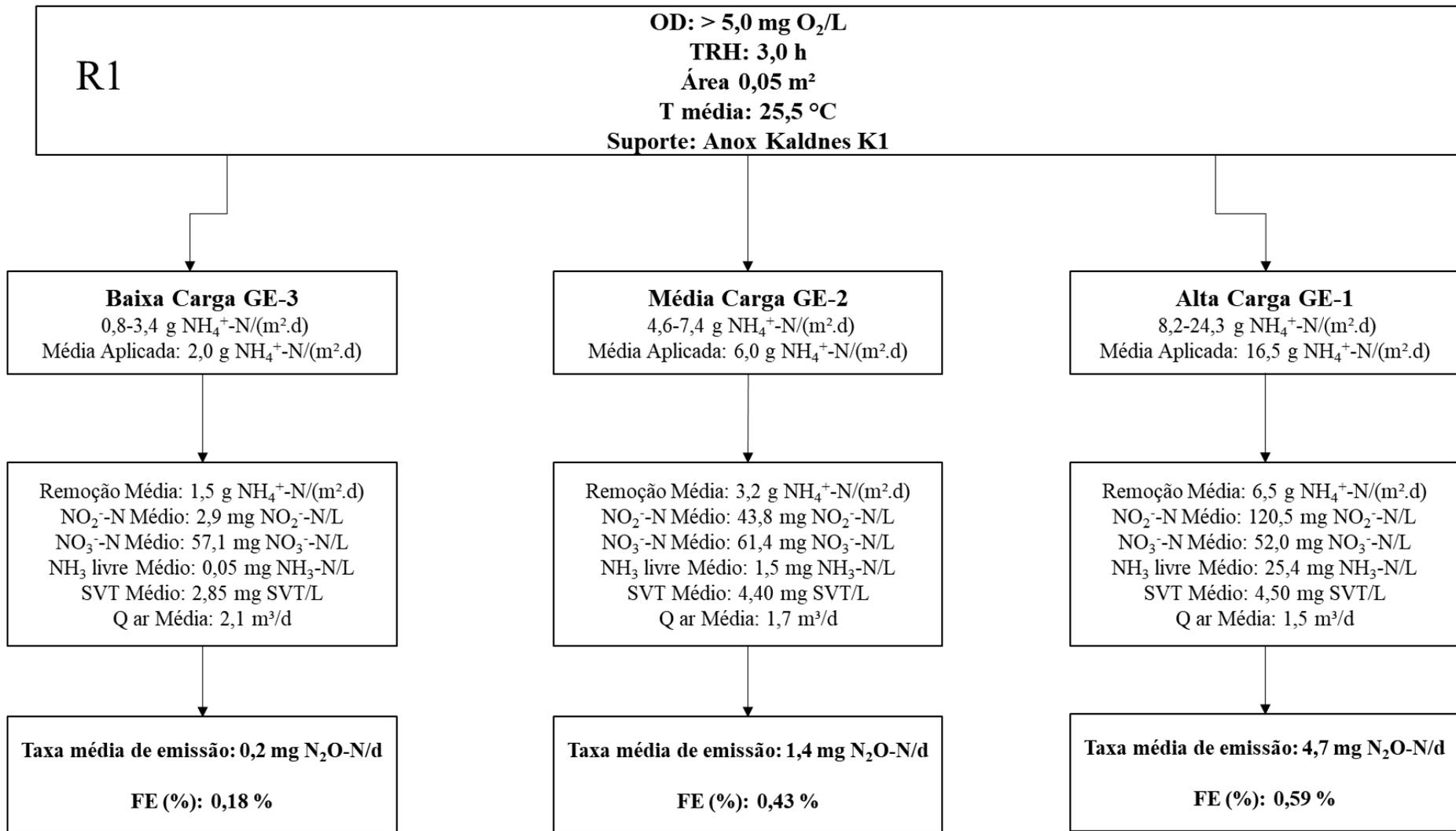


Figura 4-24: Resumo das condições médias de cada grupo de ensaio estudado (GE-3, GE-2 e GE1) e da emissão e do FE de N₂O para o reator R1.

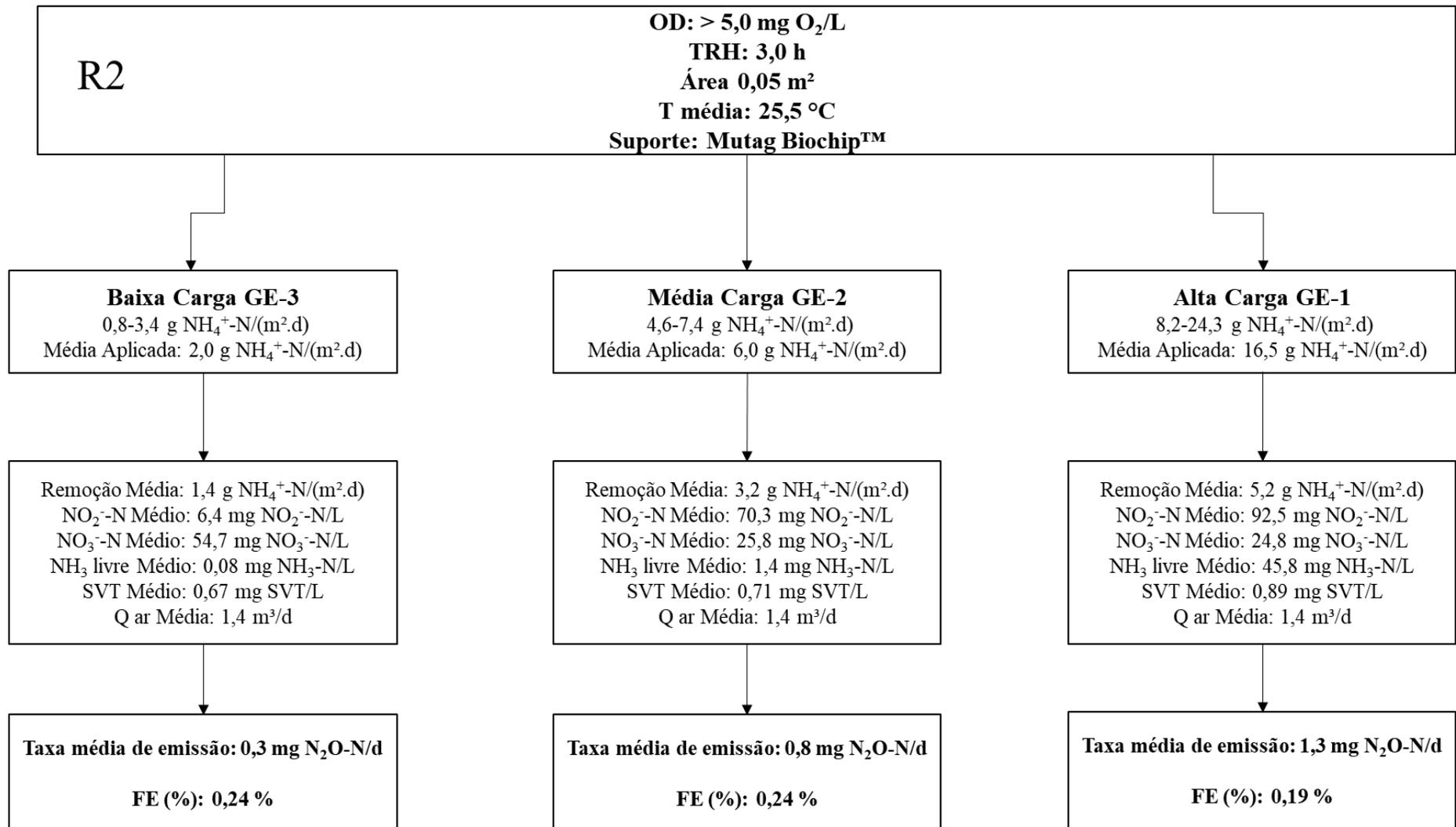


Figura 4-25: Resumo das condições médias de cada grupo de ensaio estudado (GE-3, GE-2 e GE1) e da emissão e do FE de N₂O para o reator R2.

4.5 – Ensaio cinético de remoção de N amoniacal

Uma vez que na menor faixa de carga nitrogenada aplicada ($0 - 1 \text{ g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), a remoção de N amoniacal possuía eficiência próxima a 90 % para ambos sistemas e nas condições de carga aplicada mais baixas desse intervalo o sistema apresentou remoção praticamente total do substrato alimentado, pode-se considerar que o reator estava operando em condições de limitação de substrato e não em sua capacidade máxima. Portanto, de modo a se determinar a taxa máxima de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ para cada sistema nessas condições, foram realizados ensaios cinéticos em batelada. Para as demais faixas de carga aplicada, devido às menores eficiências obtidas e, por conseguinte, maior concentrações de NH_4^+ efluentes, considerou-se que os reatores operavam com capacidade máxima de remoção desse substrato. As cinéticas de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ para os dois reatores são apresentadas na Figura (4-26).

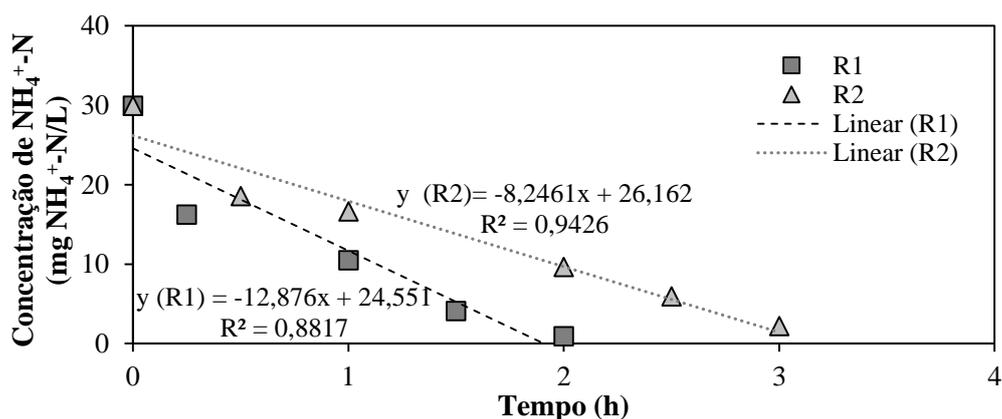


Figura 4-26: Remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em ensaio cinético em batelada para os reatores R1 e R2. As linhas pontilhadas são relativas ao ajuste linear para cada um dos sistemas.

Nas mesmas condições de aporte de N, observou-se maior taxa de remoção para o reator R1, de $12,9 \text{ mg NH}_4^+\text{-N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ frente a $8,2 \text{ mg NH}_4^+\text{-N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ obtida no R2. Devido ao menor teor de SAV do R2, as taxas de remoção específicas foram superiores nesse reator. Ressalta-se ainda que, devido à baixa concentração de SSV no R1 e no R2 ($0,07$ e $0,04 \text{ g SSV/L}$, respectivamente), considerou-se que a contribuição desses organismos para a nitrificação foi pequena para o intervalo de carga aplicada testado.

O comparativo entre a taxa máxima de remoção de N amoniacal específica e a taxa de remoção de N amoniacal específica real em condições normais de operação (em modo contínuo, com TRH de 3 h) para cada reator é apresentado na Tabela (4-4).

Tabela 4-4: Comparativo entre as taxas de remoção específica máxima de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, obtidas nos ensaios em batelada, e a taxa de remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ em condições normais de operação, em regime contínuo com TRH de 3 h.

Carga aplicada 0-1 (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$)	Taxa de remoção específica máxima (mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT}\cdot\text{h})$)	Taxa de remoção específica real (mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT}\cdot\text{h})$)
R1	9,02	5,37
R2	10,68	9,00

O maior valor das taxas máximas de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ confirmaram que, para esse intervalo de carga aplicada, ambos os sistemas operavam abaixo da sua capacidade máxima. A maior diferença entre as taxas máxima e real observada no R1 corrobora com a hipótese de ter havido maior influência do efeito difusivo dos componentes presentes no seio do líquido nesse reator, cuja espessura do biofilme formado era maior, especialmente nas condições de limitação de substrato observadas nesse regime de menor carga. Em contrapartida, para o R2, devido à sua menor capacidade de retenção celular e conseqüentemente menor teor de sólidos, a taxa específica real foi próxima da taxa específica máxima, evidenciando menor contribuição dos efeitos difusivos na taxa de conversão de N amoniacal.

A menor taxa máxima de remoção de N amoniacal do reator R1 reitera os resultados de menor atividade específica dos organismos nitrificantes desse sistema, frente aos organismos do R2, de modo que a maior quantidade de sólidos foi capaz de remover maiores teores de $\text{NH}_4^+\text{-N}$. Contudo, caso o teor de SVT do R2 fosse similar, sua remoção seria superior à do R1.

A ausência de aporte de matéria orgânica nos reatores favoreceu o crescimento dos organismos autotróficos, propiciando a obtenção elevadas taxas de remoção de N amoniacal. Lima *et al.* (2016) avaliaram o efeito da carga orgânica na remoção desse substrato em sistema *MBBR*. Os autores realizaram ensaios cinéticos em batelada em condições de carga nitrogenada aplicada, que variaram de 0,53 a 1,06 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$, valores próximos à faixa em que esse tipo de ensaio foi realizado no presente estudo (0 – 1 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$), o suporte utilizando foi o AnoxKaldnes K1 e os teores de OD, para os ensaios cinéticos, mantidos próximos à saturação (por volta de 8 mg O_2/L). Foram obtidas taxas específicas máximas de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ de 1,25 a 2,70 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT}\cdot\text{h})$, menores em relação às obtidas com biofilme autotrófico, já que havia maior

competição que ocorre entre os organismos heterotróficos, de crescimento mais rápido, e os autotróficos, mais lentos devido ao crescente aporte de matéria orgânica no sistema.

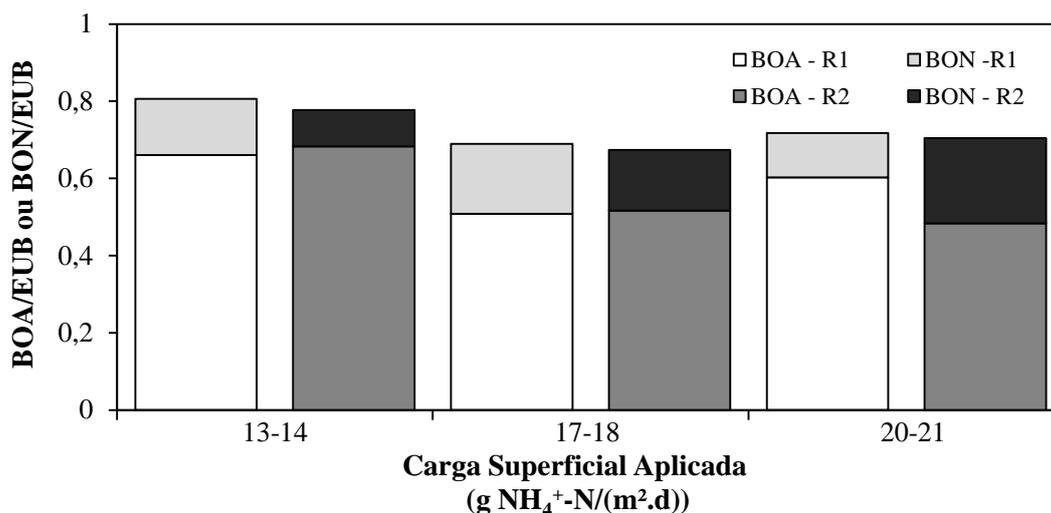
4.6 – Avaliação de organismos nitrificantes através da técnica de *FISH*

Os principais grupos microbianos nitrificantes (BOA e BON) foram avaliados utilizando a técnica de *FISH* de modo a observar a influência da carga nitrogenada aplicada na comunidade nitrificante. A análise contemplou a quantificação de BOA e BON em relação ao total de bactérias (grupo das eubactérias - EUB), fornecendo as frações desses dois grupos nitrificantes para cada ponto de amostragem estudado.

Para a análise *FISH*, três faixas de carga aplicada do GE-1 foram consideradas: 13 – 14, 17 – 18 e 20 – 21 g NH₄⁺-N/(m².d). A Tabela (4-5) apresenta um resumo de algumas variáveis dos *MBBR* nitrificantes e o percentual dos organismos nitrificantes em relação à comunidade bacteriana total. Para melhor visualização, o perfil dos grupos bacterianos avaliados é também apresentado na Figura (4-27). No Anexo (b) estão apresentados os resultados das análises estatísticas realizadas, Tabelas (7-8) a (7-10).

Tabela 4-5: Principais variáveis dos sistemas *MBBR* nitrificantes para as faixas de carga amoniacal aplicada em que foram realizadas as análises de *FISH*.

R1								
NH ₄ ⁺ -N Aplicado (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	NH ₄ ⁺ -N Removido (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	NH ₃ -N Livre (mg N/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg N /L)	NO ₃ ⁻ -N (mg N /L)	N ₂ O-N (mg N/d)	SVT (g/L)	BOA (BOA/EUB)	BON (BON/EUB)
13-14	5,9	11,8	106,3	47,7	3,7	4,5	0,66	0,15
17-18	9,9	15,2	185,7	72,9	4,1	4,5	0,51	0,18
20-21	8,4	37,6	139,1	78,1	11,1	5,3	0,60	0,11
R2								
NH ₄ ⁺ -N Aplicado (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	NH ₄ ⁺ -N Removido (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	NH ₃ -N Livre (mg N/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg N /L)	NO ₃ ⁻ -N (mg N /L)	N ₂ O-N (mg N/d)	SVT (g/L)	BOA (BOA/EUB)	BON (BON/EUB)
13-14	5,1	24,5	134,2	26,0	2,0	0,9	0,68	0,09
17-18	7,0	42,2	99,6	57,7	0,8	0,9	0,52	0,16
20-21	4,8	107,1	43,9	39,0	0,7	0,8	0,48	0,22



Carga de N Amoniacal Aplicada (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	Desvios Padrão Amostrais			
	BOA – R1	BOA – R2	BON – R1	BON – R2
13 – 14	0,143	0,116	0,059	0,040
17 – 18	0,078	0,089	0,107	0,071
20 – 21	0,120	0,067	0,051	0,078

Figura 4-27: Frações das comunidades nitrificantes frente ao total organismos do grupo de eubactéria (BOA/EUB e BON/EUB) presentes nos reatores R1 e R2. Os desvios padrão relativos a cada resultado estão mostrados à parte para melhor visualização dos resultados.

Por se tratar de um sistema sem adição de fonte de carbono orgânico, foi possível constatar que os grupos de bactérias nitrificantes (autotróficas) eram preponderantes em relação às demais bactérias. A proporção desses organismos em relação ao total de bactérias manteve-se na faixa de 69 a 81 % para o R1 e 68 a 77 % para o reator R2. Houve variação da parcela relacionada às outras bactérias, definida pela diferença do percentual entre a BOA/EUB e BON/EUB, com o acréscimo da carga de N amoniacal aplicada. Esse fato se deve ao aumento da biomassa autotrófica inativa despreendida, que ao sofrer lise celular, disponibiliza fonte de carbono orgânico biodegradável necessário para o crescimento dos organismos heterotróficos.

Em um estudo que avaliou um sistema RBS para tratamento de efluente do digestor de lodo, Stenström e Jansen (2017) obtiveram percentuais inferiores para os organismos nitrificantes, variando entre 1,4 e 7,8 %, porém utilizando técnica de sequenciamento do gene 16S rRNA. Possivelmente, a presença de matéria orgânica nesse efluente favoreceu o crescimento dos organismos heterotróficos e reduziu a fração relativa aos nitrificantes.

Considerando cada intervalo de carga analisada individualmente, não houve variação entre a fração de organismos nitrificantes totais (BOA + BON) para os dois reatores. Em estudo com *MBBR* tratando baixas cargas de N, Zhang *et al.* (2013) verificaram a proporção de organismos nitrificantes variando entre 35 e 65 %, no qual o aumento da carga aplicada de N de 0,15 para 0,46 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ acarretou no incremento de ambos os grupos frente às heterotróficas presentes.

No reator R1, para o intervalo carga aplicada de 13 – 14 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, a fração de BOA era aproximadamente 4,5 vezes superior à de BON, embora a relação BOA/BON decresça para 2,8 para a faixa de 17 – 18 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ e aumente para 5,2 na carga de 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$. O perfil dos organismos nitrificantes no reator R2 sugere que o aumento da carga aplicada reduziu a relação BOA/BON, que diminuiu de 7,3 (em 13 – 14 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) para 3,3 (em 17 – 18 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$) e posteriormente para 2,2 (em 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$).

Maiores quantidades de BOA foram detectadas em todas as faixas, uma vez que esses organismos são geralmente mais resistentes aos agentes inibitórios do meio e apresentam maior ganho energético durante a nitrificação, crescendo mais. A dinâmica distinta das comunidades nitrificantes entre os reatores também pode estar relacionada à diferença de adaptação dos organismos às variações de carga impostas aos sistemas devido à própria estrutura do biofilme ser diferente em função da conformação do suporte utilizado.

Para o R1, pode-se observar diferença significativa ($p < 0,05$) entre o percentual de BOA para as cargas 13 – 14 e 17 – 18 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, traduzida na redução do percentual desses organismos no sistema. Na mesma condição, as BON se mantiveram com percentuais similares. Ao se comparar a carga aplicada de 17 – 18 e 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, as proporções de ambos os grupos nitrificantes se mantiveram sem variação significativa, o que pode indicar que nessas faixas, os organismos presentes estavam mais adaptados às maiores cargas aplicadas e aos inibidores presentes no sistema.

Para o R2, quando se comparam as cargas 13 – 14 e 17 – 18 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$, observa-se que ambos os grupos apresentaram diferenças significativas em suas proporções. Há a redução das BOA e aumento das BON. Ressalta-se que, nessa faixa, houve um aumento da quantidade de N amoniacal removida e também de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ efluente, confirmando maior conversão do nitrito pela maior comunidade de BON presente, contudo, não são claros os motivos pelos quais houve a redução das BOA.

Ao se comparar as faixas de 17 – 18 e 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ nesse mesmo reator, não foi verificada variação significativa no percentual de BOA, enquanto que para as BON houve mais um incremento na sua proporção, que passou de 15 para 22 %. Nessa última faixa de carga, o reator apresentou menor remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ frente à anterior, além de maior teor de NH_3 livre e menos nitrito e nitrato acumulados. Tal perfil observado está em oposição ao esperado, uma vez que as BON apresentam maior sensibilidade aos agentes inibitórios, e cuja inibição seria intensificada pela maior exposição do biofilme fino do suporte Mutag Biochip.

Ao se realizar o comparativo entre os reatores para as mesmas faixas de cargas aplicadas, observou-se que somente para a carga aplicada de 20 – 21 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ houve diferença significativa entre os reatores, em que há maior proporção de BOA no R1, e maior proporção de BON no R2. Devido à maior exposição aos inibidores que o suporte Mutag confere, era esperada redução da contribuição de BON na comunidade bacteriana do R2.

Quanto à emissão de N_2O , nas faixas analisadas, não foi possível observar relação entre o perfil da comunidade de BOA e a emissão desse gás. Acredita-se, portanto, que outros fatores inibitórios tenham sido mais relevantes para a variação da emissão, como, por exemplo, o acúmulo de NO_2^- ocorrido na carga de 13 – 14 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2.\text{d})$ no reator R2, que pode ter sido um dos fatores para a maior emissão nessa faixa.

Para melhor compreensão dos resultados da técnica de *FISH*, uma análise mais aprofundada e com maior número de réplicas deve ser realizada. Além disso, não foi possível realizar essa análise para as cargas de N amoniacal aplicadas mais baixas (GE-2 e GE-1), resultado que poderia auxiliar na melhor compreensão do comportamento dos organismos nitrificantes nessas condições operacionais.

CAPÍTULO 5

5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

5.1 – Conclusões

Ao se analisar o processo de nitrificação e a emissão de N_2O associada às altas, médias e baixas cargas de N amoniacal aplicadas (GE-3, GE-2 e GE-1, respectivamente) nos reatores R1 e R2, as principais conclusões obtidas foram:

- Para os dois sistemas *MBBR* autotróficos investigados, cada qual preenchido com determinado suporte (R1 – AnoxKaldnes K1 e R2 – Mutag Biochip), operando em baixo TRH (3 h) e elevados teores de OD (5,0 – 8,0 mg O_2/L), foi observado o aumento da carga removida de N amoniacal em função do acréscimo da carga superficial aplicada desse composto, indicando robustez na operação dos dois sistemas frente às faixas de carga de N amoniacal aplicadas;
- Apesar da elevada capacidade de remoção de altas cargas nitrogenadas, para faixas de cargas aplicadas mais elevadas (GE-1), foi necessário maior período de adaptação dos organismos presentes no biofilme aos novos teores de substrato para que houvesse melhoria significativa do desempenho de remoção. Para o R1, por exemplo, durante os intervalos de cargas de 12 – 13 até 16 – 17 g $NH_4^+-N/(m^2.d)$, a carga removida média foi de $6,4 \pm 1,2$ g $NH_4^+-N/(m^2.d)$, e uma tendência de aumento significativa ($p < 0,05$) foi observada somente para a faixa de 17 – 18 g $NH_4^+-N/(m^2.d)$. Já para médias e baixas cargas (GE-2 e GE-3), diferenças significativas no desempenho foram obtidas ao se variar uma ou poucas unidades de carga de N amoniacal aplicada;
- A capacidade de remoção de elevadas cargas de N amoniacal para sistemas submetidos à altas cargas nitrogenadas se mostraram promissoras, servindo como base para o tratamento de correntes concentradas em amônio e pobres em matéria orgânica, como, por exemplo, correntes secundárias (*side stream*) do tratamento de esgoto. Nestes cenários, o reator preenchido com o suporte AnoxKaldnes K1 (R1) apresentou remoção máxima de $9,9 \pm 1,1$ g $NH_4^+-N/(m^2.d)$ ao ser submetido à carga de 17 – 18 g $NH_4^+-N/(m^2.d)$, enquanto que o *MBBR* preenchido com o suporte Mutag Biochip (R2) atingiu capacidade máxima de remoção de $7,5 \pm 1,3$ g $NH_4^+-N/(m^2.d)$, observada na faixa de carga aplicada de 21 – 22 g $NH_4^+-N/(m^2.d)$;

- De modo geral, a eficiência remoção de N amoniacal em ambos os reatores apresentou uma interação complexa relacionada com o aumento de carga aplicada, com as ações inibitórias do substrato e também com os subprodutos formados na nitrificação;
- As diferenças de desempenhos entre os dois reatores na remoção de N amoniacal foram significativas ($p < 0,05$) quando os mesmos foram submetidos à elevadas cargas aplicadas (GE-1). A presença de um biofilme mais espesso, com maior quantidade de sólidos aderidos voláteis (SAV) e a maior proteção da comunidade nitrificante aos agentes inibitórios conferiram melhor desempenho ao R1. Contudo, o biofilme mais fino presente no R2 conferiu maior atividade específica de nitrificação, de modo que elevadas remoções também foram observadas nesse sistema;
- A maior sensibilidade das BON tanto às elevadas cargas nitrogenadas aplicadas, quanto à presença de agentes inibitórios (NH_3 livre, HNO_2), acarretou no acúmulo de nitrito nos reatores, que se tornou mais pronunciado conforme se aumentavam as cargas de N amoniacal aplicadas. Foram observadas concentrações efluentes de nitrito de 50 a 190 mg NO_2^- -N/L para o R1 e de 25 a 140 mg NO_2^- -N/L para o R2 durante o GE-2 e o GE-1. As frações NO_2^- -N/N-oxidado nas correntes efluentes também variaram de 40 a 90 % e 30 a 90 %, para o R1 e R2, respectivamente durante esses grupos de ensaios. Os efeitos inibitórios das BON se tornaram menos relevantes somente nas faixas de baixa carga (GE-3), favorecendo a ocorrência da nitrificação completa;
- As elevadas concentrações de amônia livre contribuíram para que a comunidade microbiana nitrificante demandasse de maior tempo para alcançar remoções de N amoniacal mais elevadas. Conseqüentemente, esse composto também foi importante para a ocorrência de nitrificação parcial em ambos os sistemas. Os maiores teores de NH_3 livre foram observados no R2, no qual o efeito adverso sobre as BON foi mais pronunciado devido à menor espessura do biofilme aderido, conferindo maiores teores de nitrito e menor capacidade de remoção do N amoniacal afluente. Já o ácido nitroso (HNO_2) somente apresentou relevância na inibição das BON quando suas concentrações foram próximas a 0,02 mg HNO_2 -N/L. O equilíbrio desses compostos é diretamente relacionado com o pH do meio e, dessa forma, o controle operacional dessa variável pode ser uma alternativa para o alcance de melhores desempenhos na nitrificação (total ou parcial) para sistemas *MBBR* autotróficos;

- Nesse estudo, também foi possível constatar que para sistemas autotróficos que operam em elevadas cargas de N amoniacal, a forma de adesão do biofilme se torna um parâmetro relevante para o projeto e implementação do *MBBR*. É importante que haja a maximização não somente do teor de sólidos aderidos no reator, mas também da área efetiva de contato dos microrganismos responsáveis pela nitrificação, tendo em conta, também, a ação dos agentes inibitórios presentes;
- Tanto para os fluxos quanto para as taxas de emissão de N_2O , foram verificadas diferenças entre os perfis associados aos reatores em função do aumento da carga superficial de N amoniacal aplicada. Essa diferença se tornou mais significativa quando os reatores operavam em altas cargas (GE-1), para as quais houve uma tendência de aumento dessas variáveis no R1, enquanto que para o R2, elas se mantiveram constantes e inferiores aos valores obtidos no R1. Os fluxos de emissão de N_2O para o R1 variaram de $0,037 \pm 0,018$ g $N_2O-N/(m^2.d)$ até o valor máximo de $4,865 \pm 2,609$ g $N_2O-N/(m^2.d)$ para o R1, enquanto que para o R2, os valores obtidos foram de $0,055 \pm 0,035$ a $1,431 \pm 0,701$ g $N_2O-N/(m^2.d)$;
- Quando os reatores operaram sob carga aplicada média (GE-2), a emissão de N_2O não foi significativamente diferente entre os dois sistemas, contudo, para tais cargas os desvios relativos à emissão foram maiores que os obtidos em baixas cargas (GE-3), indicando maior influência dos agentes inibitórios responsáveis pela intensificação da produção e consequente emissão desse gás;
- A presença de NH_3 livre nos reatores, intensificada em condições de elevadas cargas de N amoniacal aplicadas, também influenciou na emissão de N_2O-N , apresentando correlação forte e positiva com essa última, em especial para o R1. Também foi confirmado que, além da amônia livre, as cargas de N amoniacal aplicada e removida (substrato remanescente), o acúmulo de $NO_2^- - N$ e o pH foram fatores que influenciaram positivamente no acréscimo da emissão de N_2O-N ;
- Acredita-se que nas condições operacionais testadas, o mecanismo bioquímico de maior contribuição para a produção de N_2O seja a degradação da NH_2OH . Contudo, em especial para o reator R1, cogita-se a ocorrência do processo de desnitrificação autotrófica nas condições de elevadas cargas de N amoniacal aplicadas, uma vez que a maior espessura do biofilme era propícia para a formação de microrregiões com baixos teores de OD que, em presença de NH_3 livre, favoreceriam a degradação autotrófica do NO_2^- a N_2O ;

- A diferença entre a conformação do biofilme observada entre os reatores também se mostrou como um dos fatores chaves para a distinção entre as emissões de N_2O dos sistemas. Para o suporte Mutag Biochip, com biofilme mais fino, em altas cargas e na presença de agentes inibidores em quantidades substanciais, a produção desse gás foi reduzida, enquanto que a maior proteção dos organismos situados mais internamente no suporte AnoxKaldnes K1, cujo biofilme era mais espesso, possivelmente possibilitou a desnitrificação autotrófica e a decomposição da NH_2OH nas camadas internas do biofilme, levando à maior emissão de N_2O ;
- Como estratégia de mitigação da emissão de N_2O para sistemas submetidos a elevadas cargas nitrogenadas (GE-1), foi possível verificar que a utilização de um sistema *MBBR* autotrófico, com baixo TRH (3h), condições de OD favoráveis para a nitrificação (OD no seio do líquido maior que 5 mg O_2/L) e emprego do suporte Mutag Biochip pode ser uma opção de etapa de tratamento responsável pela remoção de elevadas cargas de N amoniacal aplicadas, nitrificação parcial e baixa emissão de N_2O ;
- Em relação aos fatores de emissão de N_2O , todos os valores obtidos durante o estudo ($0,03 \pm 0,02$ a $1,1 \pm 0,5$ % em relação ao N amoniacal afluente) se mostraram abaixo do fator médio proposto pelo *IPCC* 2019 para sistemas de tratamento de efluentes que realizam remoção de N. Considerando-se que a nitrificação é uma etapa do processo de remoção de N que possui significativa contribuição na emissão de N_2O , esses resultados são promissores e indicam que esse tipo de reator pode se mostrar como uma alternativa viável para a redução da pegada de carbono de sistemas de tratamento mais sustentáveis;
- Os resultados exploratórios obtidos nessa pesquisa realizada em região de clima tropical (temperatura média de aproximadamente 25 °C), em que se esperava maior emissão devido à intensificação natural da nitrificação, foram menores que o proposto pelo *IPCC*. Esses resultados reiteram, então, a necessidade de estudos mais detalhados que apresentem faixas de FE mais específicas e que variem de acordo com o tipo e condição de tratamento utilizado;
- Essa pesquisa pode servir como base para a operação de sistemas *MBBR* em maiores escalas, fornecendo dados que podem auxiliar a definir as condições a serem testadas, visando remoção satisfatória de N amoniacal e minimizar a emissão de N_2O , além de contribuir para o maior entendimento dos mecanismos de emissão de N_2O ;

- O estudo, portanto, enfatiza também a possibilidade de operação de sistemas *MBBR* nitrificantes em baixos TRH e elevadas cargas nitrogenadas aplicadas, o que remete à possibilidade de implantação de sistemas mais compactos e que possam apresentar desempenho satisfatório visando, também, a redução da emissão de carbono equivalente da ETE.

5.2 – Sugestões para trabalhos futuros

Para complementar esse estudo relacionado à emissão de N_2O em sistemas *MBBR* nitrificantes, algumas sugestões de tópicos adicionais a serem investigados são apresentadas a seguir:

- Realização de mais ensaios em cargas de N amoniacal mais elevadas (GE-1), de forma a se compreender melhor o motivo dos maiores desvios padrão amostrais observados tanto para a remoção de N amoniacal quanto para a emissão de N_2O nessas condições;
- Investigação da emissão de N_2O para sistemas *MBBR* aeróbios autotróficos nitrificantes em condições de baixos teores de OD visando processos de nitrificação parcial;
- Realização da cinética de emissão de N_2O durante os testes cinéticos de remoção de N amoniacal em batelada;
- Determinação da emissão de N_2O durante a etapa transiente de tratamento e verificação da influência dos choques de carga nitrogenada aplicada na emissão;
- Determinação da emissão contínua de N_2O , apresentando o perfil temporal da emissão em sistemas contínuos e em batelada, de modo a se verificar e compreender a influência das oscilações da emissão de N_2O mesmo com parâmetros operacionais controlados;
- Análise da fração de N_2O dissolvida em reatores que possibilitem a amostragem de forma eficaz;
- Realização de testes com aporte de matéria orgânica, de modo a contemplar um cenário contendo, simultaneamente, organismos autotróficos nitrificantes e desnitrificantes heterotróficos;
- Aplicação de diferentes TRH e razões de enchimento para diversos suportes, visando se obter dados de emissão para esses sistemas;

- Realização de análise estatística multivariada para melhor entendimento dos fatores que afetam a emissão de N_2O em sistemas com biofilme;
- Utilização de sistemas com maiores volumes, de forma a se facilitar a retirada de suportes para a análise de sólidos aderidos;
- Determinação da espessura do biofilme formado para confirmar as observações visuais;
- Implementação de metodologias capazes de quantificar diretamente a NH_2OH , intermediário importante para o melhor entendimento do fenômeno bioquímico, possivelmente preponderante, envolvido na geração de N_2O nos sistemas nitrificantes estudados;
- Determinação mais rigorosa dos cenários (mapas) de tratamento e da possível emissão de N_2O , levando em consideração a interação complexa entre os fatores responsáveis pela emissão em sistemas de tratamento com biomassa aderida;
- Acompanhamento de sistemas em maiores escalas de processo que utilizem biomassa aderida e contemplem a remoção biológica de nitrogênio;
- Estudo do balanço de CO_2 equivalente emitido por sistemas de tratamento com biomassa aderida, verificando a diferença entre os reatores nessa análise.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELIOVICH, A., 1992, "Transformations of ammonia and the environmental impact of nitrifying bacteria", *Biodegradation*, v. 3 (2-3), pp. 255-264.

ABOUBAKAR, A., CARTMELL, E., STEPHENSON, T., JONES, M., VALE, P., DOTRO, G., 2013, "Nitrous oxide emissions and dissolved oxygen profiling in a full-scale nitrifying activated sludge treatment plant", *Water Research*, v. 47, pp. 524-534.

ABZAZOU, T., ARAUJO, R.M., AUSET, M. AND SALVADÓ, H., 2016, "Tracking and quantification of nitrifying bacteria in biofilm and mixed liquor of a partial nitrification MBBR pilot plant using fluorescence in situ hybridization", *Science of the Total Environment*, v. 541, pp. 1115-1123.

ALI, T.U., AHMED, Z. AND KIM, D.J., 2014, "Estimation of N₂O emission during wastewater nitrification with activated sludge: effect of ammonium and nitrite concentration by regression analysis", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20 (4), pp. 2574-2579.

ALINSAFI, A., ADOUANI, N., BELINE, F., LENDORMI, T., LIMOUSY, L., SIRE, O., 2008, "Nitrite effect on nitrous oxide emission from denitrifying activated sludge", *Process Biochemical*, v. 43 (6), pp. 683-689.

AMANN, R.L., BINDER, B.J., OLSON, R.J., CHISHOLM, S.W., DEVEREUX, R. AND STAHL, D.A., 1990, "Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations", *Applied and environmental microbiology*, v. 56 (6), pp. 1919-1925.

ANTHONISEN, A.C., LOEHR, R.C., PRAKASAM, T.B.S. AND SRINATH, E.G., 1976, "Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid" *Journal (Water Pollution Control Federation)*, pp. 835-852.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1976, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 14^a ed., American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C..

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 18^a ed., American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C..

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1999a, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 22^a ed., American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C..

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1999b, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 22^a ed., American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C..

AQEEL, H. AND LISS, S.N., 2020, "Autotrophic Fixed-Film Systems Treating High Strength Ammonia Wastewater", *Frontiers in microbiology*, v. 11, pp. 2123.

ARDERN, E., LOCKETT, W.T., 1914, "Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters", *Journal of the Society of Chemical Industry*, v. 33, pp. 523-539.

ASHKANANI, A., ALMOMANI, F., KHRAISHEH, M., BHOSALE, R., TAWALBEH, M. AND ALJAML, K., 2019, "Bio-carrier and operating temperature effect on ammonia removal from secondary wastewater effluents using moving bed biofilm reactor (MBBR)", *Science of The Total Environment*, v. 693, pp. 133425.

BARWAL, A. AND CHAUDHARY, R., 2014, "To study the performance of biocarriers in moving bed biofilm reactor (MBBR) technology and kinetics of biofilm for retrofitting the existing aerobic treatment systems: a review", *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 13 (3), pp. 285-299.

BASSIN, J.P., 2011a, "Novos processos de remoção biológica de nitrogênio", In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR, G.L., BASSIN, J.P (Org.), *Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana*, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J.P., 2012, "Remoção Biológica de Nutrientes em Sistemas Compactos e Estudo da Diversidade Microbiana por Técnicas de Biologia Molecular", Tese de D.Sc., PEQ/UFRJ/COPPE, Rio de Janeiro.

BASSIN, J.P., DEZOTTI, M., 2008, "Tratamento primário, secundário e terciário de efluentes", In: DEZOTTI M., *Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos*, Rio de Janeiro: E-papers.

BASSIN, J.P., DEZOTTI, M., 2011, "Reator de leito móvel com biofilme Moving bed biofilm reactor - MBBR", In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR, G.L., BASSIN, J.P. (Org.) *Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana*, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J.P., DIAS, I.N., CAO, S.M.S., SENRA, E., LARANJEIRA, Y., DEZOTTI, M., 2016, "Effect of increasing organic loading rates on the performance of moving-bed biofilm reactors filled with different support media: Assessing the activity of suspended and attached biomass fractions", *Process Safety and Environmental Protection*, v. 100, pp. 131-141.

BELMONTE, M., HSIEH, C.F., CAMPOS, J.L., GUERRERO, L., MÉNDEZ, R., MOSQUERA-CORRAL, A. AND VIDAL, G., 2017, "Effect of Free Ammonia, Free Nitrous Acid, and Alkalinity on the Partial Nitrification of Pretreated Pig Slurry, Using an Alternating Oxic/Anoxic SBR". *BioMed Research International*, 2017.

BHUNIA, P., YAN, S., LEBLANC, R.J., TYAGI, R.D., SURAMPALLI, R.Y. AND ZHANG, T.C., 2010, "Insight into nitrous oxide emissions from biological wastewater treatment and biosolids disposal", *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, v. 14 (3), pp. 158-169.

BHUVANESH, S., MANEESH, N., SREEKRISHNAN, T.R., 2013, "Start-up and performance of a hybrid anoxic reactor for biological denitrification", *Bioresource Technology*, v. 129, pp. 78-84.

BIASE, A., KOWALSKI, M.S., DEVLIN, T.R. AND OLESZKIEWICZ, J.A., 2019, "Moving bed biofilm reactor technology in municipal wastewater treatment: A review", *Journal of environmental management*, v. 247, pp. 849-866.

BLUM, J.M., JENSEN, M.M. AND SMETS, B.F., 2018, "Nitrous oxide production in intermittently aerated partial nitrification-anammox reactor: oxic N₂O production dominates and relates with ammonia removal rate", *Chemical Engineering Journal*, v. 335, pp. 458-466.

BOLLON, J., FILALI, A., FAYOLLE, Y., GUERIN, S., ROCHER, V. AND GILLOT, S., 2016, "N₂O emissions from full-scale nitrifying biofilters", *Water research*, v. 102, pp. 41-51.

BOLZONELLA, D., INNOCENTL, L., PAVAN, P., 2001, "Denitrification potential enhancement by addition of anaerobic fermentation products from the organic fraction of municipal solid waste", *Water Science Technology*, v. 44, pp. 187-194.

BORTOLI, M., KUNZ, A., SOARES, H.M., BELLI FILHO, P. AND COSTA, R.H.R.D., 2012, "Nitrous oxide emission in the biological nitrogen removal process", *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 17 (1), pp. 01-06.

BRAKER, G. AND CONRAD, R., 2011, "Diversity, structure, and size of N₂O-producing microbial communities in soils - what matters for their functioning?", *In Advances in applied microbiology*, v. 75, pp. 33-70

BRANDES, J.A., DEVOL, A.H. AND DEUTSCH, C., 2007, "New developments in the marine nitrogen cycle", *Chemical reviews*, v. 107 (2), pp. 577-589.

CAMPOS, J.L., GARRIDO-FERNANDEZ, J.M., MENDEZ, R. AND LEMA, J.M., 1999, "Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit", *Bioresource Technology*, v.68 (2), pp. 141-148.

CANIANI, D., CAIVANO, M., PASCALE, R., BIANCO, G., MANCINI, I.M., MASI, S., MAZZONE, G., FIROUZIAN, M. AND ROSSO, D., 2019, "CO₂ and N₂O from water resource recovery facilities: Evaluation of emissions from biological treatment, settling, disinfection, and receiving water body", *Science of The Total Environment*, v. 648, pp. 1130-1140.

CAO, S. M. S., 2014, "Remoção Biológica de matéria orgânica e nitrogênio de um efluente industrial em sistema de leito móvel com biofilme de dois estágios", *Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.*

CAO, S. M. S., FONTOURA, G.A.T., DEZOTTI, M., BASSIN, J. P., 2016, "Combined organic matter and nitrogen removal from a chemical industry wastewater in a two-stage MBBR system", *Environmental Technology*, v. 37 (1), p. 96-107.

CAO, Y., ZHANG, C., RONG, H., ZHENG, G. AND ZHAO, L., 2017, "The effect of dissolved oxygen concentration (DO) on oxygen diffusion and bacterial community structure in moving bed sequencing batch reactor (MBSBR)", *Water research*, v. 108, pp. 86-94.

CERVANTES-CARRILLO, F., PÉREZ, J., GOMEZ, J., 2000, "Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales", *Revista latinoamericana de Microbiología*, v. 42 (2), pp. 73-82.

CHAI, H., DENG, S., ZHOU, X., SU, C., XIANG, Y., YANG, Y., SHAO, Z., GU, L., XU, X., JI, F. AND HE, Q., 2019, "Nitrous oxide emission mitigation during low-carbon source wastewater treatment: effect of external carbon source supply strategy", *Environmental Science and Pollution Research*, v. 26 (22), pp. 23095-23107.

CHANDRAN, K., STEIN, L.Y., KLOTZ, M.G. AND VAN LOOSDRECHT, M.C., 2011, "Nitrous oxide production by lithotrophic ammonia-oxidizing bacteria and implications for engineered nitrogen-removal systems", *Biochem Soc Trans*, v. 39 (6), pp. 1832-1837

CHEN, S., JUAW, C., CHENG, S., 1991, "Nitrification and denitrification of high-strength ammonium and nitrite wastewater with biofilm reactors", *Water Science Technology*, v. 23 (7-9), pp. 1417-1425.

CHIPPERFIELD, M., 2009, "Atmospheric science: nitrous oxide delays ozone recovery", *Nature Geoscience* 2, v. 11, pp. 742.

CHRISTENSSON, M., EKSTRÖM, S., CHAN, A.A., LE VAILLANT, E. AND LEMAIRE, R., 2013, "Experience from start-ups of the first ANITAMOX plants", *Water Science and Technology*, v. 67 (12), pp. 2677-2684.

CHRISTENSSON, M., LIE, E., WELANDER, T., 1994, "A comparison between ethanol and methanol as carbon sources for denitrification", *Water Science Technology*, v. 30, pp. 83-90.

CONTHE, M., PARCHEN, C., STOUTEN, G., KLEEREBEZEM, R. AND VAN LOOSDRECHT, M.C., 2018, "O₂ versus N₂O respiration in a continuous microbial enrichment", *Applied microbiology and biotechnology*, v. 102 (20), pp. 8943-8950.

CZEPIEL, P.; CRILL, P.; HARRISS, R., 1995, "Nitrous oxide emissions from municipal wastewater treatment", *Environmental Science & Technology*, v. 29 (9), pp. 2352-2356.

DAELMAN, M.R., VAN VOORTHUIZEN, E.M., VAN DONGEN, U.G., VOLCKE, E.I. AND VAN LOOSDRECHT, M.C., 2015, "Seasonal and diurnal variability of N₂O emissions from a full-scale municipal wastewater treatment plant", *Science of the Total Environment*, v. 536, pp. 1-11.

DAIMS, H., BRÜHL, A., AMANN, R., SCHLEIFER, K.H. AND WAGNER, M., 1999, "The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set", *Systematic and applied microbiology*, v. 22 (3), pp. 434-444.

- DALSGAARD, T., ZWART, J.D., ROBERTSON, L.A., KUENEN, J.G. AND REVSBECH, N.P., 1995, "Nitrification, denitrification and growth in artificial Thiosphaera pantotropha biofilms as measured with a combined microsensors for oxygen and nitrous oxide", *FEMS microbiology ecology*, v. 17 (2), pp. 137-147.
- DE MELLO, W.Z., RIBEIRO, R.P., BROTTTO, A.C., KLIGERMAN, D.C., PICCOLI, A.D.S. & OLIVEIRA, J.L.M., 2013, "Nitrous oxide emissions from an intermittent aeration activated sludge system of an urban wastewater treatment plant", *Química Nova*, v. 36, pp. 16-20.
- DESLOOVER, J., VLAEMINCK, S. E., CLAUWAERT, P., VERSTRAETE, W., BOON, N., 2012, "Strategies to mitigate N₂O emissions from biological nitrogen removal systems", *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, pp. 474-482.
- DITRAPANI, D., DI BELLA, G., MANNINA, G., TORREGROSSA, M., VIVIANI, G., 2014, "Comparison between moving bed-membrane bioreactor (MB-MBR) and membrane bioreactor (MBR) systems: influence of wastewater salinity variation", *Bioresource technology*, v. 162, pp. 60-69.
- DUAN, H., VAN DEN AKKER, B., THWAITES, B.J., PENG, L., HERMAN, C., PAN, Y., NI, B.J., WATT, S., YUAN, Z. AND YE, L., 2020, "Mitigating nitrous oxide emissions at a full-scale wastewater treatment plant", *Water Research*, v. 185, pp. 116 - 196.
- DUAN, H., YE, L., LU, X. AND YUAN, Z., 2019, "Overcoming nitrite oxidizing bacteria adaptation through alternating sludge treatment with free nitrous acid and free ammonia", *Environmental science & technology*, v. 53 (4), pp. 1937-1946.
- DUBEUX, C.B.S., COLLING, A. V, 2017, "Cenário de Emissão de GEE Setor de Resíduos Estimativas de Emissões de GEE do Setor de Resíduos até 2050, UFRJ" Disponível em: http://www.centroclima.coppe.ufrj.br/images/documentos/10_-_Cenario_de_Emiss%C3%B5es_de_GEE_-_Setor_de_Res%C3%ADduos_-_IES_Brasil_2050.pdf, Acesso em: Out.2019.
- EKSTRÖM, S., 2010, "N₂O production in a single stage nitritation/anammox MBBR process", Lund University, Lund, Sweden. LTH. Master Project Degree, 1, p.61.
- ELDYASTI, A., NAKHLA, G. AND ZHU, J., 2014, "Influence of biofilm thickness on nitrous oxide (N₂O) emissions from denitrifying fluidized bed bioreactors (DFBBRs)", *Journal of Biotechnology*, v. 192, pp. 281-290.
- EPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2010, "Methane and nitrous oxide emissions from natural sources".
- FANG, F., LI, K., GUO, J.S., WANG, H., ZHANG, P. AND YAN, P., 2020. "New insights into nitrous oxide emissions in a single-stage CANON process coupled with denitrification: thermodynamics and nitrogen transformation", *Water Science and Technology*, v. 82 (1), pp. 157-169.

FIRESTONE, M.K., SMITH, M.S., FIRESTONE, R.B. AND TIEDJE, J.M., 1979, "The influence of nitrate, nitrite, and oxygen on the composition of the gaseous products of denitrification in soil 1", *Soil Science Society of America Journal*, v. 43 (6), pp. 1140-1144.

FLEMMING, H.C., WINGENDER, J., SZEWZYK, U., STEINBERG, P., RICE, S.A. AND KJELLEBERG, S., 2016, "Biofilms: an emergent form of bacterial life", *Nature Reviews Microbiology*, v. 14 (9), pp. 563.

FLÜCKIGER, J., DÄLLENBACH, A., BLUNIER, T., STAUFFER, B., STOCKER, T.F., RAYNAUD, D. AND BARNOLA, J.M., 1999, "Variations in atmospheric N₂O concentration during abrupt climatic changes", *Science*, v. 285 (5425), pp. 227-230.

FOLEY, J., DE HAAS, D., YUAN, Z., LANT, P., 2010, "Nitrous oxide generation in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants", *Water Research*, v. 44(3), pp. 831-844.

FOLEY, J., YUAN, Z., KELLER, J., SENANTE, E., CHANDRAN, K., WILLIS, J., SHAH, A., VAN LOOSDRECHT, M. AND VAN VOORTHUIZEN, E., 2011, "N₂O and CH₄ emission from wastewater collection and treatment systems: technical report", *Global Water Research Coalition*, v.30.

FONSECA, D., 2016, "Desempenho de sistemas MBBR em diferentes condições de recheio e vazão: estudo em escala piloto e laboratorial", Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

FONSECA, D.L. AND BASSIN, J.P., 2019, "Investigating the most appropriate methods for attached solids determination in moving-bed biofilm reactors", *Bioprocess and biosystems engineering*, v. 42 (11), pp. 1867-1878.

FORREST, D., DELATOLLA, R. AND KENNEDY, K., 2016, "Carrier effects on tertiary nitrifying moving bed biofilm reactor: an examination of performance, biofilm and biologically produced solids", *Environmental technology*, v. 37 (6), pp. 662-671.

FUX, C., HUANG, D., MONTI, A. AND SIEGRIST, H., 2004, "Difficulties in maintaining long-term partial nitritation of ammonium-rich sludge digester liquids in a moving-bed biofilm reactor (MBBR)", *Water Science and Technology*, v. 49 (11-12), pp. 53-60.

GE S, PENG Y, WANG S, LU C, CAO X, ZHU Y., 2012, "Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: The effects of carbon sources and COD/NO₃-N", *Bioresource Technology* v. 114, pp. 137-143

GIESEKE, A., NIELSEN, J.L., AMANN, R., NIELSEN, P.H. AND DE BEER, D., 2005, "In situ substrate conversion and assimilation by nitrifying bacteria in a model biofilm", *Environmental Microbiology*, v. 7 (9), pp. 1392-1404.

GIL, K.I. AND CHOI, E., 2004, "Nitrogen removal by recycle water nitritation as an attractive alternative for retrofit technologies in municipal wastewater treatment plants", *Water Science and Technology*, v. 49 (5-6), pp. 39-46.

GLASS, C., SILVERSTEIN, J., 1998, "Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation", *Water Research*, v. 32, pp. 831-839.

GONG, L., JUN, L., YANG, Q., WANG, S., MA, B. AND PENG, Y., 2012, "Biomass characteristics and simultaneous nitrification–denitrification under long sludge retention time in an integrated reactor treating rural domestic sewage" *Bioresource technology*, v. 119, pp. 277-284.

HADLA, M., HALABI, M.A., 2018, "Effect of Quorum Sensing", In: *Comprehensive Analytical Chemistry*, v. 81, pp. 95-116.

HANAKI, K., WANTAWIN, C., OHGAKI, S., 1990, "Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor" *Water Research*, v. 24, pp. 289–296.

HARPER JR, W.F., TAKEUCHI, Y., RIYA, S., HOSOMI, M., TERADA, A., 2015, "Novel abiotic reactions increase nitrous oxide production during partial nitrification: modeling and experiments", *Chemical Engineering Journal*, v. 281, pp. 1017-1023.

HE, S., DING, L., WANG, X., PAN, Y., HU, H., LI, K. AND REN, H., 2018, "Biochar carrier application for nitrogen removal of domestic WWTPs in winter: challenges and opportunities", *Applied microbiology and biotechnology*, v. 102 (22), pp. 9411-9418.

HEIL, J., LIU, S., VERECKEN, H. AND BRUEGGEMANN, N., 2015, "Abiotic nitrous oxide production from hydroxylamine in soils and their dependence on soil properties", *Soil Biology and Biochemistry*, v. 84, pp. 107-115.

HELLINGA, C., SCHELLEN, A. A. J. C., MULDER, J.W., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J., 1998, "The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium rich wastewater", *Water Science Technology*, v. 37, pp. 135-142

HENZE M, LOOSDRECHT MCM, EKAMA GA, BRDJANOVIC D., 2008, "Biological wastewater treatment - principles. Modelling and Design", IWA Publishing, London.

HENZE, M., HARREMOËS, P., LA COUR JANSEN, J., ARVIN, E., 1997, "Biological and Chemical Wastewater Treatment", 2^a ed., Berlin: Springer.

HOOPER, A.B., TERRY, K.R., 1979, "Hydroxylamine oxidoreductase of *Nitrosomonas*: production of nitric oxide from hydroxylamine", *Biochim Biophys Acta*, v. 571, pp. 12-20.

HOUDA, N., ABDELWAHEB, C., ASMA, B.R., INES, M., AHMED, L., ABDENNACEUR, H., 2015, "Tertiary nitrification using moving-bed biofilm reactor: a case study in Tunisia", *Curr. Microbiol.*, v. 70 (4), pp. 602–609.

HU, B., WANG, T., YE, J., ZHAO, J., YANG, L., WU, P., DUAN, J.L., YE, G., 2019, "Effects of carbon sources and operation modes on the performances of aerobic

denitrification process and its microbial community shifts”, J. Environ. Manag. v. 239, pp. 299-305.

HU, Z., ZHANG, J., LI, S., WANG, J. AND ZHANG, T., 2011, “Effect of anoxic/aerobic phase fraction on N₂O emission in a sequencing batch reactor under low temperature”, Bioresource technology, v. 102 (9), pp. 5486-5491.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2013, “Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change”, Cambridge: Cambridge University Press, pp. 1535.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2014, “Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change”, Cambridge, United Kingdom; Geneva, Switzerland: Cambridge University Press, pp. 151

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2019, “2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Wastewater Treatment and Discharge”, Poland: IGES, v. 5, cap. 6, pp. 6.24-6.28.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, EGGELSTON, H. S., BUENDIA, L., MIWA, K., NGARA, T.; TANABE, K. (Eds.), 2006, “Wastewater Treatment and Discharge”, In: IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Japan: IGES, v. 5, cap. 6, pp. 6.24-6.26.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, SOLOMON, S. D.; QIN, M. M.; CHEN, Z.; MARQUIS, M.; AVERYT, K. B.; TIGNOR, M.; MILLER, H. L. (Eds.), 2007, “Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing”, In: IPCC Climate Change 2007: The Physical Science Basis, Cambridge, United Kingdom; New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2007.

JAHREN, S.J., RINTALA, J.A., ODEGAARD, H., 2002, “Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions”, Water Research, v. 36 (4), pp. 1067–1075.

JIA, M., CASTRO-BARROS, C.M., WINKLER, M.K. AND VOLCKE, E.I., 2018, “Effect of organic matter on the performance and N₂O emission of a granular sludge anammox reactor”, Environmental Science: Water Research & Technology, v. 4 (7), pp. 1035-1046.

JOKELA, J.P.Y., KETTUNEN, R.H., SORMUNEN, K.M. AND RINTALA, J.A., 2002, “Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate: low-cost nitrification in biofilters and laboratory scale in-situ denitrification”, Water Research, v. 36 (16), pp. 4079-4087.

JORDÃO, E. P., PESSÔA, C. A., 2014, “Tratamento de esgotos domésticos”, Rio de Janeiro: ABES, v. 5, pp. 1050.

KALYUZHNYI, S.V. AND GLADCHENKO, M.A., 2004,“Sequenced anaerobic-aerobic treatment of high strength, strong nitrogenous landfill leachates”, *Water Science and Technology*, v. 49 (5-6), pp. 301-312.

KAMPSCHREUR, M.J., PICIOREANU, C., TAN, N., KLEEREBEZEM, R., JETTEN, M.S. AND VAN LOOSDRECHT, M., 2007,“Unraveling the source of nitric oxide emission during nitrification”, *Proceedings of the Water Environment Federation*, v. 2, pp. 843-860.

KAMPSCHREUR, M.J., POLDERMANS, R., KLEEREBEZEM, R., VAN DER STAR, W.R.L., HAARHUIS, R., ABMA, W.R., JETTEN, M.S.M., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 2009,“Emission of nitrous oxide and nitric oxide from a full-scale single-stage nitrification-anammox reactor”, *Water science and technology*, v. 60 (12), pp. 3211-3217.

KAMPSCHREUR, M.J., TAN, N.C.G., KLEEREBEZEM, R., PICIOREANU, C., JETTEN, M.S.M., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 2008a,“Effect of dynamic process conditions on nitrogen oxides emission from a nitrifying culture”, *Environmental Science and Technology*, v. 42 (2), pp. 429–435.

KAMPSCHREUR, M.J., TEMMINK, H., KLEEREBEZEM, R., JETTEN, M.S. AND VAN LOOSDRECHT, M.C., 2009,“Nitrous oxide emission during wastewater treatment”, *Water research*, v. 43 (17), pp. 4093-4103.

KANDERS, L., YANG, J.-J., BARESEL, C., ZAMBRANO, J., 2019,“Full-scale comparison of N₂O emissions from SBR N/DN operation versus one-stage deammonification MBBR treating reject water – and optimization with pH set-point”, *Water Science and Technology*, v. 79 (8), pp. 1616-1625.

KATSOGIANNIS, A., KORNAROS, M., LYBERATOS, G., 2003,“Enhanced nitrogen removal in SBRs by bypassing nitrate generation accomplished by multiple aerobic/anoxic phase pairs”, *Water Science and Technology*, v. 44 (11), pp. 53-59.

KELLER, J., SUBRAMANIAM, K., GÖSSWEIN, J. AND GREENFIELD, P.F., 1997, “Nutrient removal from industrial wastewater using single tank sequencing batch reactors”, *Water Science and Technology*, v. 35 (6), pp. 137-144.

KHAN, S.J., ILYAS, S., JAVID, S., VISVANATHAN, C., JEGATHEESAN, V., 2011, “Performance of suspended and attached growth MBR systems in treating high strength synthetic wastewater”, *Bioresource Technology*, v. 102 (9), pp. 5331–5336.

KIM, D.J., CHANG, J.S., LEE, D.I., HAN, D.W., YOO, I.K. AND CHA, G.C., 2003, “Nitrification of high strength ammonia wastewater and nitrite accumulation characteristics.”, *Water science and technology*, v. 47 (11), pp. 45-51

KIM, D.J., LEE, D.I. AND KELLER, J., 2006,“Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH”, *Bioresource technology*, v. 97 (3), pp. 459-468.

- KIM, S.W., MIYAHARA, M., FUSHINOBU, S., WAKAGI, T. AND SHOUN, H., 2010, "Nitrous oxide emission from nitrifying activated sludge dependent on denitrification by ammonia-oxidizing bacteria", *Bioresource Technology*, v. 101 (11), pp. 3958-3963.
- KINDAICHI, T., ITO, T. AND OKABE, S., 2004, "Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by microautoradiography-fluorescence in situ hybridization", *Applied Environmental Microbiology*, v. 70 (3), pp. 1641-1650.
- KNOBELOCH, L., SALNA, B., HOGAN, A., POSTLE, J. AND ANDERSON, H., 2000, "Blue babies and nitrate-contaminated well water", *Environmental health perspectives*, v. 108 (7), pp. 675-678.
- KONG, Q., LIANG, S., ZHANG, J., XIE, H., MIAO, M. AND TIAN, L., 2013a, "N₂O emission in a partial nitrification system: dynamic emission characteristics and the ammonium-oxidizing bacteria community" *Bioresource technology*, v. 127, pp. 400-406.
- KONG, Q., ZHANG, J., MIAO, M., TIAN, L., GUO, N. AND LIANG, S., 2013, "Partial nitrification and nitrous oxide emission in an intermittently aerated sequencing batch biofilm reactor", *Chemical Engineering Journal*, v. 217, pp. 435-441.
- KONNEKE, M., BERNHARD, A.E., DE LA TORRE, J.R., WALKER CHRISTOPHER, B., WATERBURY, J.B., Stahl, D.A., 2005, "Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon", *Nature*, v. 437 (7058), pp. 543-546.
- KOREN, D.W., GOULD, W.D., BÉDARD, P., 2000, "Biological removal of ammonia and nitrate from simulated mine and mill effluents", *Hydrometallurgy*, v. 56, pp. 127-144.
- KOWALSKI, E.; MAZIERSKI, J.; SUSCHKA, J. A. N, 2010, "The effect of a support material on the nitrification rate in biofilm reactors", *Environment Protection Engineering*, v. 36 (2), pp. 45-61.
- KUBITZA, F., 1998, "Qualidade da água na produção de peixes - Parte II", *Panorama da Aqüicultura*, v. 8 (46), pp. 35-41.
- LAPARA, T.M., KONOPKA, A., NAKATSU, C., ALLEMAN, J.E., 2001, "Thermophilic aerobic treatment of a synthetic wastewater in a membrane-coupled bioreactor", *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 26 (4), pp. 203-209.
- LAW, Y., LANT, P. AND YUAN, Z., 2011, "The effect of pH on N₂O production under aerobic conditions in a partial nitritation system", *Water research*, v. 45 (18), pp. 5934-5944.
- LAW, Y., LANT, P. AND YUAN, Z., 2013, "The confounding effect of nitrite on N₂O production by an enriched ammonia-oxidizing culture", *Environmental Science & Technology*, v. 47 (13), pp. 7186-7194.

LAW, Y., YE, L., PAN, Y., YUAN, Z., 2012a, "Nitrous oxide emissions from wastewater treatment processes", *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 367 (1593), pp. 1265-1277.

LEE, Y.Y., CHOI, H. AND CHO, K.S., 2019, "Effects of carbon source, C/N ratio, nitrate, temperature, and pH on N₂O emission and functional denitrifying genes during heterotrophic denitrification", *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 54 (1), pp. 16-29.

LEMAIRE, R., MEYER, R., TASKE, A., CROCETTI, G. R., KELLER, J., & YUAN, Z., 2006, "Identifying causes for N₂O accumulation in a lab-scale sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal" *Journal of Biotechnology*, v. 122 (1), pp. 62–72.

LI XIAOJIN, 2014, "Nitrogen removal by combined nitritation-anammox process in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor", Iowa State University, Graduate Theses and Dissertations, n° 13849.

LI, L., LING, Y., WANG, H., CHU, Z., YAN, G., LI, Z. AND WU, T., 2020, "N₂O emission in partial nitritation-anammox process", *Chinese Chemical Letters*, 31 (1), pp. 28-38.

LI, W., SUN, Y., LI, G., LIU, Z., WANG, H. AND ZHANG, D., 2017, "Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from aged refuse bioreactor at different feeding loads of ammonia substrates", *Waste Management*, v. 68, pp. 319-328.

LIMA, P.S., DEZOTTI, M. AND BASSIN, J.P., 2016, "Interpreting the effect of increasing COD loading rates on the performance of a pre-anoxic MBBR system: implications on the attached and suspended biomass dynamics and nitrification–denitrification activity", *Bioprocess and biosystems engineering*, v. 39 (6), pp. 945-957.

LIU, D., LI, J., LI, C., DENG, Y., ZHANG, Z., YE, Z. AND ZHU, S., 2018, "Poly (butylene succinate)/bamboo powder blends as solid-phase carbon source and biofilm carrier for denitrifying biofilters treating wastewater from recirculating aquaculture system", *Scientific reports*, v. 8 (1), pp. 3289.

LIU, Y., NGO, H.H., GUO, W., PENG, L., WANG, D. AND NI, B., 2019, "The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review", *Environment international*, v. 123, pp. 10-19.

LO, I.W., LO, K.V., MAVINIC, D.S., SHISKOWSKI, D. AND RAMEY, W., 2010, "Contributions of biofilm and suspended sludge to nitrogen transformation and nitrous oxide emission in hybrid sequencing batch system", *Journal of Environmental Sciences*, v. 22 (7), pp. 953-960.

LOCHMATTER, S., GONZALEZ-GIL, G. AND HOLLIGER, C., 2013, "Optimized aeration strategies for nitrogen and phosphorus removal with aerobic granular sludge", *Water research*, v. 47 (16), pp. 6187-6197.

LU, H. AND CHANDRAN, K., 2010, "Factors promoting emissions of nitrous oxide and nitric oxide from denitrifying sequencing batch reactors operated with methanol and ethanol as electron donors", *Biotechnology and bioengineering*, v.106 (3), pp. 390-398.

MA, Y., SUNDAR, S., PARK, H. AND CHANDRAN, K., 2015, "The effect of inorganic carbon on microbial interactions in a biofilm nitrification–anammox process", *Water research*, v. 70, pp. 246-254.

MACHIDA, T., NAKAZAWA, T., FUJII, Y., AOKI, S., WATANABE, O., 1995, "Increase in the atmospheric nitrous oxide concentration during the last 250 year", *Geophysical Research Letters*, v. 22 (21), pp. 2921-2924.

MADIGAN, T.M.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J., 1997, "Brock biology of microorganisms - 8^a ed.", New York: Prentice Hall.

MAHLER, R.L., TAYOR, R. AND PORTER, E., 1990, "Nitrate and groundwater", University of Idaho, Cooperative Extension System, Agricultural Experiment Station, College of Agriculture.

MAMPAEY, K.E., DE KREUK, M.K., VAN DONGEN, U.G., VAN LOOSDRECHT, M.C. AND VOLCKE, E.I., 2016, "Identifying N₂O formation and emissions from a full-scale partial nitrification reactor", *Water research*, v. 88, pp. 575-585.

MANNINA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A. AND DI TRAPANI, D., 2018a, "Nitrous oxide from integrated fixed-film activated sludge membrane bioreactor: assessing the influence of operational variables", *Bioresource technology*, v. 247, pp. 1221-1227.

MANNINA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A., DI TRAPANI, D. AND VAN LOOSDRECHT, M.C., 2017a, "Nitrous oxide emission in a University of Cape Town membrane bioreactor: the effect of carbon to nitrogen ratio", *Journal of Cleaner Production*, v. 149, pp. 180-190.

MANNINA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A., DI TRAPANI, D., LAUDICINA, V.A. AND ØDEGAARD, H., 2017c, "Nitrous oxide from moving bed based integrated fixed film activated sludge membrane bioreactors", *Journal of environmental management*, v. 187, pp. 96-102.

MANNINA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A., LAUDICINA, V.A. AND DI TRAPANI, D., 2017b, "The influence of solid retention time on IFAS-MBR systems: assessment of nitrous oxide emission", *Journal of environmental management*, v. 203, pp. 391-399.

MANNINA, G., EKAMA, G.A., CAPODICI, M., COSENZA, A., DI TRAPANI, D., ØDEGAARD, H. AND VAN LOOSDRECHT, M.M., 2018b, "Influence of carbon to nitrogen ratio on nitrous oxide emission in an Integrated Fixed Film Activated Sludge Membrane Bio Reactor plant", *Journal of cleaner production*, v. 176, pp. 1078-1090.

MAO, Y., BAKKEN, L.R., ZHAO, L. AND FROSTEGÅRD, Å., 2008, "Functional robustness and gene pools of a wastewater nitrification reactor: comparison of dispersed

and intact biofilms when stressed by low oxygen and low pH”, *FEMS microbiology ecology*, v. 66 (1), pp. 167-180.

MATSUMOTO, S., TERADA, A. AND TSUNEDA, S., 2007, “Modeling of membrane-aerated biofilm: effects of C/N ratio, biofilm thickness and surface loading of oxygen on feasibility of simultaneous nitrification and denitrification”, *Biochemical Engineering Journal*, v. 37 (1), pp. 98-107.

MCELROY, M.B., 2002, “The atmospheric environment: effects of human activity”, Princeton: Princeton University Press.

METCALF, L. AND EDDY, H.P., 2015, “Tratamento de efluentes e recuperação de recursos”, McGraw Hill Brasil.

METCALF, L., EDDY, H.P., 2003, “Wastewater engineering: treatment and reuse”, Metcalf & Eddy Inc., 4^a ed., New York: McGraw Hill.

MEZZARI, M. P., DA SILVA, M. L. B., NICOLOSO, R. S., IBELLI, A. M. G., BORTOLI, M., VIANCELLI, A., SOARES, H. M., 2013, “Assessment of N₂O emission from a photobioreactor treating ammonia-rich swine wastewater digestate”, *Bioresource Technology*, v. 149, pp. 327–332.

MIAO, J., YIN, Q., HORI, T., AOYAGI, T., HABE, H. AND WU, G., 2018, “Nitrifiers activity and community characteristics under stress conditions in partial nitrification systems treating ammonium-rich wastewater”, *Journal of Environmental Sciences*, v. 73, pp. 1-8.

MOBARRY, B.K., WAGNER, M., URBAIN, V., RITTMANN, B.E. AND STAHL, D.A., 1996, “Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria”, *Applied and environmental microbiology*, v. 62 (6), pp. 2156-2162.

MORÉE, A.L., BEUSEN, A.H.W., BOUWMAN, A.F. AND WILLEMS, W.J., 2013, “Exploring global nitrogen and phosphorus flows in urban wastes during the twentieth century”, *Global biogeochemical cycles*, v. 27 (3), pp. 836-846.

MORGENROTH, E., 2008a, “Modelling biofilm”, In: HENZE M, LOOSDRECHT MCM, EKAMA GA, BRDJANOVIC D., 2008, *Biological wastewater treatment - principles. Modelling and Design*, IWA Publishing, London, pp 457–492.

MULTI UMWELTTECHNOLOGIE AG, 2019b, “Specification data sheet”, Disponível em: <<https://www.mutag.de/files/pdf/en/specification-mbc-30-eng.pdf?fe6cfe4f9b>>, Acesso: Ago. 2020.

NI, B.J. AND YUAN, Z., 2015, “Recent advances in mathematical modeling of nitrous oxides emissions from wastewater treatment processes”, *Water Research*, v. 87, pp. 336-346.

NICOLELLA, C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. AND HEIJNEN, J.J., 2000, “Wastewater treatment with particulate biofilm reactors”, *Journal of biotechnology*, v. 80 (1), pp. 1-33.

NOAA - NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION, Disponível em: <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/hats/combined/N2O.html>>, Acesso em: Set. 2019.

ØDEGAARD, H., 2006, “Innovation in wastewater treatment: the moving bed biofilm process”, *Water Science and Technology*, v. 53, pp. 17-33.

ØDEGAARD, H., GISVOLD, B., STRICKLAND, J., 2000, “The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process”, *Water Science and Technology*, v. 41 (4-5), pp. 383-391.

ØDEGAARD, H., RUSTEN, B., WESTRUM, T., 1994, “A new moving bed biofilm reactor – applications and results”, *Water Science and Technology*, v. 29 (10-11), pp. 157-165.

OKABE, S., KINDAICHI, T., ITO, T., 2005, “Fate of ¹⁴C-labeled microbial products derived from nitrifying bacteria in autotrophic nitrifying biofilms”, *Applied Environmental Microbiology*, v. 71 (7), pp. 3987-3994.

PAINTER, H.A. AND LOVELESS, J.E., 1983, “Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated-sludge process”, *Water research*, v. 17 (3), pp. 237-248.

PAN, Y., YE, L. AND YUAN, Z., 2013, “Effect of H₂S on N₂O reduction and accumulation during denitrification by methanol utilizing denitrifiers”, *Environmental Science & Technology*, v.47 (15), pp. 8408-8415.

PARRAVICINI, V., SVARDAL, K. AND KRAMPE, J., 2016, “Greenhouse gas emissions from wastewater treatment plants”, *Energy Procedia*, v. 97, pp. 246-253.

PARK, H.-D., WELLS, G.F., BAE, H., CRIDDLE, C.S., FRANCIS, C.A., 2006, “Occurrence of ammonia-oxidizing Archaea in wastewater treatment plant bioreactors”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72 (8), pp. 5643–5647.

PASTORELLI, G., CANZIANI, R., PEDRAZZI, L., ROZZI, A., 1999, “Phosphorus and nitrogen removal in moving-bed sequencing batch biofilm reactors”, *Water Science Technology*, v. 40, pp. 169–176.

PENG, L., LIU, Y. AND NI, B.J., 2016, “Nitrous oxide production in completely autotrophic nitrogen removal biofilm process: a simulation study”, *Chemical Engineering Journal*, v. 287, pp. 217-224.

PENG, L., XIE, Y., VAN BEECK, W., ZHU, W., VAN TENDELOO, M., TYTGAT, T., LEBEER, S. AND VLAEMINCK, S.E., 2020, “Return-Sludge Treatment with Endogenous Free Nitrous Acid Limits Nitrate Production and N₂O Emission for Mainstream Partial Nitrification/Anammox”, *Environmental science & technology*, v. 54 (9), pp. 5822-5831.

PERNTHALER, J., GLÖCKNER, F.O., SCHÖNHUBER, W. AND AMANN, R., 2001, "Fluorescence in situ hybridization (FISH) with rRNA-targeted oligonucleotide probes", *Methods in microbiology*, v. 30, pp. 207-226.

PHILIPS, A.M.L., 2008, "Utilização de reator de biodiscos para tratamento de efluentes com altas concentrações de nitrogênio", Tese Doutorado em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PICULELL, M., WELANDER, P., JÖNSSON, K. AND WELANDER, T., 2016, "Evaluating the effect of biofilm thickness on nitrification in moving bed biofilm reactors", *Environmental technology*, v. 37 (6), pp. 732-743.

PIVELI, R. P., 2009, "Utilização de Esgoto Tratado na Agricultura: Aporte de Água e Nutrientes", In: MOTA, F. S. B., VON SPERLING, M. (eds), *Nutrientes de esgoto sanitário: Utilização e remoção*, 1 ed., cap. 3. Rio de Janeiro, ABES.

POCQUET, M., WU, Z., QUEINNEC, I. AND SPÉRANDIO, M., 2016, "A two pathway model for N₂O emissions by ammonium oxidizing bacteria supported by the NO/N₂O variation" *Water research*, v. 88, pp. 948-959.

POMMERENING-RÖSER, A., RATH, G. AND KOOPS, H.P., 1996. "Phylogenetic diversity within the genus *Nitrosomonas*", *Systematic and Applied Microbiology*, v. 19 (3), pp. 344-351.

POTH, M. AND FOCHT, D.D., 1985, "15N kinetic analysis of N₂O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification", *Applied and environmental microbiology*, v. 49 (5), pp. 1134-1141

QUEIROZ, L.M., AUN, M.V., MORITA, D.M., ALEM SOBRINHO, P., 2011, "Biological nitrogen removal over nitrification/denitrification using phenol as carbon source", *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 28 (2), pp. 197-207.

RASSAMEE, V., SATTAYATEWA, C., PAGILLA, K., CHANDRAN, K., 2011, "Effect of oxic and anoxic conditions on nitrous oxide emissions from nitrification and denitrification processes", *Biotechnology and Bioengineering*, v. 108 (9), pp. 2036-2045.

RAVISHANKARA, A.R., DANIEL, J.S. AND PORTMANN, R.W., 2009, "Nitrous oxide (N₂O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century", *Science*, v. 326 (5949), pp. 123-125.

RIBEIRO, R.P., 2013, "Emissões de óxido nitroso do tanque de aeração de uma estação de tratamento de esgotos com sistema de lodos ativados convencional", Dissertação de mestrado, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

RIBEIRO, R.P., 2017, "Emissões de óxido nitroso em diferentes condições operacionais de sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados em escala real e de bancada", Tese de Doutorado, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

RIBEIRO, R.P., FERREIRA, H.B.P., UBERTI, A.E., VALÉRIO, R.R., RIETOW, J.C., AMARAL, K.G. AND AISSE, M.M., 2020, "Evaluation of the spatial and temporal

variability of nitrous oxide (N₂O) emissions at two different full-scale aerobic treatment systems used in the post-treatment of UASB effluents in Brazil”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, pp. 104676.

RITTMANN, B.E., MCCARTY, P.L., 2012, “Environmental biotechnology: principles and applications”, 1^a ed., Tata McGraw-Hill Education.

RODRÍGUEZ-CABALLERO, A., AYMERICH, I., MARQUES, R., POCH, M. AND PIJUAN, M., 2015, “Minimizing N₂O emissions and carbon footprint on a full-scale activated sludge sequencing batch reactor”, *Water Research*, v. 71, pp. 1-10.

RUSTEN, B., EIKEBROKK, B., ULGENES, Y., LYGREN, E., 2006, “Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors”, *Aquacultural Engineering*, v. 34, pp. 322-331.

RUSTEN, B., HEM, L.J., ODEGAARD, H., 1995, “Nitrification of municipal wastewater in moving-bed biofilm reactors”, *Water Environment Research*, v. 67 (1), pp. 75-86.

SABBA, F., PICIOREANU, C. AND NERENBERG, R., 2017, “Mechanisms of nitrous oxide (N₂O) formation and reduction in denitrifying biofilms” *Biotechnology and Bioengineering*, v. 114 (12), pp. 2753-2761.

SABBA, F., PICIOREANU, C., PÉREZ, J. AND NERENBERG, R., 2015, “Hydroxylamine diffusion can enhance N₂O emissions in nitrifying biofilms: a modeling study”, *Environmental Science & Technology*, v. 49 (3), pp. 1486-1494.

SABBA, F., TERADA, A., WELLS, G., SMETS, B.F. AND NERENBERG, R., 2018, “Nitrous oxide emissions from biofilm processes for wastewater treatment”, *Applied microbiology and biotechnology*, v. 102 (22), pp. 9815-9829.

SANCHEZ-RODRIGUEZ, A., GONZALEZ-MARTINEZ, A., MARTINEZ-TOLEDO, M.V., GARCIA-RUIZ, M.J., OSORIO, F. AND GONZALEZ-LOPEZ, J., 2014, “The effect of influent characteristics and operational conditions over the performance and microbial community structure of partial nitritation reactors”, *Water*, v. 6 (7), pp. 1905-1924.

SANDER, R., 2015, “Compilation of Henry’s law constants (version 4.0) for water as solvent. Atmos”, *Chem. Phys.*, v. 15 (8), pp. 4399-4981.

SANTORO, A.E., BUCHWALD, C., MCILVIN, M.R. AND CASCIOTTI, K.L., 2011, “Isotopic signature of N₂O produced by marine ammonia-oxidizing archaea”, *Science*, v. 333 (6047), pp. 1282-1285.

SCARE, R.F., 2003, “Escassez de água e mudança institucional: análise da regulação dos recursos hídricos no Brasil”, *Dissertação de M.Sc, Universidade de São Paulo, São Paulo.*

SCHERSON, Y.D., WELLS, G.F., WOO, S.G., LEE, J., PARK, J., CANTWELL, B.J. AND CRIDDLE, C.S., 2013, “Nitrogen removal with energy recovery through N₂O decomposition”, *Energy & Environmental Science*, v. 6 (1), pp. 241-248.

SCHÖNHARTING, B., REHNER, R., METZGER, J.W., KRAUTH, K. AND RIZZI, M., 1998, "Release of nitrous oxide (N₂O) from denitrifying activated sludge caused by H₂S-containing wastewater: quantification and application of a new mathematical model", *Water Science and technology*, v. 38 (1), pp. 237-246.

SCHREIBER, F., LOEFFLER, B., POLERECKY, L., KUYPERS, M.M. AND DE BEER, D., 2009, "Mechanisms of transient nitric oxide and nitrous oxide production in a complex biofilm", *The ISME journal*, v. 3 (11), pp. 1301.

SCHREIBER, F., POLERECKY, L. AND DE BEER, D., 2008, "Nitric oxide microsensor for high spatial resolution measurements in biofilms and sediments", *Analytical Chemistry*, v. 80 (4), pp. 1152-1158.

SCHREIBER, F., WUNDERLIN, P., UDERT, K.M. AND WELLS, G.F., 2012, "Nitric oxide and nitrous oxide turnover in natural and engineered microbial communities: biological pathways, chemical reactions, and novel technologies", *Frontiers in microbiology*, v. 3, pp. 372.

SEIFI, M., FAZAEIPOOR, M.H., 2012, "Modeling simultaneous nitrification and denitrification (SND) in a fluidized bed biofilm reactor", *Applied Mathematical Modelling*, v. 36 (11), pp. 5603-5613.

SHARMA, B. AND AHLERT, R.C., 1977, "Nitrification and nitrogen removal", *Water Research*, v. 11 (10), pp. 897-925.

SHAW, L.J., NICOL, G.W., SMITH, Z., FEAR, J., PROSSER, J.I., BAGGS, E.M., 2006, "Nitrospira spp. can produce nitrous oxide via a nitrifier denitrification pathway", *Environmental Microbiology*, v. 8 (2), pp. 214-222.

SHORE, J.L., M'COY, W.S., GUNSCH, C.K. AND DESHUSSES, M.A., 2012, "Application of a moving bed biofilm reactor for tertiary ammonia treatment in high temperature industrial wastewater", *Bioresource technology*, v. 112, pp. 51-60.

SOLER-JOFRA, A., PICIOREANU, C., YU, R., CHANDRAN, K., VAN LOOSDRECHT, M.C. AND PÉREZ, J., 2018, "Importance of hydroxylamine in abiotic N₂O production during transient anoxia in planktonic axenic Nitrosomonas cultures", *Chemical Engineering Journal*, v. 335, pp. 756-762.

SONG, X., YANG, X., HALLERMAN, E., JIANG, Y. AND HUANG, Z., 2020, "Effects of Hydraulic Retention Time and Influent Nitrate-N Concentration on Nitrogen Removal and the Microbial Community of an Aerobic Denitrification Reactor Treating Recirculating Marine Aquaculture System Effluent", *Water*, v. 12 (3), pp. 650.

STEFANAKIS, A., AKRATOS, C.S., TSIHRINTZIS, V.A., 2014, "Vertical flow constructed wetlands: eco-engineering systems for wastewater and sludge treatment", *Newnes*.

STEIN, L.Y., 2011, "Surveying N₂O-producing pathways in bacteria", In *Methods in enzymology*, v. 486, pp. 131-152.

STENSTRÖM, F. AND LA COUR JANSEN, J., 2017, "Impact on nitrifiers of full-scale bioaugmentation" *Water science and technology*, v. 76 (11), pp. 3079-3085.

STOODLEY, P., SAUER, K., DAVIES, D.G., COSTERTON, J.W., 2002, "Biofilms as complex differentiated communities", *Annual Reviews in Microbiology*, v. 56 (1), pp. 187-209.

STROKAL, M., KROEZE, C., 2014, "Nitrous oxide (N₂O) emissions from human waste in 1970–2050", *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 9, pp. 108-121.

STROUS, M., HEIJNEN, J.J., KUENEN, J.G. AND JETTEN, M.S.M., 1998, "The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms", *Applied microbiology and biotechnology*, v. 50 (5), pp. 589-596.

SU, Q., DOMINGO-FÉLEZ, C., ZHANG, Z., BLUM, J.M., JENSEN, M.M. AND SMETS, B.F., 2019, "The effect of pH on N₂O production in intermittently-fed nitrification reactors", *Water research*, v. 156, pp. 223-231.

SUI, Q., LIU, C., ZHANG, J., DONG, H., ZHU, Z. AND WANG, Y., 2016, "Response of nitrite accumulation and microbial community to free ammonia and dissolved oxygen treatment of high ammonium wastewater", *Applied microbiology and biotechnology*, v. 100 (9), pp. 4177-4187.

SUN, SHENG-PENG, NÀCHER C. L., MERKEY B., ZHOU Q., SI-QING XIA, YANG D.H., SUN J.H., SMETS B.F., 2010, "Effective Biological Nitrogen Removal Treatment Processes for Domestic Wastewaters with Low C/N Ratios: A Review", *Environmental Engineering Science*, v. 27, pp. 111-126.

TALLEC G., GARNIER J., BILLEN G., GOUSAILLES M., 2008, "Nitrous oxide emissions from denitrifying activated sludge of urban wastewater treatment plants, under anoxia and low oxygenation", *Bioresource Technologies*, v. 99 (7), pp. 2200–2209.

TALLEC, G., GARNIER, J., BILLEN, G., GOUSAILLES, M., 2006a, "Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: effect of oxygenation level", *Water Research*, v. 40 (15), pp. 2972–2980.

TALLEC, G., GARNIER, J., GOUSAILLES, M., 2006b, "Nitrogen removal in a wastewater treatment plant through biofilters: nitrous oxide emissions during nitrification and denitrification", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 29 (5–6), pp. 323–333.

TÉCNICA, N., 1986. NT-202. R-10, "Critérios e Padrões Para Lançamento de Efluentes Líquidos".

TERADA, A., SUGAWARA, S., HOJO, K., TAKEUCHI, Y., RIYA, S., HARPER JR, W.F., YAMAMOTO, T., KUROIWA, M., ISOBE, K., KATSUYAMA, C., SUWA, Y., 2017, "Hybrid nitrous oxide production from a partial nitrifying bioreactor: hydroxylamine interactions with nitrite", *Environmental science & technology*, v. 51 (5), pp. 2748-2756.

TIJHUIS, L., REKSWINKEL, E., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J., 1994, "Dynamics of population and biofilm structure in the biofilm airlift suspension reactor for carbon and nitrogen removal", *Water Science & Technology*, v. 29 (10-11), pp. 377.

TODT, D. AND DÖRSCH, P., 2015, "Nitrous oxide emissions in a biofilm loaded with different mixtures of concentrated household wastewater", *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 12 (11), pp. 3405-3416.

TODT, D. AND DÖRSCH, P., 2016, "Mechanism leading to N₂O production in wastewater treating biofilm systems", *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 15 (3), pp. 355-378.

TORRESI, E., POLESEL, F., BESTER, K., CHRISTENSSON, M., SMETS, B.F., TRAPP, S., ANDERSEN, H.R., PLÓSZ, B.G., 2017, "Diffusion and sorption of organic micropollutants in biofilms with varying thicknesses", *Water research*, v. 123, pp. 388-400.

TÔSTO, K.L., 2014, "Regulação das taxas de emissão de óxido nitroso (N₂O) em solos amazônicos pelo pulso de inundação", *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

TSUNEDA, S., MIKAMI, M., KIMOCHI, Y., HIRATA, A., 2005, "Effect of salinity on nitrous oxide emission in the biological nitrogen removal process for industrial wastewater", *Journal of Hazardous Materials*, v. 119 (1-3), pp. 93-98.

TURK, O., MAVINIC, D.S., 1986, "Preliminary assessment of a shortcut in nitrogen removal from wastewater", *Canadian Journal of Civil Engineering*, v. 13 (6), pp. 600-605.

UNEP - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME, 2013, "Drawing Down N₂O to Protect Climate and the Ozone Layer", *UNEP Synthesis Report*, Nairobi, Kenya.

VACKOVÁ, L., SRB, M., STLOUKAL, R. AND WANNER, J., 2011, "Comparison of denitrification at low temperature using encapsulated *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens* and mixed culture", *Bioresource technology*, v. 102 (7), pp. 4661-4666.

VAN BENTHUM, W.A.J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J., 1997, "Process design for nitrogen removal using nitrifying biofilm and denitrifying suspended growth in a biofilm airlift suspension reactor", *Water Science and Technology*, v. 36, pp. 119-128.

VAN HAANDEL, A.C., VAN DER LUBBE, J.G.M., 2007, "Handbook Biological Waste Water Treatment: Design and Optimisation of Activated Sludge Systems", *Quist Publishing*, Leidschendam, Netherlands.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M., VROUWENVELDER, J.S., MANOLARAKIS, S.A., VAN DER HOEK, J.P., VAN PAASSEN, J.A.M., VAN DER MEER, W.G.J., VAN AGTMAAL, J.M.C., PRUMMEL, H.D.M., KRUIHOF, J.C., 2008, "Quantitative

biofouling diagnosis in full scale nanofiltration and reverse osmosis installations”, *Water Research*, v. 42, pp. 4856-4868.

VIEIRA, A., MARQUES, R., GALINHA, C., POVOA, P., CARVALHO, G. AND OEHMEN, A., 2019, “Nitrous oxide emissions from a full-scale biological aerated filter (BAF) subject to seawater infiltration”, *Environmental Science and Pollution Research*, v. 26 (20), pp. 20939-20948.

VISHNIAC, W. AND SANTER, M., 1957, “The thiobacilli”, *Bacteriological reviews*, v. 21 (3), pp. 195.

VISIGALLI, S., TUROLLA, A., BELLANDI, G., BELLUCCI, M., CLAGNAN, E., BRUSETTI, L., JIA, M., DI COSMO, R., MENIN, G., BARGNA, M. AND BERGNA, G., 2020, “Autotrophic nitrogen removal for decentralized treatment of ammonia-rich industrial textile wastewater: process assessment, stabilization and modelling”, *Environmental Science and Pollution Research*, pp. 1-12.

VITOUSEK, P.M., ABER, J.D., HOWARTH, R.W., LIKENS, G.E., MATSON, P.A., SCHINDLER, D.W., SCHLESINGER, W.H., TILMAN, D.G., 1997, “Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences”, *Ecological applications*, v. 7 (3), pp. 737-750.

VLAEMINCK, S.E., TERADA, A., SMETS, B.F., DE CLIPPELEIR, H., SCHAUBROECK, T., BOLCA, S., DEMEESTERE, L., MAST, J., BOON, N., CARBALLA M., VERSTRAETE, W., 2010, “Aggregate size and architecture determine microbial activity balance for one-stage partial nitrification and anammox”, *Applied Environmental Microbiology*, v. 76 (3), pp. 900-909.

VLAEMINCK, S.E., TERADA, A., SMETS, B.F., LINDEN, D.V.D., BOON, N., VERSTRAETE, W. AND CARBALLA, M., 2009, “Nitrogen removal from digested black water by one-stage partial nitrification and anammox”, *Environmental Science & Technology*, v. 43 (13), pp. 5035-5041.

VON SPERLING, M., 1996, “Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos”, Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental.

VON SPERLING, M., 2005, “Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos: princípios do tratamento biológico de águas residuárias”, Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 1, pp. 452.

VON SPERLING, M., 2007b, “Biological Wastewater Treatment Series: Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors”, 1ª ed., Editora IWA Publishing, Londres.

VROOM, J.M., DE GRAUW, K.J., GERRITSEN, H.C., BRADSHAW, D.J., MARSH, P.D., WATSON, G.K., BIRMINGHAM, J.J., ALLISON, C., 1999, “Depth penetration and detection of pH gradients in biofilms by two-photon excitation microscopy”, *Applied Environmental Microbiology*, v. 65 (8), pp. 3502-3511.

WAGNER, M., RATH, G., AMANN, R., KOOPS, H.P. AND SCHLEIFER, K.H., 1995, "In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria", *Systematic and applied microbiology*, v.18 (2), pp. 251-264.

WANG, J., BALZIS, B., LEWANDOWSKI, G., 1995, "Fundamental denitrification kinetic studies with *Pseudomonas denitrificans*", *Biotechnology and Bioengineering*, v. 47, pp. 27-41.

WANG, Q., DUAN, H., WEI, W., NI, B.J., LALOO, A. AND YUAN, Z., 2017c, "Achieving stable mainstream nitrogen removal via the nitrite pathway by sludge treatment using free ammonia", *Environmental Science & Technology*, v. 51 (17), pp. 9800-9807.

WEI, D., ZHANG, K., NGO, H.H., GUO, W., WANG, S., LI, J., HAN, F., DU, B., WEI, Q., 2017, "Nitrogen removal via nitrite in a partial nitrification sequencing batch biofilm reactor treating high strength ammonia wastewater and its greenhouse gas emission", *Bioresource technology*, v. 230, pp. 49-55.

WIESMANN, U., CHOI, I.S., DOMBROWSKI, E.M., 2007, "Fundamentals of biological wastewater treatment", Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA.

WRAGE, N., VELTHOF, G.L., VAN BEUSICHEM, M.L., OENEMA, O., 2001, "Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide", *Soil biology and Biochemistry*, v. 33 (12-13), pp. 1723-1732.

WU, G., ZHENG, D., XING, L., 2014, "Nitritation and N₂O emission in a denitrification and nitrification two-sludge system treating high ammonium containing wastewater", *Water*, v. 6 (10), pp. 2978-2992.

WUNDERLIN, P., MOHN, J., JOSS, A., EMMENEGGER, L., SIEGRIST, H., 2012, "Mechanisms of N₂O production in biological wastewater treatment under nitrifying and denitrifying conditions", *Water research*, v. 46 (4), pp. 1027-1037.

YAN, X., ZHENG, J., HAN, Y., LIU, J., SUN, J., 2017, "Effect of influent C/N ratio on N₂O emissions from anaerobic/anoxic/oxic biological nitrogen removal processes", *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24 (30), pp. 23714-23724.

YANG, J., TRELA, J., PLAZA, E. AND TJUS, K., 2013, "N₂O emissions from a one stage partial nitrification/anammox process in moving bed biofilm reactors", *Water science and technology*, v. 68 (1), pp. 144-152.

YANG, Y., YU, K., XIA, Y., LAU, F.T., TANG, D.T., FUNG, W.C., FANG, H.H., ZHANG, T., 2014, "Metagenomic analysis of sludge from full-scale anaerobic digesters operated in municipal wastewater treatment plants", *Applied microbiology and biotechnology*, v. 98 (12), pp. 5709-5718.

YE, R. W., THOMAS, S. M., 2001, "Microbial nitrogen cycles: physiology, genomics and application", *Current Opinion in Microbiology*, v. 4, pp. 307-312.

YOUNG, B., DELATOLLA, R., KENNEDY, K., LAFLAMME, E. AND STINTZI, A., 2017, "Post carbon removal nitrifying MBBR operation at high loading and exposure to starvation conditions", *Bioresource technology*, v. 239, pp. 318-325.

YU, R., KAMPSCHREUR, M. J., VAN LOOSDRECHT, M. C., CHANDRAN, K., 2010, "Mechanisms and specific directionality of autotrophic nitrous oxide and nitric oxide generation during transient anoxia", *Environmental Science & Technology*, v. 44 (4), pp. 1313-1319.

ZAFARZADEH, A., BINA, B., NIKAEEN, M., MOVAHEDIAN, A.H. AND HAJIAN, N.M., 2010, "Performance of moving bed biofilm reactors for biological nitrogen compounds removal from wastewater by partial nitrification-denitrification process".

ZHANG, J., ZHOU, J., HAN, Y., ZHANG, X., 2014, "Start-up and bacterial communities of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) for treatment of high strength ammonia wastewater", *Bioresource technology*, v. 169, pp. 652-657.

ZHANG, S., WANG, Y., HE, W., XING, M., WU, M., YANG, J., GAO, N., SHENG, G., YIN, D. AND LIU, S., 2013, "Linking nitrifying biofilm characteristics and nitrification performance in moving-bed biofilm reactors for polluted raw water pretreatment", *Bioresource technology*, v. 146, pp. 416-425.

ZHAO, Y., LIU, D., HUANG, W., YANG, Y., JI, M., NGHIEM, L.D., TRINH, Q.T., TRAN, N.H., 2019, "Insights into biofilm carriers for biological wastewater treatment processes: Current state-of-the-art, challenges, and opportunities", *Bioresource technology*, v. 288, pp. 1216 - 1219.

ZHEN, P.Y., YONG, M., YING, W.S., 2007, "Denitrification potential enhancement by addition of external carbon sources in a pre-denitrification process", *Journal Environmental Sciences*, v. 19 (3), pp. 284-289.

ZHOU, X., SONG, J., WANG, G., YIN, Z., CAO, X. AND GAO, J., 2020, "Unravelling nitrogen removal and nitrous oxide emission from mainstream integrated nitrification-partial denitrification-anammox for low carbon/nitrogen domestic wastewater", *Journal of Environmental Management*, v. 270, pp. 110872.

ZHOU, Y., OEHMEN, A., LIM, M., VADIVELU, V. AND NG, W.J., 2011, "The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants", *Water research*, v. 45 (15), pp. 4672-4682.

ZOPPAS, F.M., BERNARDES, A.M., MENEGUZZI, Á., 2016, "Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea", *Engenharia sanitária e ambiental: órgão oficial de informação técnica da ABES.*, v. 21 (1), pp. 29-42.

7- ANEXOS

Anexo (a)

- Tabelas de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada estudo da remoção de N amoniacal – Comparativo entre faixas do mesmo reator

Tabela 7-1: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar as remoções de N amoniacal durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R1.

R1	Comparativo entre a remoção para as faixas de N amoniacal testadas (p-crítico: 0,05)			
	Faixas Comparadas	p-valor	N (observações)	Resultado
	0-1 e 1-2	0,00	12	diferentes
	1-2 e 2-3	0,00	12	diferentes
	2-3 e 3-4	0,13	11	iguais
	3-4 e 4-5	0,16	10	iguais
	4-5 e 5-6	0,02	8	diferentes
	5-6 e 6-7	0,00	8	diferentes
	6-7 e 7-8	0,50	9	iguais
	7-8 e 8-9	0,96	8	iguais
	8-9 e 9-10	0,04	7	diferentes
	9-10 e 10-11	0,20	8	iguais
	10-11 e 11-12	0,12	8	iguais
	11-12 e 12-13	0,05	9	diferentes
	12-13 e 13-14	0,15	17	iguais
	13-14 e 14-15	0,09	22	iguais
	14-15 e 15-16	0,99	14	iguais
	15-16 e 16-17	0,77	8	iguais
	16-17 e 17-18	0,02	6	diferentes
	17-18 e 18-19	0,00	6	diferentes
	18-19 e 19-20	0,17	6	iguais
	19-20 e 20-21	0,43	7	iguais
	20-21 e 21-22	0,72	7	iguais
	21-22 e 22-23	0,70	7	iguais
	22-23 e 23-24	0,87	8	iguais
	23-24 e 24 e 25	0,26	8	iguais

Tabela 7-2: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar as remoções de N amoniacal durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R2.

R2	Comparativo entre a remoção para as faixas de N amoniacal testadas (p-crítico: 0,05)		
Faixas Comparadas	p-valor	N (observações)	Resultado
0-1 e 1-2	0,00	12	diferentes
1-2 e 2-3	0,02	12	diferentes
2-3 e 3-4	0,13	12	iguais
3-4 e 4-5	0,00	10	diferentes
4-5 e 5-6	0,95	7	iguais
5-6 e 6-7	0,01	9	diferentes
6-7 e 7-8	0,18	10	iguais
7-8 e 8-9	0,17	9	iguais
8-9 e 9-10	0,65	6	iguais
9-10 e 10-11	0,50	5	iguais
10-11 e 11-12	0,27	6	iguais
11-12 e 12-13	0,02	10	diferentes
12-13 e 13-14	0,25	17	iguais
13-14 e 14-15	0,29	19	iguais
14-15 e 15-16	0,35	11	iguais
15-16 e 16-17	0,23	9	iguais
16-17 e 17-18	0,08	10	iguais
17-18 e 18-19	0,08	7	iguais
18-19 e 19-20	0,06	7	iguais
19-20 e 20-21	0,01	7	diferentes
20-21 e 21-22	0,02	7	diferentes
21-22 e 22-23	0,99	8	iguais
22-23 e 23-24	1,00	8	iguais
23-24 e 24 e 25	0,25	8	iguais

- Tabela de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada estudo da remoção de N amoniacal – Comparativo entre reatores na mesma faixa de carga amoniacal aplicada

Tabela 7-3: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os desempenhos nas remoções de N dos dois reatores para a mesma faixa de carga de N amoniacal aplicada.

R1 vs. R2	Comparativo entre os reatores para a mesma faixa de N amoniacal testada (p-crítico: 0,05)		
	Faixa Comparada	p-valor	N (observações)
0-1	0,70	10	iguais
1-2	0,49	14	iguais
2-3	0,56	10	iguais
3-4	0,42	11	iguais
4-5	0,22	7	iguais
5-6	0,16	8	iguais
6-7	0,34	8	iguais
7-8	0,76	11	iguais
8-9	0,38	6	iguais
9-10	0,12	7	iguais
10-11	0,00	8	diferentes
11-12	0,022	8	diferentes
12-13	0,05	18	diferentes
13-14	0,03	23	diferentes
14-15	0,01	18	diferentes
15-16	0,53	7	iguais
16-17	0,19	10	iguais
17-18	0,09	7	iguais
18-19	0,75	6	iguais
19-20	0,06	7	iguais
20-21	0,02	7	diferentes
21-22	0,63	7	iguais
22-23	0,34	8	iguais
23-24	0,34	8	iguais
24-25	0,40	8	iguais

- Perfil de OD frente as cargas de N amoniacal aplicadas

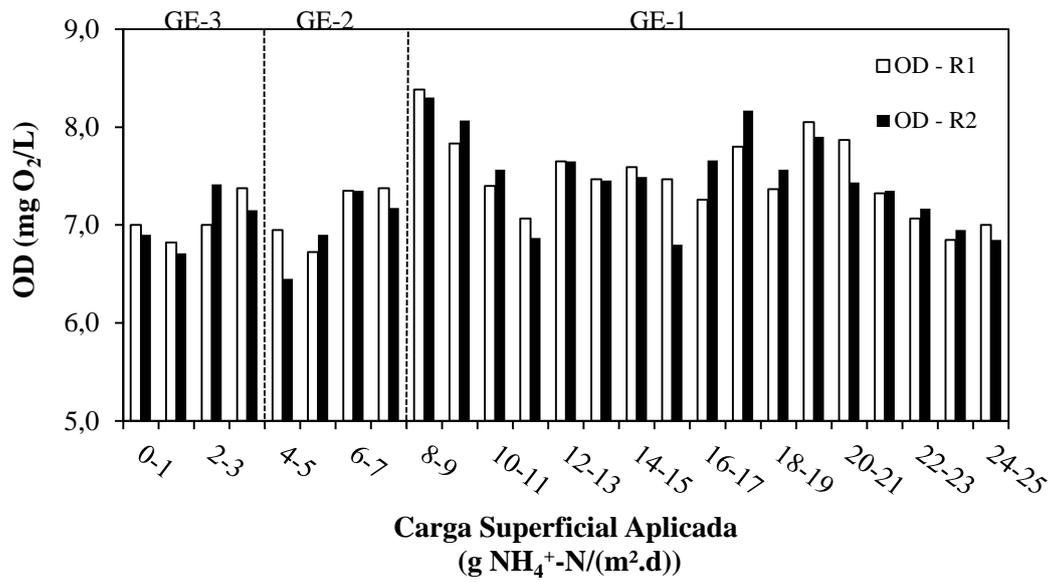


Figura 7-1: Perfil de OD, em mg O₂/L, para os intervalos de cargas de NH₄⁺-N aplicadas para os reatores R1 e R2.

- Relação entre as espécies nitrogenadas solúveis no efluente/total de espécies nitrogenadas solúveis no efluente

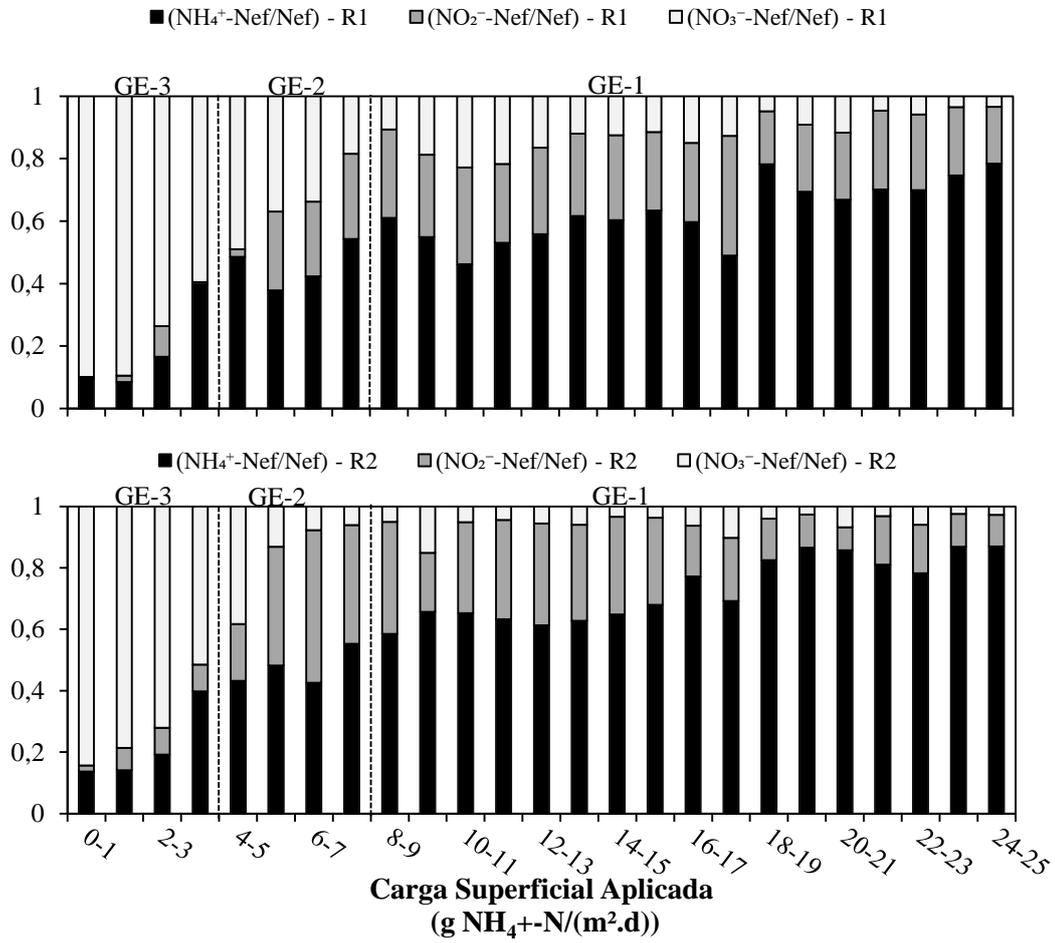


Figura 7-2: Relações entre as espécies nitrogenadas solúveis efluentes (NH₄⁺-N, NO₂⁻-N e NO₃⁻-N) e o somatório de todas as espécies nitrogenadas solúveis efluentes (NH₄⁺-N + NO₂⁻-N + NO₃⁻-N) para os reatores R1 e R2.

- Perfil da variação do pH durante o teste em batelada de variação de pH na ausência de organismos; variação da concentração de NH_3 livre e pH frente às cargas de nitrogênio amoniacal aplicadas nos ensaios contínuos

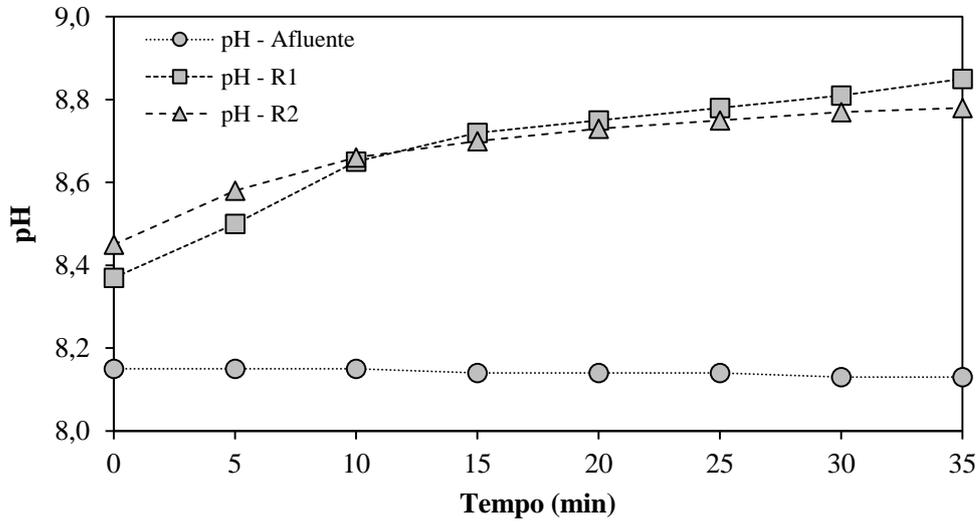


Figura 7-3: Variações temporais do pH afluente e efluente para o R1 e R2 durante o ensaio de variação de pH em batelada na ausência de microrganismos.

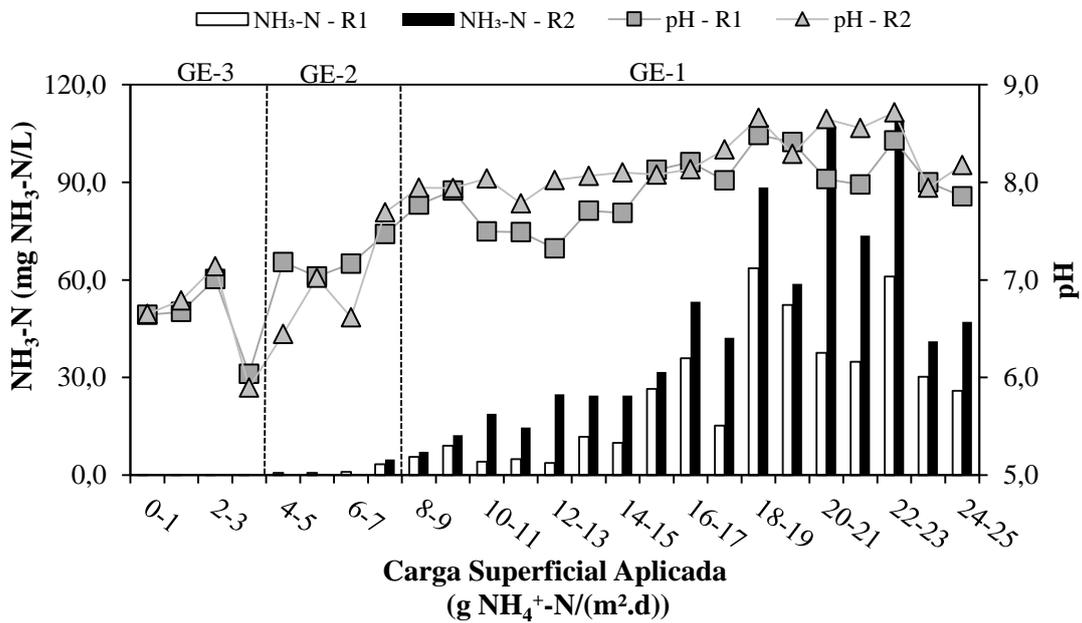


Figura 7-4: Variação de NH_3 livre (mg NH_3 -N/L) e pH durante as variações de cargas de NH_4^+ -N aplicadas para os reatores R1 e R2.

Anexo (b)

- Tabelas de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para os fluxos de emissão de N₂O-N frente as remoções de N amoniacal – Comparativo entre faixas do mesmo reator

Tabela 7-4: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar os fluxos de emissão de N₂O-N para as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R1.

R1	Comparativo entre o fluxo de emissão de N ₂ O-N para as faixas de N amoniacal testadas (p-crítico: 0,05)			
	Faixas Comparadas	p-valor	N (observações)	Resultado
	0-1 e 1-2	0,156	4	iguais
	1-2 e 2-3	0,663	5	iguais
	2-3 e 3-4	0,624	4	iguais
	3-4 e 4-5	0,517	2	iguais
	4-5 e 5-6	0,026	2	diferentes
	5-6 e 6-7	0,707	2	iguais
	6-7 e 7-8	0,384	2	iguais
	7-8 e 8-9	0,900	2	iguais
	8-9 e 9-10	0,211	2	iguais
	9-10 e 10-11	0,273	2	iguais
	10-11 e 11-12	0,481	3	iguais
	11-12 e 12-13	0,611	3	iguais
	12-13 e 13-14	0,638	4	iguais
	13-14 e 14-15	0,733	5	iguais
	14-15 e 15-16	0,421	4	iguais
	15-16 e 16-17	0,288	2	iguais
	16-17 e 17-18	0,695	3	iguais
	17-18 e 18-19	0,184	2	iguais
	18-19 e 19-20	0,158	2	iguais
	19-20 e 20-21	0,196	3	iguais
	20-21 e 21-22	0,822	2	iguais
	21-22 e 22-23	0,532	2	iguais
	22-23 e 23-24	0,043	2	diferentes
	23-24 e 24 e 25	0,576	2	iguais

Tabela 7-5: Resultados dos testes estatísticos realizados para comparar os fluxos de emissão de N₂O-N durante as diferentes cargas de N amoniacal aplicadas ao R2.

R2	Comparativo entre o fluxo de emissão de N ₂ O-N para as faixas de N amoniacal testadas (p-crítico: 0,05)			
	Faixas Comparadas	p-valor	N (observações)	Resultado
	0-1 e 1-2	0,226	4	iguais
	1-2 e 2-3	0,442	5	iguais
	2-3 e 3-4	0,459	4	iguais
	3-4 e 4-5	0,730	2	iguais
	4-5 e 5-6	0,116	3	iguais
	5-6 e 6-7	0,148	2	iguais
	6-7 e 7-8	0,334	2	iguais
	7-8 e 8-9	0,491	2	iguais
	8-9 e 9-10	0,003	2	diferentes
	9-10 e 10-11	0,050	2	iguais
	10-11 e 11-12	0,646	3	iguais
	11-12 e 12-13	0,857	3	iguais
	12-13 e 13-14	0,730	4	iguais
	13-14 e 14-15	0,710	5	iguais
	14-15 e 15-16	0,202	3	iguais
	15-16 e 16-17	0,261	2	iguais
	16-17 e 17-18	0,170	3	iguais
	17-18 e 18-19	0,265	2	iguais
	18-19 e 19-20	0,024	2	diferentes
	19-20 e 20-21	0,348	3	iguais
	20-21 e 21-22	0,623	2	iguais
	21-22 e 22-23	0,995	2	iguais
	22-23 e 23-24	0,578	2	iguais
	23-24 e 24 e 25	0,656	2	iguais

- Tabela de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada estudo de fluxo de emissão de N_2O-N – Comparativo entre reatores na mesma faixa de carga amoniacal aplicada

Tabela 7-6: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os fluxos de emissão de N_2O-N observados nos dois reatores para a mesma faixa de carga de N amoniacal aplicada.

R1 vs. R2		Comparativo de fluxo de emissão de N_2O-N entre os reatores para a mesma faixa de N amoniacal testada (p-crítico: 0,05)		
Faixa	Comparada	p-valor	N (observações)	Resultado
0-1		0,841	10	iguais
1-2		0,421	8	iguais
2-3		0,511	4	iguais
3-4		0,653	5	iguais
4-5		0,096	4	iguais
5-6		0,333	4	iguais
6-7		0,157	4	iguais
7-8		0,567	4	iguais
8-9		0,333	4	iguais
9-10		0,709	6	iguais
10-11		0,056	6	iguais
11-12		0,076	8	iguais
12-13		0,191	10	iguais
13-14		0,102	7	iguais
14-15		0,006	4	diferentes
15-16		0,086	6	iguais
16-17		0,255	4	iguais
17-18		0,244	4	iguais
18-19		0,039	6	diferentes
19-20		0,252	4	iguais
20-21		0,031	4	diferentes
21-22		0,370	4	iguais
22-23		0,040	4	diferentes
23-24		0,000	10	diferentes
24-25		0,268	8	iguais

- Perfil de emissão de N_2O , em $kg CO_{2eq}/ano$, de cada reator para as cargas de nitrogênio amoniacal aplicadas

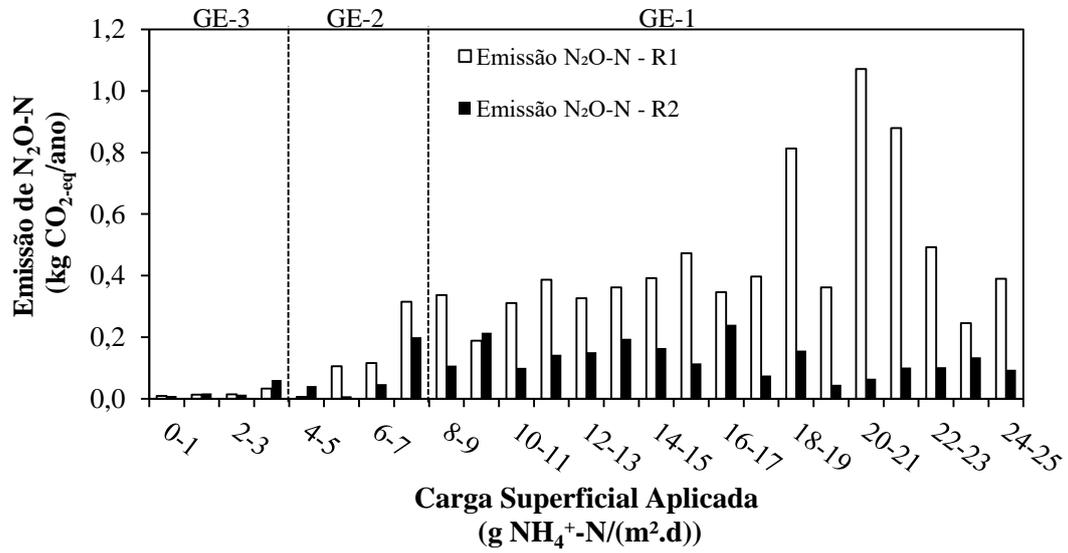


Figura 7-5: Perfil de contribuição da emissão de N_2O-N , em $kg CO_{2eq}/ano$ para as faixas de cargas de N amoniacal aplicadas aos reatores R1 e R2.

- Perfis de emissão de N_2O e dos parâmetros pH, OD, T, Q_{ar} e sólidos (ST e SVT) para cada reator durante as cargas de N amoniacal aplicadas

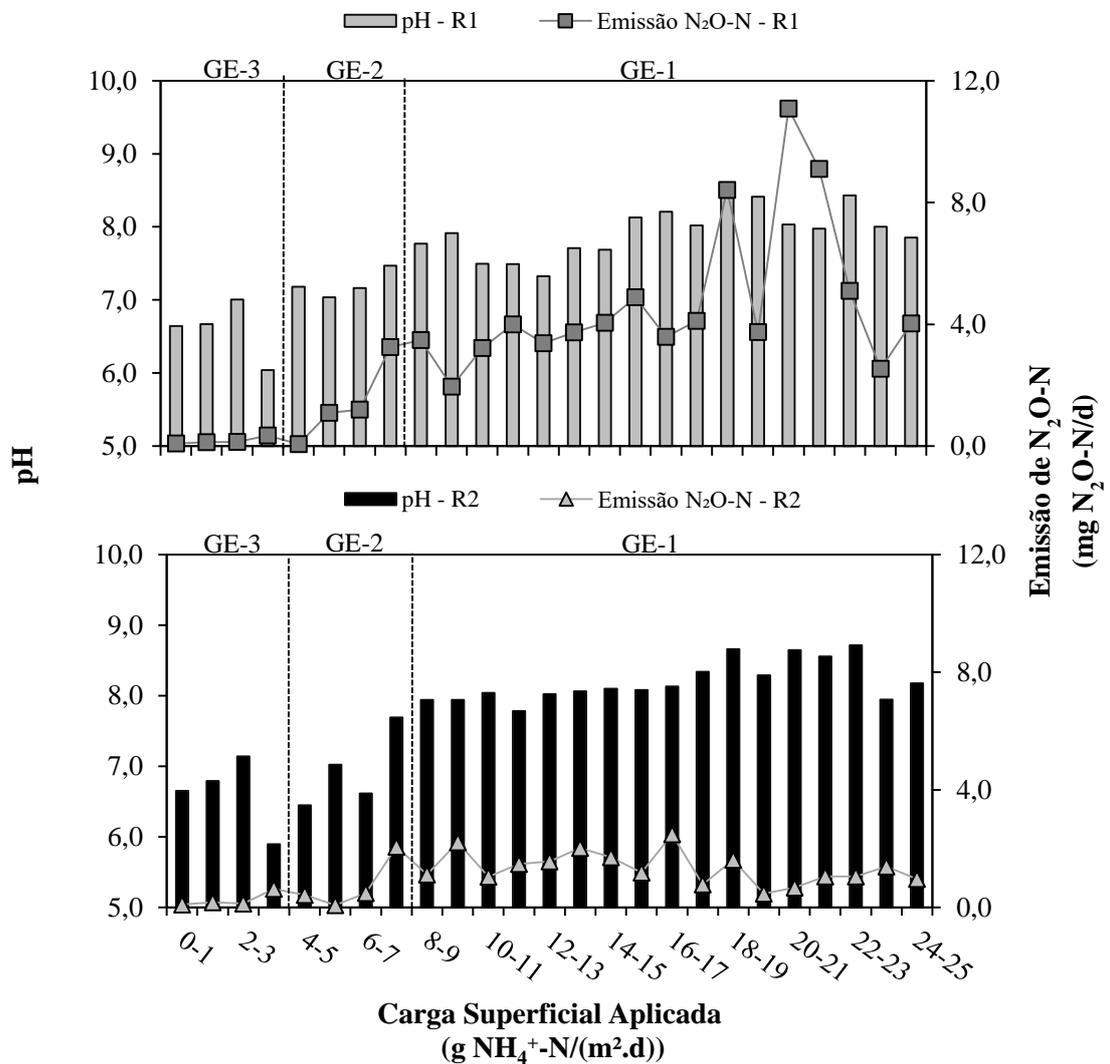


Figura 7-6: Perfis de pH e de emissão de N_2O -N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

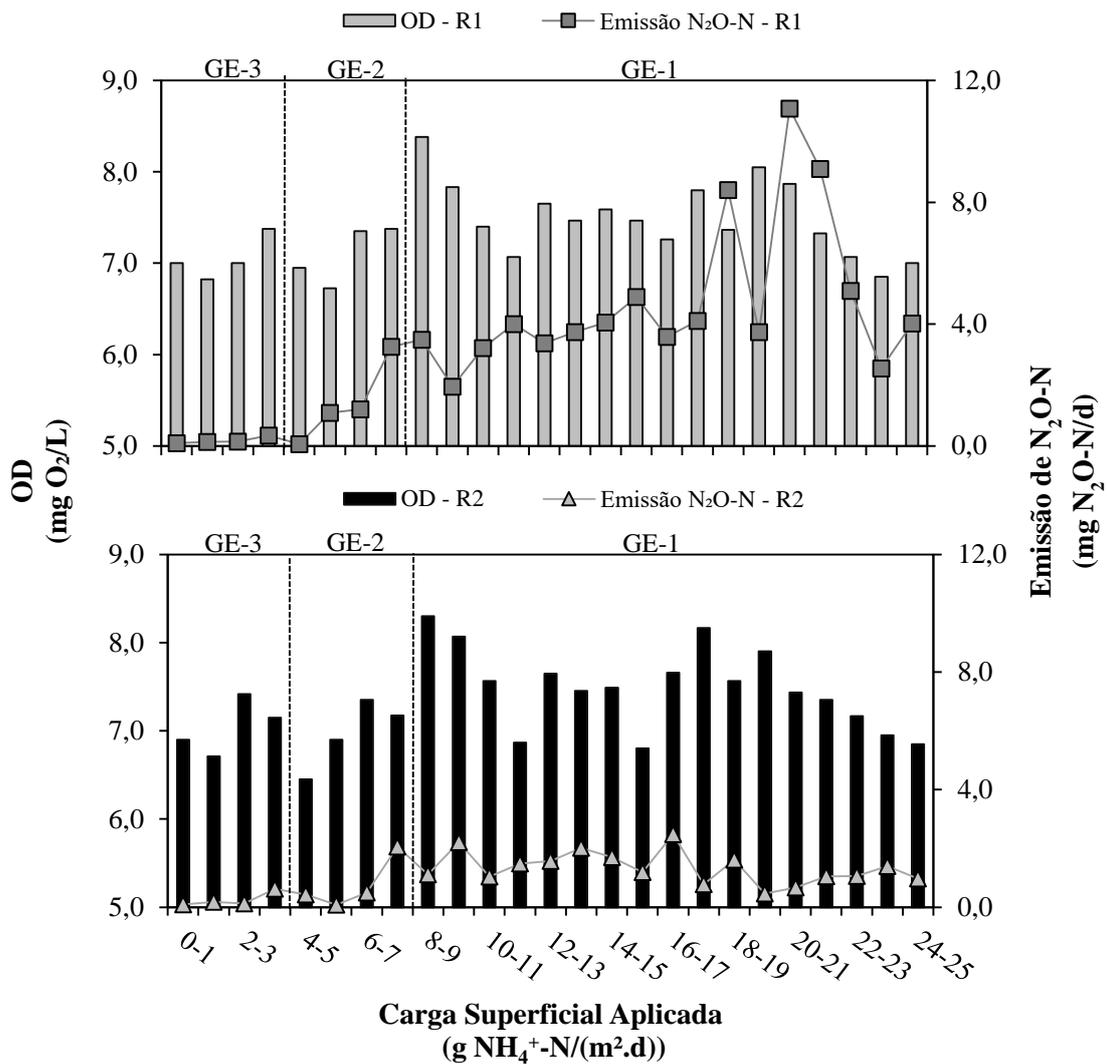


Figura 7-7: Perfis de OD e de emissão de N₂O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

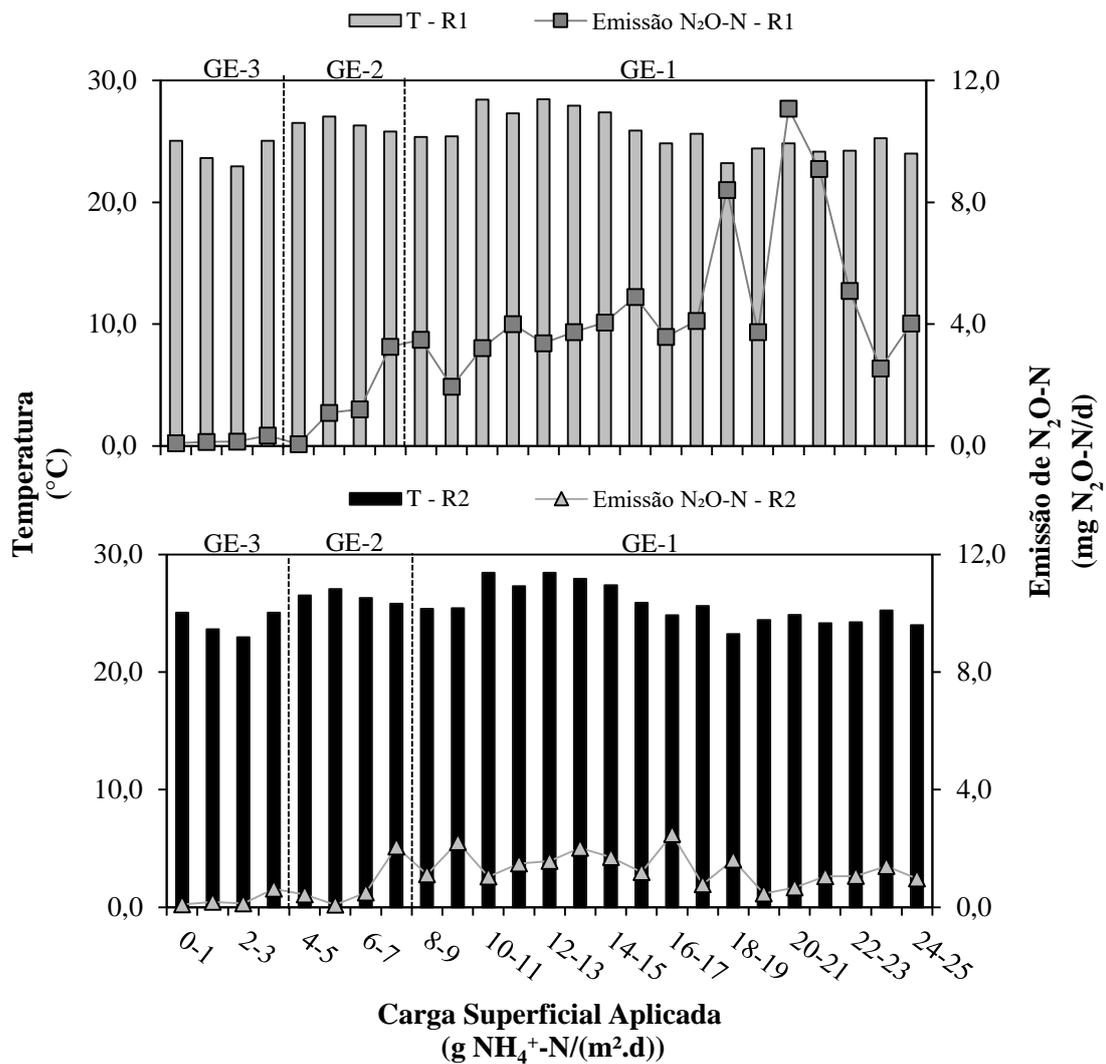


Figura 7-8: Perfis de temperatura e de emissão de N₂O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

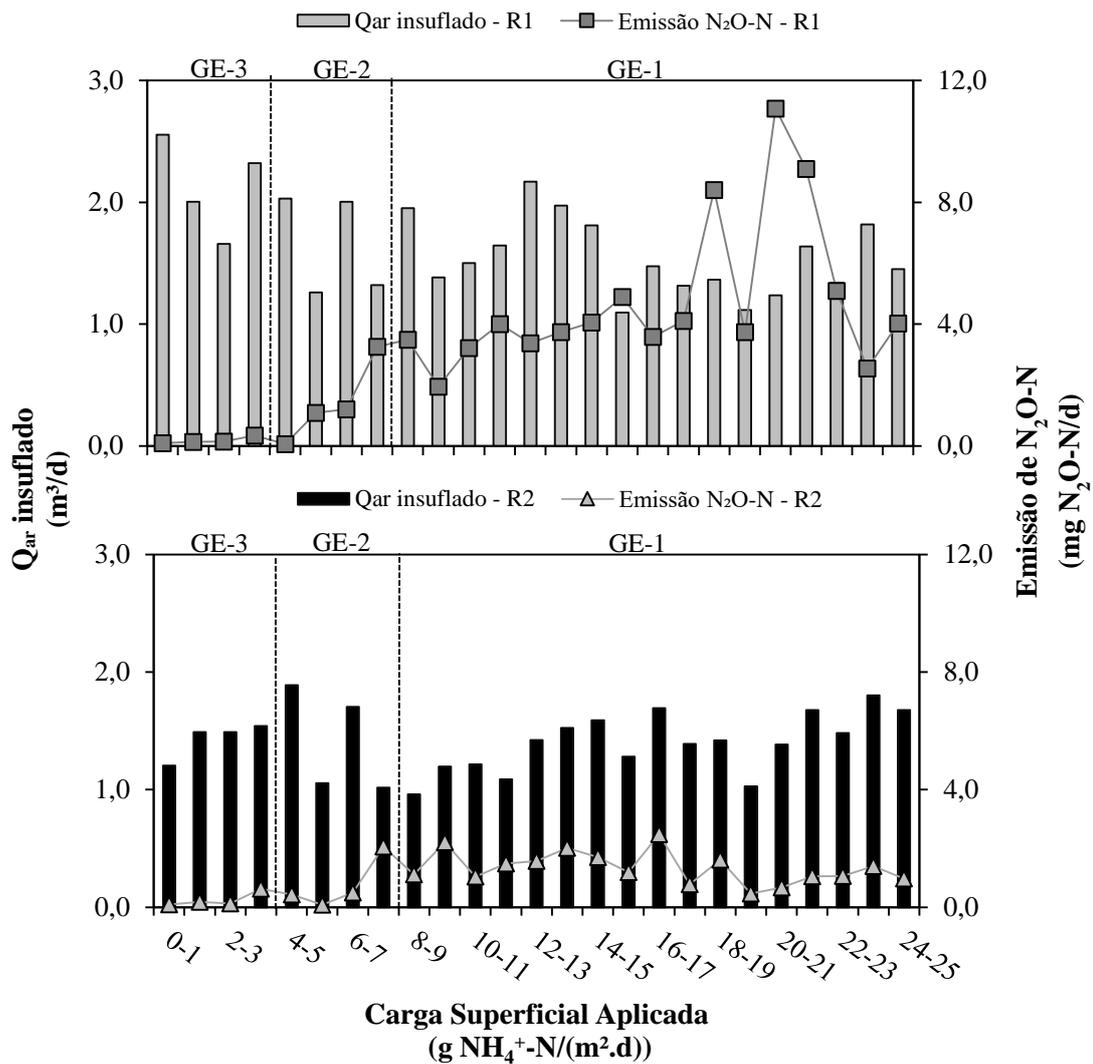


Figura 7-9: Perfis de vazão de ar insuflado (Q_{ar}) e de emissão de N_2O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

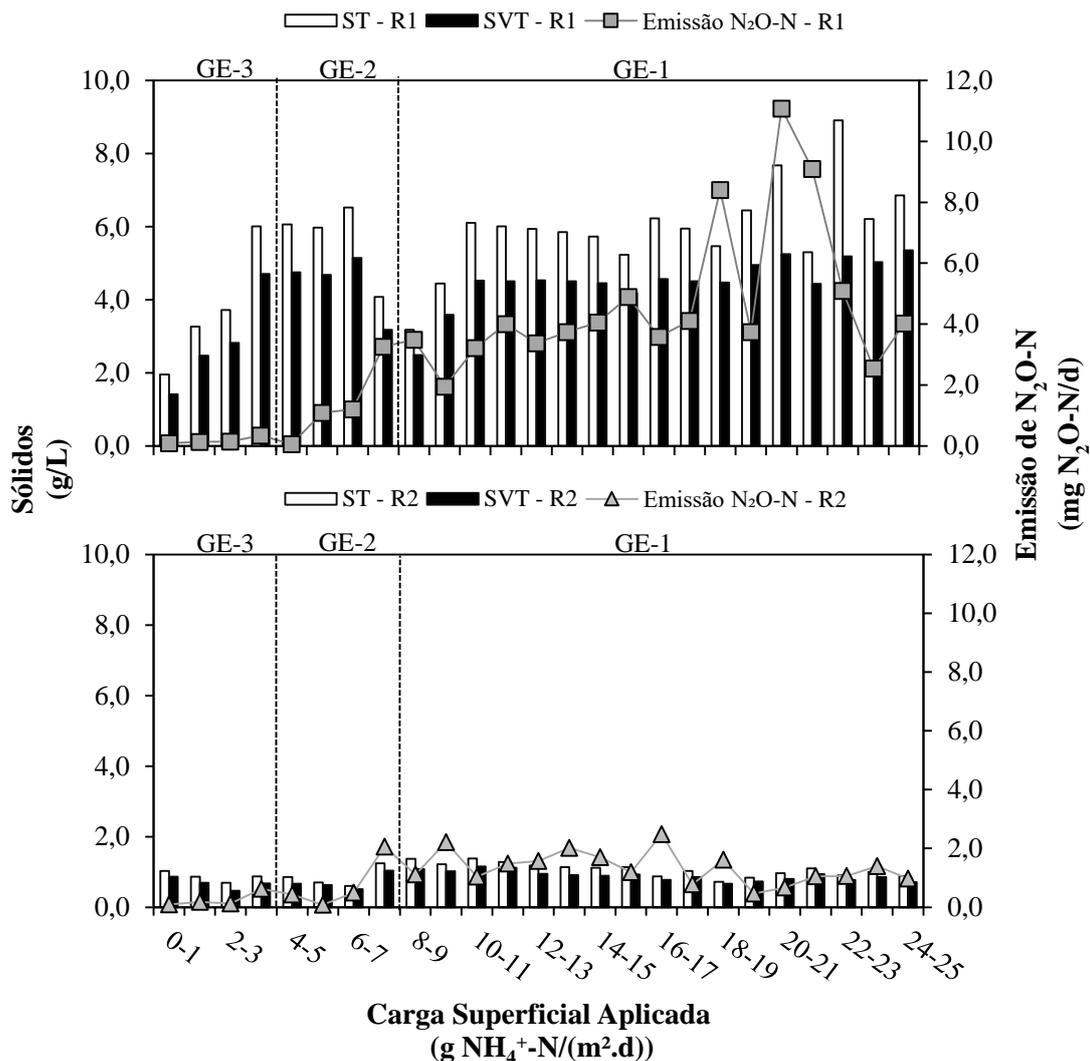


Figura 7-10: Perfis sólidos totais (suspensos totais + aderidos totais) expressos como ST, sólidos voláteis totais (sólidos suspensos voláteis + sólidos aderidos voláteis), expressos como SVT, bem como o perfil de emissão de N₂O-N para cada faixa de carga superficial aplicada para os reatores R1 e R2.

- Gráficos de correlações dos parâmetros que influenciam a geração/emissão de N_2O-N , apresentadas na Tabela (4-1) do tópico emissões de N_2O-N – cap. 4.

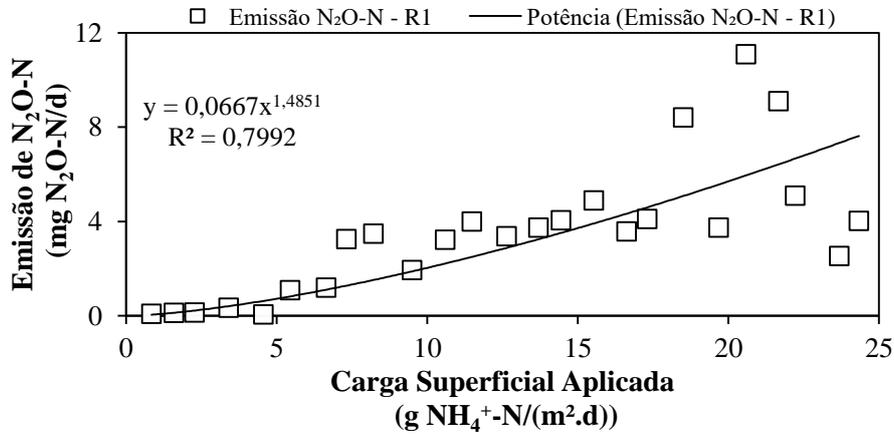


Figura 7-11: Correlação entre a carga superficial aplicada (g $NH_4^+-N/(m^2.d)$) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R1.

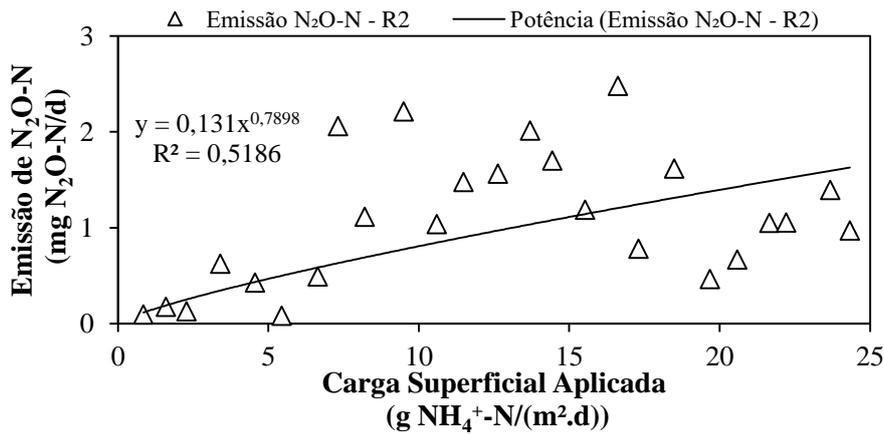


Figura 7-12: Correlação entre a carga superficial aplicada (g $NH_4^+-N/(m^2.d)$) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

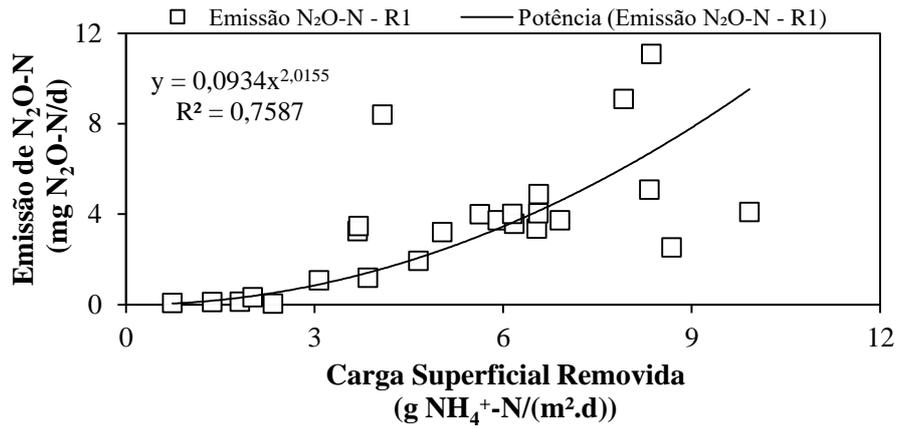


Figura 7-13: Correlação entre a carga superficial removida ($\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ ($\text{mg N}_2\text{O-N}/\text{d}$) para o reator R1.

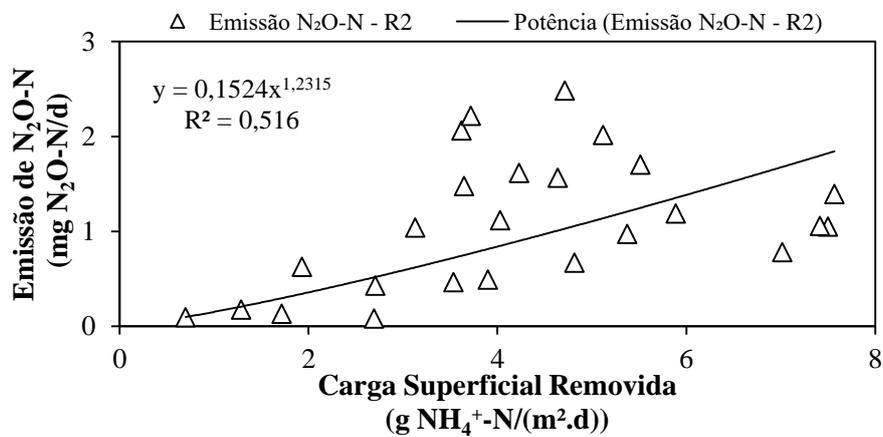


Figura 7-14: Correlação entre a carga superficial removida ($\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ ($\text{mg N}_2\text{O-N}/\text{d}$) para o reator R2.

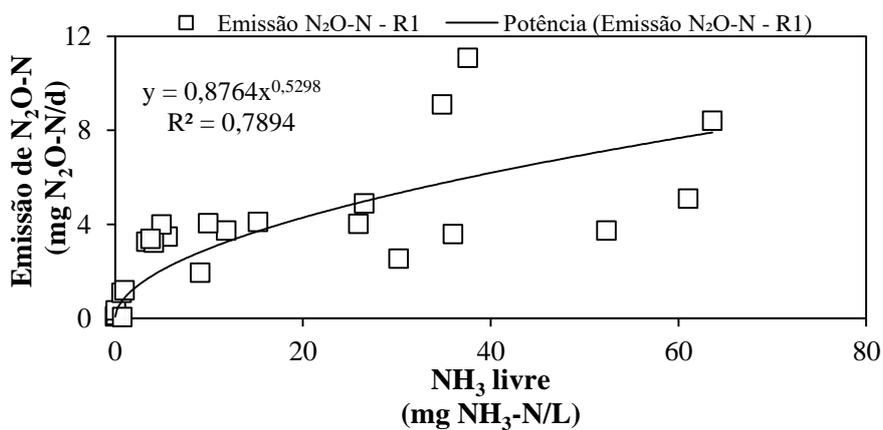


Figura 7-15: Correlação entre a concentração de NH_3 livre efluente ($\text{mg NH}_3\text{-N}/\text{L}$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ ($\text{mg N}_2\text{O-N}/\text{d}$) para o reator R1.

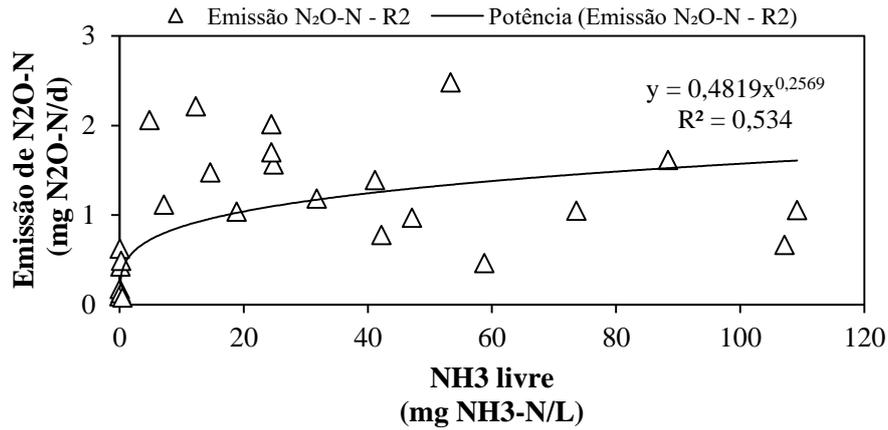


Figura 7-16: Correlação entre a concentração de NH₃ livre efluente (mg NH₃-N/L) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R2.

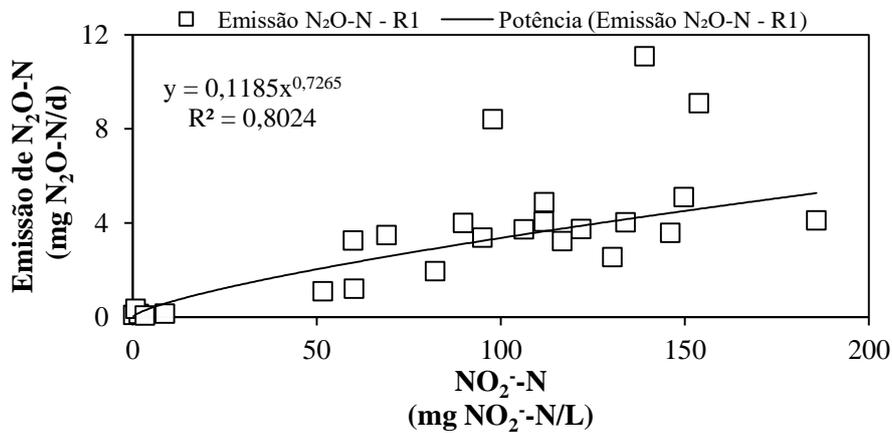


Figura 7-17: Correlação entre a concentração de NO₂⁻ efluente (mg NO₂⁻-N/L) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R1.

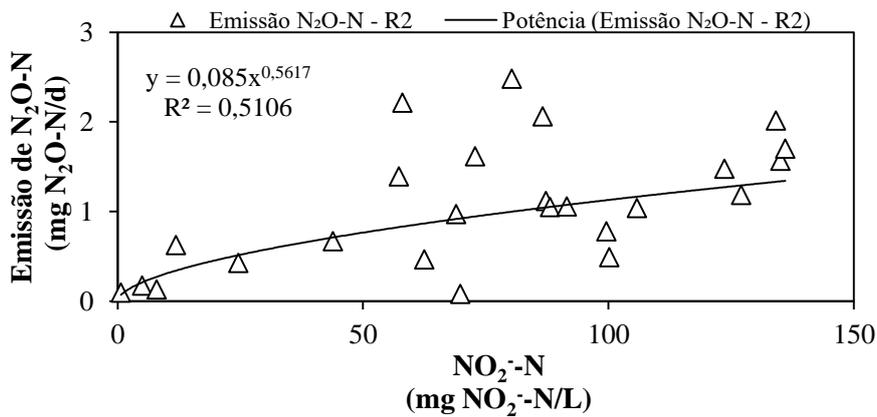


Figura 7-18: Correlação entre a concentração de NO₂⁻ efluente (mg NO₂⁻-N/L) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R2.

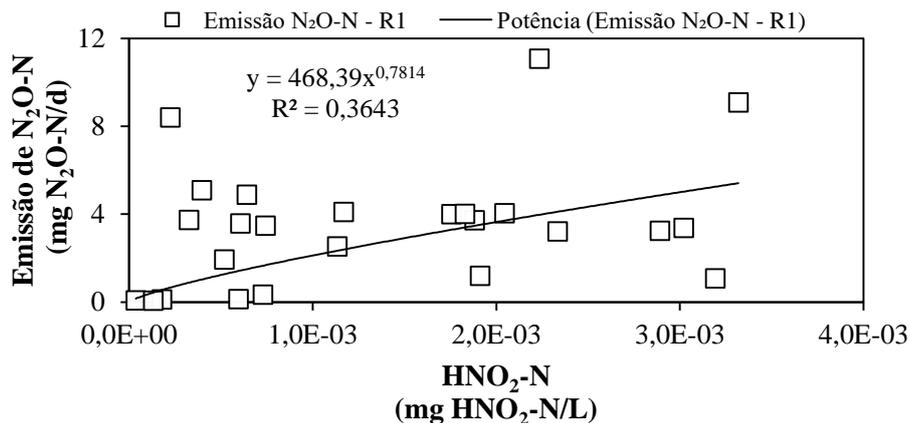


Figura 7-19: Correlação entre a concentração de HNO_2 efluente (mg HNO_2-N/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R1.

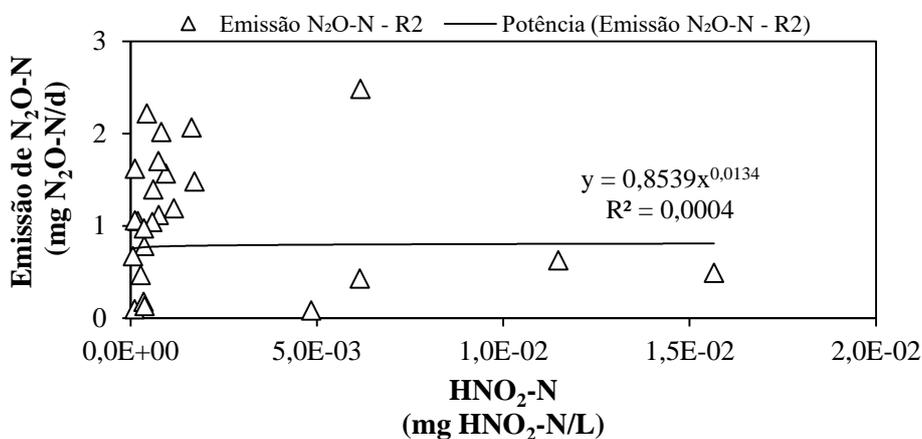


Figura 7-20: Correlação entre a concentração de HNO_2 efluente (mg HNO_2-N/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

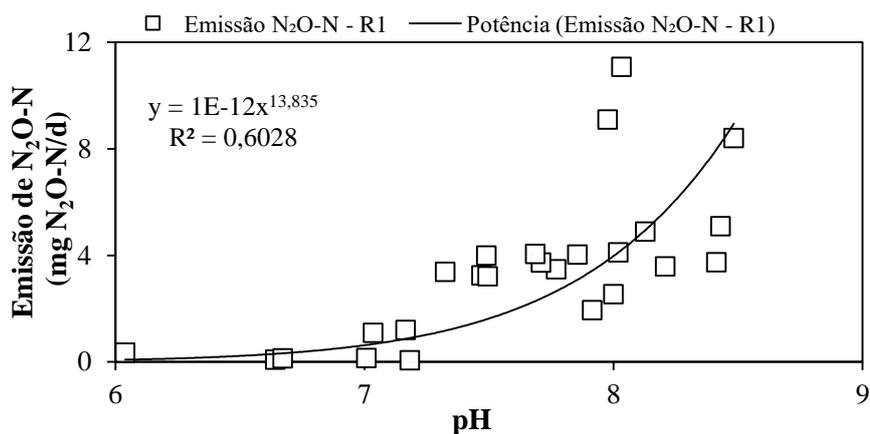


Figura 7-21: Correlação entre o pH efluente e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R1.

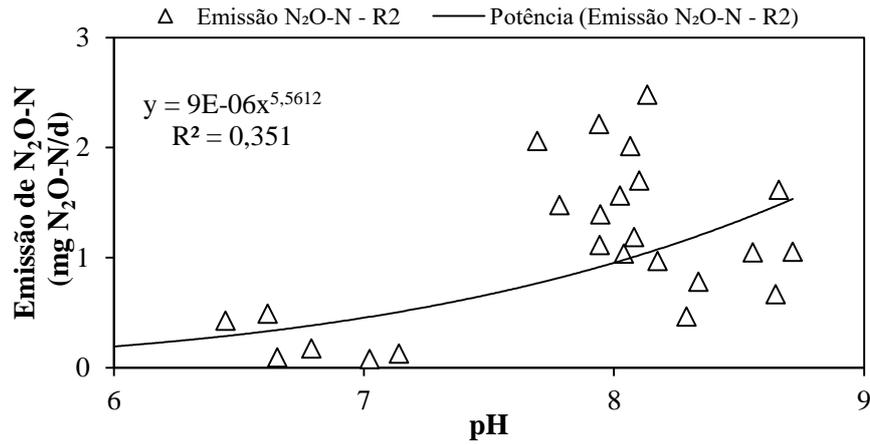


Figura 7-22: Correlação entre o pH efluente e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

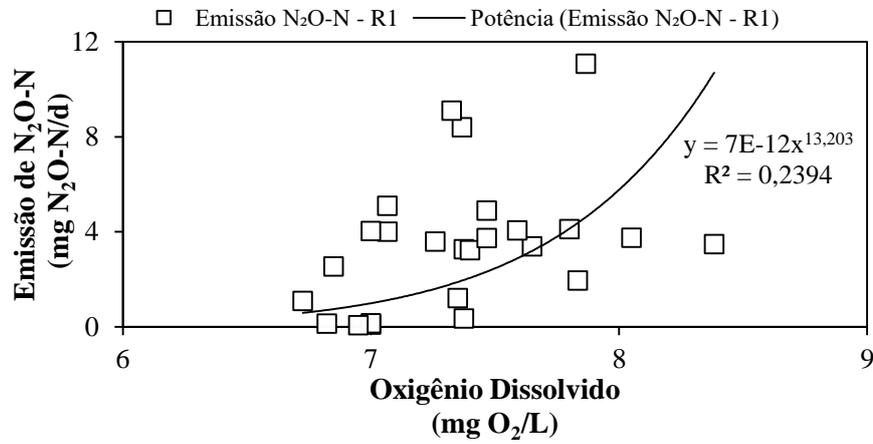


Figura 7-23: Correlação entre o teor de OD (mg O_2/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R1.

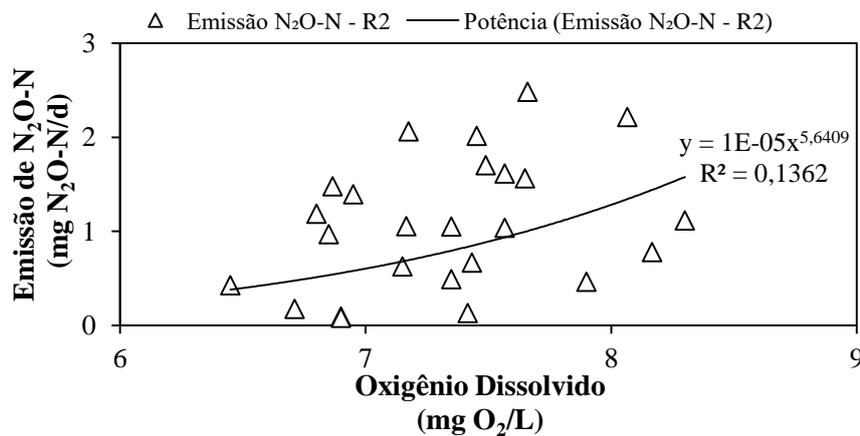


Figura 7-24: Correlação entre o teor de OD (mg O_2/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

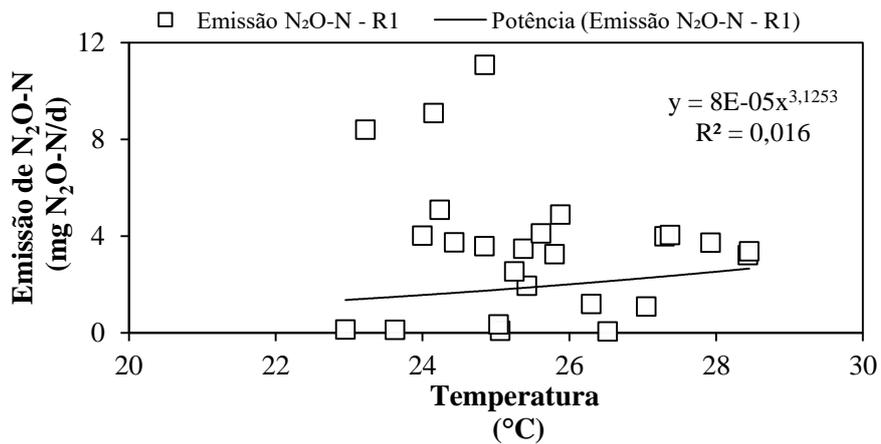


Figura 7-25: Correlação entre a temperatura (°C) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R1.

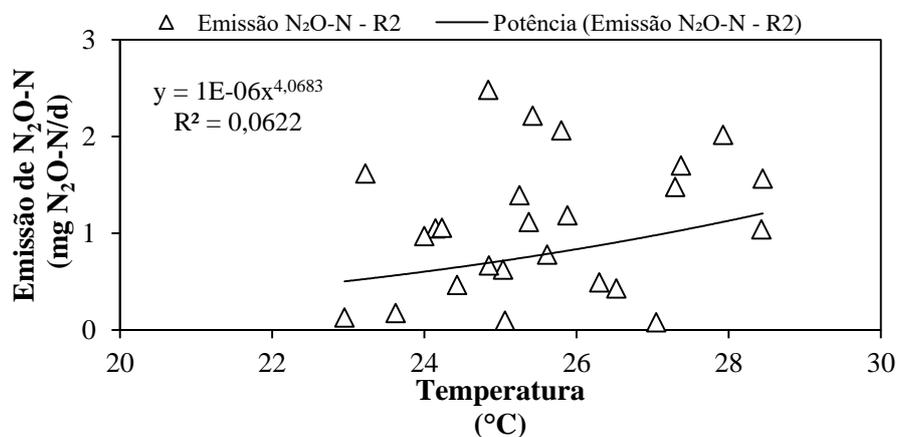


Figura 7-26: Correlação entre a temperatura (°C) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R2.

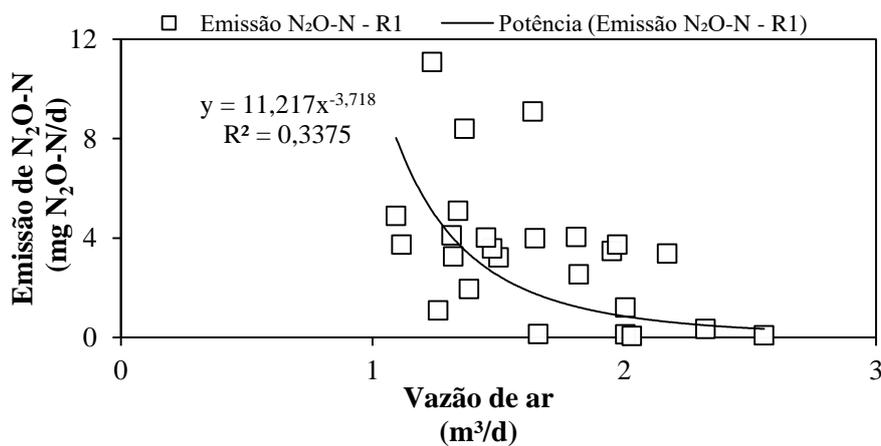


Figura 7-27: Correlação entre a vazão volumétrica de ar insuflado (m³/d) e a emissão de N₂O-N (mg N₂O-N/d) para o reator R1.

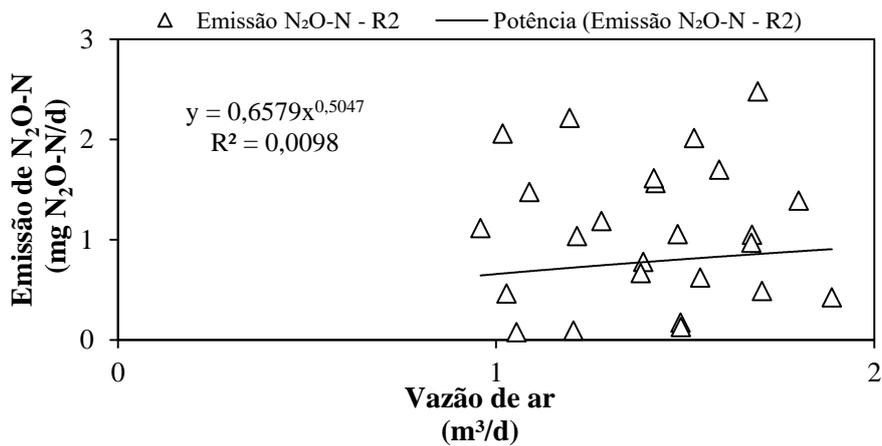


Figura 7-28: Correlação entre a vazão volumétrica de ar insuflado (m^3/d) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

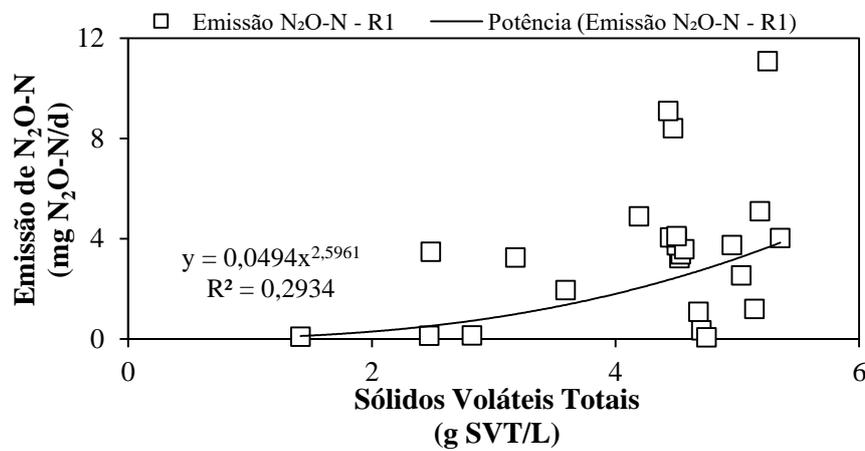


Figura 7-29: Correlação entre a concentração de sólidos voláteis totais (g SVT/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R1.

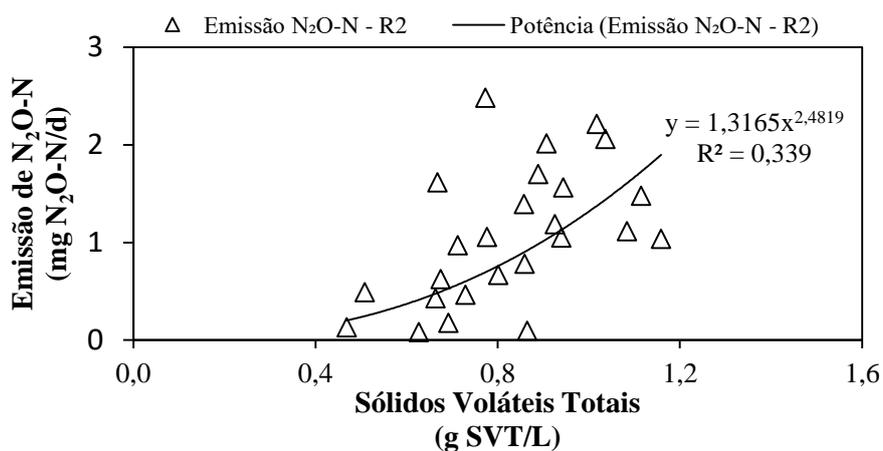


Figura 7-30: Correlação entre a concentração de sólidos voláteis totais (g SVT/L) e a emissão de N_2O-N (mg N_2O-N/d) para o reator R2.

- Gráficos de correlações entre a remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e a taxa emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$, apresentadas na Tabela (4-3) do tópico remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ – cap. 4.

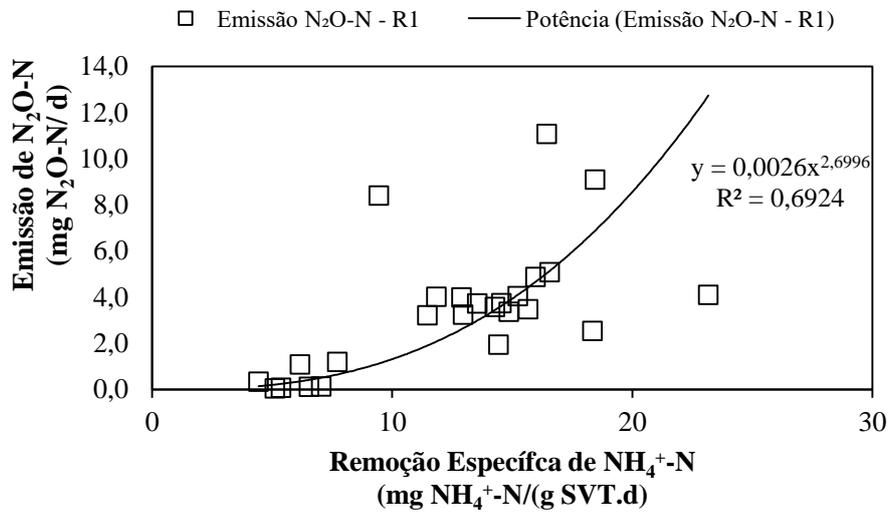


Figura 7-31: Correlação entre a remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT. d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R1.

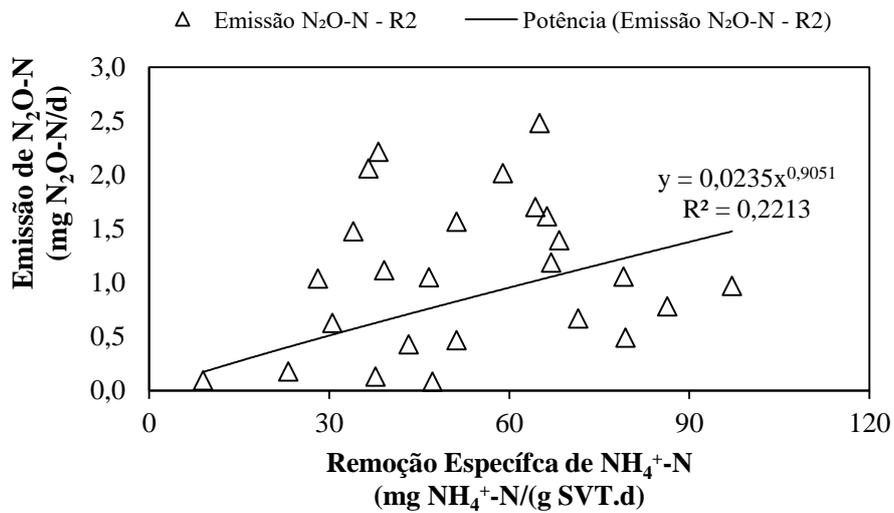


Figura 7-32: Correlação entre a remoção específica de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g SVT. d})$) e a emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ (mg $\text{N}_2\text{O-N/d}$) para o reator R2.

- Tabela de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e cada emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ – Comparativo entre reatores no mesmo grupo de ensaio (GE)

Tabela 7-7: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar as cargas de N amoniacal removidas e as emissões de $\text{N}_2\text{O-N}$ observadas nos dois reatores para um mesmo grupo de ensaio (GE).

R1 vs. R2		Comparativo do $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removido e da emissão de $\text{N}_2\text{O-N}$ entre os reatores para o mesmo grupo de ensaio (GE) estudado (p-crítico: 0,05)				
Grupo de Ensaio	Faixa aplicada (g $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$)	p-valor $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removido	N	p-valor $\text{N}_2\text{O-N}$ emitido	N	Resultado
GE-3	0-1 a 3-4	0,707	35	0,507	27	iguais
GE-2	4-5 a 7-8	0,846	34	0,248	16	iguais
GE-1	8-9 a 24-25	< 0,001	163	< 0,001	99	diferentes

- Tabelas de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada análise de FISH realizada – Comparativo diferentes faixas para o mesmo reator no mesmo grupo de ensaio (GE)

Tabela 7-8: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (FISH) observados entre faixas de carga aplicadas em que a análise foi realizada para o R1.

R1		Comparativo percentual de BOA e BON para o R1 em diferentes faixas (p-crítico: 0,05 ; N: 36)			
Grupo de Ensaio	Faixa aplicada (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	p-valor BOA	Resultado	p-valor BON	Resultado
GE-1	13 – 14 e 17 – 18	0,001	diferentes	0,087	iguais
GE-1	17 – 18 e 20 – 21	0,06	iguais	0,068	iguais

Tabela 7-9: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (FISH) observados entre faixas de carga aplicadas em que a análise foi realizada para o R2.

R2		Comparativo percentual de BOA e BON para o R2 em diferentes faixas (p-crítico: 0,05 ; N: 36)			
Grupo de Ensaio	Faixa aplicada (g NH ₄ ⁺ -N/(m ² .d))	p-valor BOA	Resultado	p-valor BON	Resultado
GE-1	13 – 14 e 17 – 18	<0,001	diferentes	0,001	diferentes
GE-1	17 – 18 e 20 – 21	0,216	iguais	0,041	diferentes

- Tabelas de p-valores obtidos a partir das análises estatísticas realizadas para cada análise de FISH realizada – Comparativo entre reatores no mesmo grupo de ensaio (GE)

Tabela 7-10: Resultados dos testes estatísticos usados para comparar os resultados de BOA e BON (FISH) observados entre as mesmas faixas para reatores diferentes.

R1 vs. R2		Comparativo percentual de BOA e BON entre os reatores para a mesma faixa estudada (p-crítico: 0,05 ; N: 36)			
Grupo de Ensaio	Faixa aplicada (g NH₄⁺-N/(m².d))	p-valor BOA	Resultado	p-valor BON	Resultado
GE-1	13 – 14	0,654	iguais	0,227	iguais
GE-1	17 – 18	0,860	iguais	0,763	iguais
GE-1	20 – 21	0,003	diferentes	< 0,01	diferentes

Anexo (c)

- Mapas qualitativos de possibilidades de emissão de N_2O frente às faixas de carga aplicada, NH_3 e NO_2^- efluente para os reatores R1 e R2.

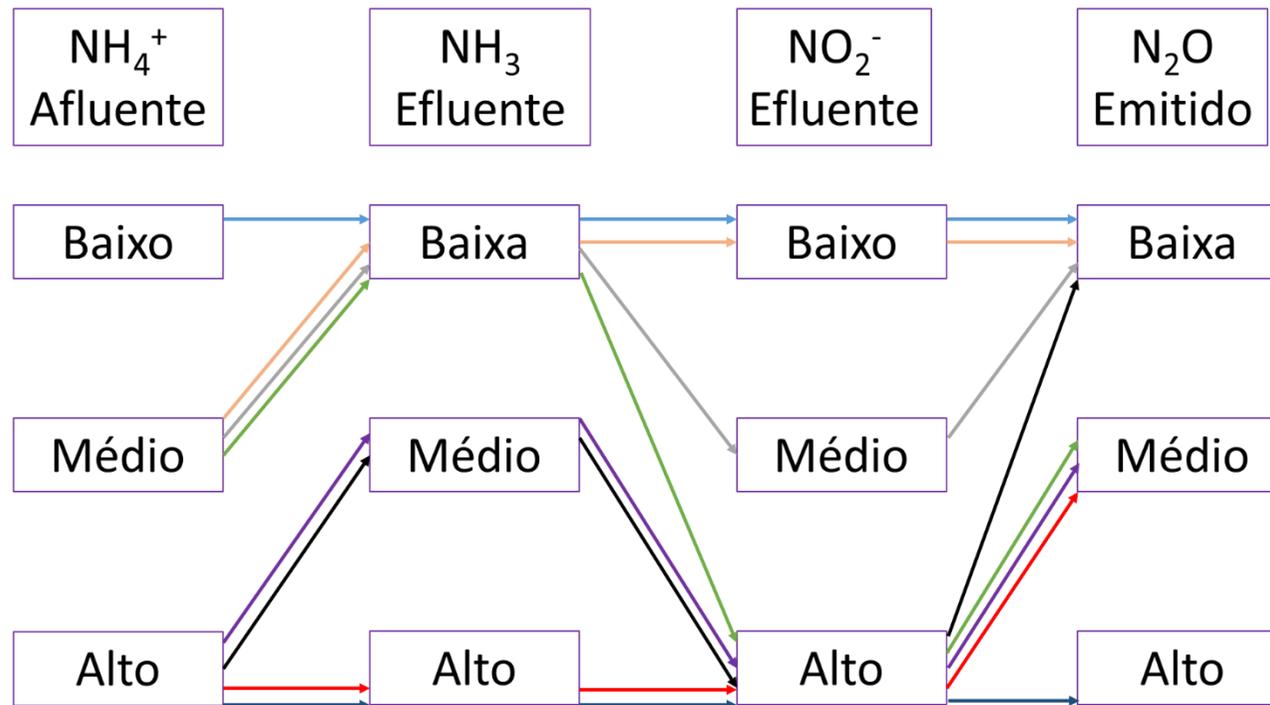


Figura 7-33: Mapa qualitativo de ocorrência de emissão de N_2O para as condições combinadas de carga de NH_4^+ aplicada, NH_3 livre efluente e NO_2^- efluente para o reator R1. A sequência de cores é relativa a um conjunto de condições experimentais analisada, no qual cada sequência significa uma possibilidade de ocorrência.

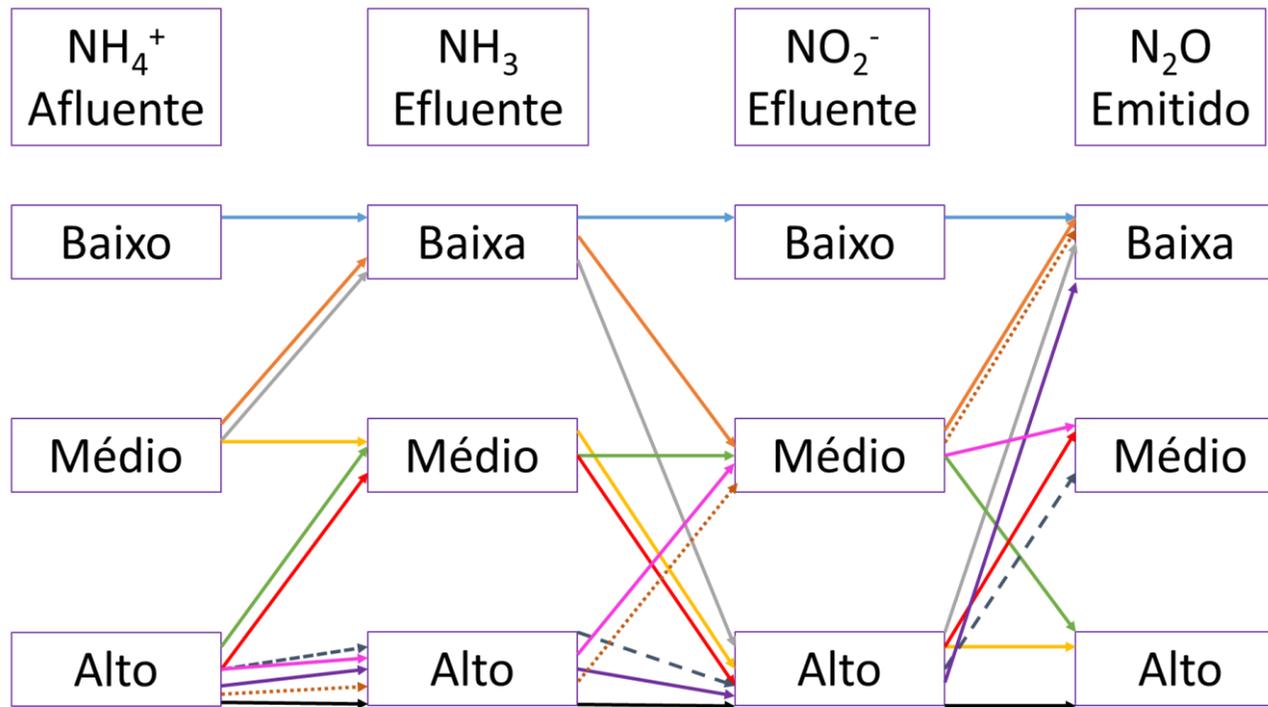


Figura 7-34: Mapa qualitativo de ocorrência de emissão de N_2O para as condições combinadas de carga de NH_4^+ aplicada, NH_3 livre efluente e NO_2^- efluente para o reator R2. A seqüência de cores é relativa a um conjunto de condições experimentais analisada, no qual cada seqüência significa uma possibilidade de ocorrência.

Tabela 7-11: Faixas consideradas para a classificação qualitativa dos mapas de possibilidades de emissão de N₂O para os reatores R1 e R2.

R1				
Intensidade	Carga de NH₄⁺-N Aplicada (g NH₄⁺-N/(m².d))	NH₃-N (mg NH₃-N/L)	NO₂⁻-N (mg NO₂⁻-N /L)	N₂O-N (mg N₂O-N/d)
Baixa	0-1 a 3-4	0 - 4	0 - 15	0 - 2,5
Média	4-5 a 7-8	4,1 - 20	15,1 - 60	2,6 - 5,2
Alta	8-9 a 24-25	20,1 - 200	60,1 - 250	5,3 - 11,1
R2				
Intensidade	Carga de NH₄⁺-N Aplicada (g NH₄⁺-N/(m².d))	NH₃-N (mg NH₃-N/L)	NO₂⁻-N (mg NO₂⁻-N /L)	N₂O-N (mg N₂O-N/d)
Baixa	0-1 a 3-4	0 - 4	0 - 15	0 - 1,0
Média	4-5 a 7-8	4,1 - 20	15,1 - 60	1,1 - 1,7
Alta	8-9 a 24-25	20,1 - 200	60,1 - 250	1,8 - 2,5