

## **PARTIDA DE REATOR CONTÍNUO MABR NA REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE SINTÉTICO COMO FORMA DE ENRIQUECIMENTO DE BACTÉRIAS ANAMMOX**

**FERREIRA, L.F.G.<sup>1</sup>, ASSIS, T.M.<sup>2</sup>, MARTINS, J.E.<sup>3</sup>, TOMOTO, A.L.<sup>4</sup>, OKADA, D.<sup>5</sup>, GOMES, S.D.<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Estudante de graduação em Engenharia Agrícola, UNIOESTE, Cascavel-PR, (45)998575050, luhyz123@hotmail.com

<sup>2</sup>Eng.<sup>a</sup> Agrícola, Doutoranda em Engenharia Agrícola, PGEAGRI/UNIOESTE, Cascavel-PR

<sup>3</sup>Estudante de graduação em Engenharia Agrícola, UNIOESTE, Cascavel-PR

<sup>4</sup> Eng.<sup>a</sup> Ambiental, Doutoranda em Engenharia Agrícola, PGEAGRI/UNIOESTE, Cascavel-PR

<sup>5</sup>Eng.<sup>o</sup> Civil, Prof. Dr. Adjunto, Faculdade de Tecnologia - UNICAMP, Limeira-SP

<sup>6</sup> Eng.<sup>a</sup> Agrônoma, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adjunta, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas - UNIOESTE, Cascavel-PR

Apresentado no  
XLIX Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2020  
23 a 25 de novembro de 2020 - Congresso On-line

**RESUMO:** O objetivo desse trabalho foi promover o enriquecimento de microrganismos com atividade ANAMMOX em um reator de fluxo contínuo operado no modelo MABR (Reator de Biofilme Aerado em Membrana), alimentado com efluente sintético, com lodo anaeróbio de uma estação de tratamento de esgoto. O experimento foi realizado por 105 dias com recirculação na fase líquida, o tempo de retenção hidráulica (TRH) dos primeiros 60 dias foi de 24h e após TRH de 5 dias. Nos primeiros 45 dias houve predominância de acúmulo de nitrito no reator e entre 45-75 acúmulo de nitrato acima dos valores de entrada, indicando a presença de zonas mortas. Apenas nos últimos 25 dias houve redução dos valores e nitrito e nitrato. Os valores de alcalinidade demonstraram que durante todo o experimento houve um alto consumo de alcalinidade principalmente na forma de bicarbonatos. O pH médio foi de 8,44. A concentração de oxigênio dissolvido variou entre 4,0mg.L<sup>-1</sup> na superfície do reator e 0,0mg.L<sup>-1</sup> na parte inferior do reator. Foi utilizada a estratégia de alimentação previamente nitritado (sem fornecimento de OD), assim verificou-se que a via ANAMMOX foi utilizada.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biofilme aerado, desamonificação, CANON.

### **REMOVAL OF SYNTHETIC EFFLUENT AS WAY TO ENRICHMENT OF ANAMMOX BACTERIA**

**ABSTRACT:** The main of this work was to promote the enrichment of ANAMMOX microorganisms in a continuous flow reactor operated in the MABR model (Membrane Aerated Biofilm Reactor), fed with synthetic effluent, with anaerobic sludge from a sewage treatment plant. The experiment was carried out for 105 days with recirculation in the liquid phase, the hydraulic retention time (HRT) of the first 60 days was 24 hours and after HRT for 5 days. In the first 45 days, there was a predominance of nitrite accumulation. Between the days 45-75, the nitrate accumulation was above the input values, indicating the presence of dead zones. Only in the last 25 days, there was a reduction in values and nitrite and nitrate.

The alkalinity values showed that throughout the experiment there was high consumption of alkalinity, mainly in the form of bicarbonates. The average pH was 8.44. The concentration of dissolved oxygen varied between 4.0mg.L<sup>-1</sup> on the reactor surface and 0.0mg.L<sup>-1</sup> on the bottom of the reactor. The previously nitrite feed strategy (without OD supply) was used, so it was found that the ANAMMOX route was used.

**KEYWORDS:** Aerated biofilme, deamonification, CANON.

**INTRODUÇÃO:** A disposição inadequada de águas residuárias ricas nitrogênio em corpos hídricos traz grandes malefícios a saúde humana e animal e ao meio ambiente. A tetralogia de *Fallot*, conhecida como a síndrome do bebê azul, é uma doença provocada por ingestão de águas ricas em nitrito, causando problemas cardíacos e respiratórios em recém-nascidos e em animais. Outro problema é a inviabilização da vida aquática causada pela eutrofização dos corpos hídricos, que pela ação do excesso de nutrientes, ocasiona o aumento das plantas aquáticas, prejudicando a distribuição do oxigênio dissolvido na água, tendo como consequência a morte de peixes (Garcia, *et al.* 2013). A remoção biológica convencional de nitrogênio ocorre pelos processos de nitrificação autótrofa (aeróbia), em que o nitrogênio amoniacal é convertido a nitrito e, posteriormente, a nitrato, por meio de bactérias oxidadoras de amônia e bactérias oxidadoras de nitrito, seguida pelo processo de desnitrificação heterótrofa (anóxica), com a conversão do nitrato a nitrito e, subsequentemente, a óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) e gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) (Madigan *et al.*, 2010). Outra via pela qual a remoção de nitrogênio pode ocorrer é pela oxidação anaeróbia do íon amônio, processo chamado de desamonificação, descoberto por Mulder *et al.* (1995), que deu ao processo a sigla ANAMMOX – *Anaerobic Ammonium Oxidation*. Ao utilizar a via Anammox, a remoção do nitrogênio é catabolizada por bactérias quimiolitotróficas do filo *Planctomycetes*, que oxidam diretamente o íon amônio sob condições anóxicas usando nitrito como o acceptor final de elétrons, convertendo amônio e nitrito em gás nitrogênio. A relação entre nitrito e nitrogênio amoniacal deve ser de 1:1,32 e a reação libera ainda uma pequena quantidade de nitrato residual (Strous, *et al.* 1998). O uso da via Anammox apresenta vantagens quanto à demanda por oxigênio, pois só existe necessidade de oxigênio para nitrificação parcial do nitrogênio amoniacal a nitrito e não apresenta demanda de carbono orgânico, visto que as bactérias Anammox são microrganismos autotróficos e só demandam carbono inorgânico para crescimento celular (Van De Graaf *et al.*, 1997). Neste trabalho o reator MABR – do inglês *Membrane Aerated Biofilm Reactors* foi utilizado como proposta para manter o ambiente anóxico permitindo que o processo conhecido CANON - *Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite*, ou seja as duas etapas necessários para a remoção de nitrogênio via Anammox, nitrificação parcial e atividade Anammox, acontecem no mesmo reator (Augusto *et al.*, 2018; Saleem *et al.*, 2018). A distribuição do oxigênio dissolvido (OD) no reator MABR é realizado por membranas de silicone, que por ser um material poroso, permite que as moléculas de OD dispersem para dentro dos reatores em baixas concentrações. Dentro do contexto apresentado, este trabalho teve como objetivo promover o enriquecimento dos microrganismos com atividade Anammox em consócio com as bactérias oxidadoras de nitrito em um reator de fluxo contínuo operado no modelo MABR, alimentado com efluente nitrogenado sintético, com lodo anaeróbio coletado em uma estação de tratamento de esgoto da cidade de Cascavel-PR.

**MATERIAL E MÉTODOS:** O experimento foi conduzido no Laboratório de Reatores Biológicos e as análises físico-químicas realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental da UNIOESTE/Campus Cascavel-PR. O lodo utilizado como fonte para o enriquecimento de

bactérias com característica ANAMMOX foi coletado no reator UASB da Estação de Tratamento de Esgoto da cidade de Cascavel-PR, ETE-Sul, conforme caracterização apresentada na Tabela 1.

TABELA 1. Caracterização do lodo anaeróbio coletado na Estação de Tratamento de Esgoto (Reator UASB – ETE/SUL). **Characterization of anaerobic sludge collected at the Sewage Treatment Station (UASB Reactor - MWTP/SOUTH)**

Parâmetro	Unidade de Medida	Concentração
Sólidos Voláteis (SV)	mg.L <sup>-1</sup>	39057,59
Sólidos Fixos (SF)	mg.L <sup>-1</sup>	46783,78
Sólidos Totais (ST)	mg.L <sup>-1</sup>	85841,37
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	mg.L <sup>-1</sup>	3504,86
Nitrogênio Amoniacal (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	25,76
Nitrito (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	Abaixo dos níveis de detecção
Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	Abaixo dos níveis de detecção
pH	-	8,84
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	mg.L <sup>-1</sup>	947,72

O reator foi inoculado com 400mL de lodo, que foi previamente diluído para atingir a concentração de aproximadamente 4000mg.L<sup>-1</sup> de SV. A alimentação sintética fornecida à biomassa segue como base a seguinte formulação: NH<sub>4</sub>Cl, 100mg.L<sup>-1</sup>; NaHCO<sub>3</sub>, 2g.L; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,0272g.L; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,3g.L; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,18g.L; e 1mL das soluções de elementos traço I e II conforme metodologia de Augusto et al (2018). A alimentação inicial do reator ocorreu com 100 mg.L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> obtido a partir de NH<sub>4</sub>Cl, porém a partir do 60º dia, foi alterada para 50mg.L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> obtido a partir de NH<sub>4</sub>Cl e 50mg.L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> obtido através de NaNO<sub>2</sub>. A partir do dia 60 de operação foi realizada a supressão completa do fornecimento de oxigênio dissolvido.

Os parâmetros de monitoramento da atividade ANAMMOX foram: Nitrogênio Amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); Nitrato(N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>); Nitrito(N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); pH; Alcalinidade parcial e total e oxigênio dissolvido. A análises foram realizadas de acordo com a APHA (2005). O aparato experimental do reator, é composto de: Um reator cilíndrico de 35cm de altura e 9,2cm de diâmetro interno, com volume útil de 2,200L, confeccionado em acrílico, imerso em um tubo de 80 cm de comprimento e 50cm de largura (camisa de água) na temperatura de 32°C, dentro do reator existe uma membrana de silicone com 2,80m de comprimento, 7mm de diâmetro externo e 5mm de diâmetro interno, acoplado a um aerador com fluxômetro regulado com vazão de ar de 1,0L.min<sup>-1</sup>, e a saída membrana de silicone é imersa em uma coluna de água de 75 cm; Um controlador de pH; dois aquecedores com termostato para aquecimento da água na camisa do reator; duas bombas peristálticas, uma para alimentação e outra para recirculação da fase líquida. O reator MABR possui recirculação da fase líquida a uma taxa de 100%. São apresentados no presente trabalho dados de partida do reator com TRH de 24h até o dia de operação número 60 e do dia 61 até 105 com TRH 5 dias. A Figura 1 apresenta o esquema detalhado do reator MABR e os demais equipamentos utilizados na condução do experimento.

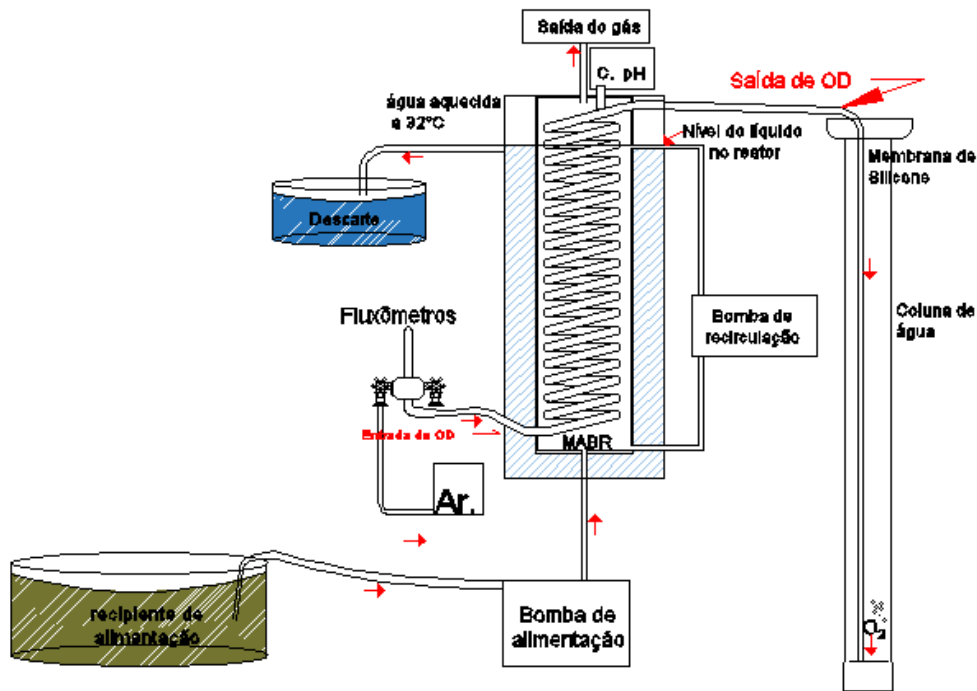


FIGURA 1. Detalhamento do reator MABR de fluxo contínuo.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os resultados de nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal são apresentados na Figura 1. O reator foi alimentado com afluente com concentração inicial de  $100\text{mg.L}^{-1}$  de nitrogênio amoniacal e TRH de 24 horas, até o dia de operação número 60. Como as transformações do nitrogênio não eram compatíveis a estequiometria das transformações bioquímicas realizadas por microrganismos ANAMMOX, a alimentação do reator foi alterada (a partir do dia 60<sup>o</sup>) para  $50\text{mg.L}^{-1}$  de nitrogênio na forma amoniacal e  $50\text{mg.L}^{-1}$  na forma de nitrito. O tempo de retenção hidráulico foi aumentado para 5 dias.

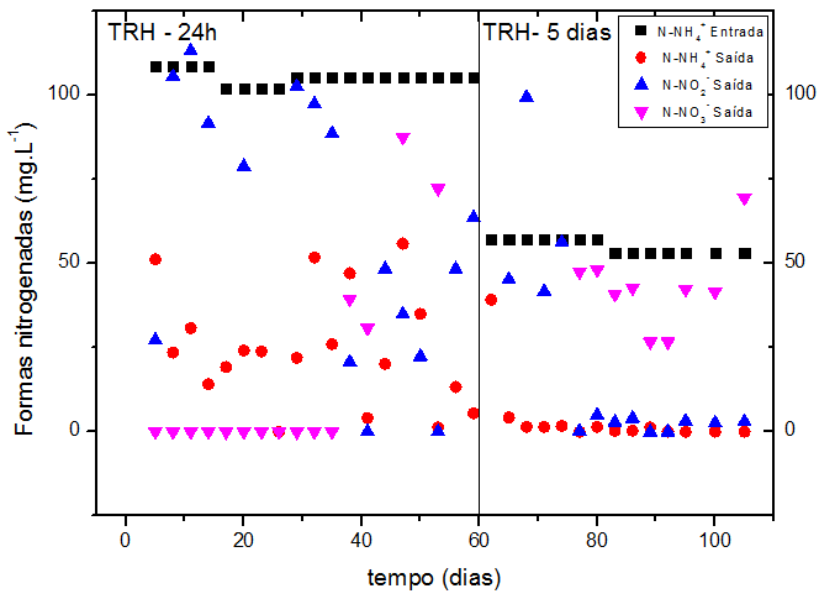


FIGURA 1. Formas nitrogenadas na saída do reator MABR.

O Comportamento do reator percebido pela Figura 1, retrata que nos primeiros 45 dias houve predominância no acúmulo de nitrito no reator, entre os dias 45 e 75 houve acúmulo do nitrato acima dos valores de entrada, indicando a presença de zonas mortas. Nos últimos 25 dias de operação o reator apresentou redução dos valores de nitrito e nitrato, demonstrando atividade mista entre bactérias ANAMMOX e bactérias formadoras de nitrato. Augusto *et al* (2018), operou um reator MABR semelhante ao reator em estudo, alimentado com efluente sintético, estudando duas diferentes concentrações iniciais de nitrogênio amoniacal, 50 e 100mg.L<sup>-1</sup>, com a alimentação de entrada em 50mg.L<sup>-1</sup> e TRH de 24h os autores conseguiram manter estável a remoção de nitrogênio via ANAMMOX por 133 dias, quando houve aumento de carga (100mg.L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e TRH de 24h) o reator perdeu estabilidade e passou a apresentar acúmulo de nitrato, demonstrando a inversão da via utilizada para transformação de N, as bactérias formadoras de nitrato passaram a ter protagonismo em relação as bactérias com atividade ANAMMOX. No presente estudo um comportamento semelhante a atividade ANAMMOX é percebido na segunda fase (TRH de 5 dias), quando a soma dos valores de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato não são superiores aos valores de entrada do nitrogênio amoniacal, indicando que parte do nitrogênio foi transformada em N<sub>2</sub>, sem ação de bactérias desnitrificantes devido a ausência de carbono orgânico naturalmente demandada nos processos de desnitrificação convencional (Dallago, *et al.* 2012). Os resultados de pH, alcalinidade parcial e alcalinidade total são apresentados na Figura 2. Os valores de alcalinidade parcial e total demonstram que durante todo o experimento houve alto consumo da alcalinidade principalmente na forma de bicarbonatos, que é a principal fonte de alcalinidade presente no efluente sintético.

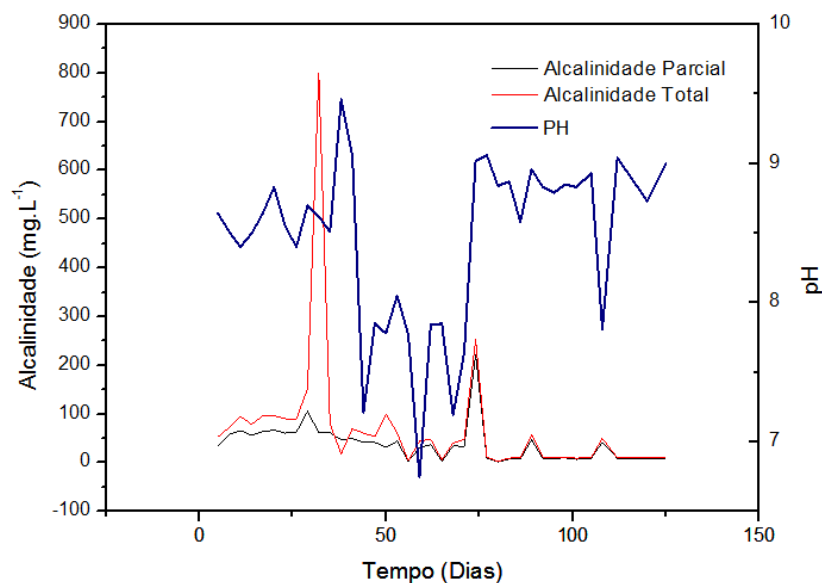


FIGURA 2. Resultados de alcalinidade total e parcial e pH na saída do reator.

O valor médio do pH foi de 8,44 com desvio padrão de 0,61 os valores mínimos e máximos de pH foram 8,63 e 9,46 respectivamente. Muitos trabalham afirmam que a atividade ANAMMOX é observada num intervalo de pH, 6.5 a 9.3 (Tang *et al.*, 2010). As maiores taxas de enriquecimento são com pH entre 7,0 e 7,5, valores de pH inferior a 6,0 inibiram o crescimento (Jin *et al.*, 2012). O pH das amostras do reator em estudo se mostraram dentro de

um intervalo confiável para microrganismos ANAMMOX. A concentração de oxigênio dissolvido, variou durante o experimento chegando a  $4,0\text{mg.L}^{-1}$  na superfície do reator (valor máximo) e  $0,0\text{mg.L}^{-1}$  na parte inferior do reator (valor mínimo), como as bactérias ANAMMOX são anaeróbias obrigatórias, acredita-se que a saturação na superfície do reator associado ao processo de recirculação, auxiliou na inibição dos microrganismos (Strous et al., 1998). A constatação do desequilíbrio provocado pelo excesso de oxigênio dissolvido, levou a alteração da alimentação após o 60º dia de operação para alimentação o efluente previamente nitritado ou seja, alimentação com concentração de  $50\text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $50\text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_2^-$ , para que fosse possível retirar a suplementação de oxigênio dissolvido mantendo o ambiente completamente anaeróbio. Tal procedimento colaborou com a redução de nitrato, as concentrações na saída do efluente foram inferiores a  $100\text{mg.L}^{-1}$ , indicando que a via ANAMMOX foi utilizada pela biomassa presente no reator para a remoção do restante do Nitrogênio em meio líquido para a forma gasosa ( $\text{N}_2$ ).

**CONCLUSÕES:** O lodo utilizado no reator apresentou bons resultados para atividade ANAMMOX, pois com a mudança da alimentação, após o dia número 60, o reator apresentou reduções nos valores de nitrato e nitrito. O procedimento de restrição do OD foi efetivo na redução de nitrato indicando que foi utilizada a via ANAMMOX para remoção final de nitrogênio. O reator teve alto consumo de alcalinidade na forma de bicarbonato, indicando que possivelmente os microrganismos ANAMMOX utilizaram o bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ), como fonte de carbono inorgânico, apontada na estequiometria ANAMMOX (Strous *et al.*, 1998), para crescimento celular.

**AGRADECIMENTOS:** À CAPES e a Fundação Araucária pelo apoio financeiro recebido na forma de bolsas de estudos de doutorado e iniciação científica, respectivamente.

#### **REFERÊNCIAS:**

- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22ª ed. Washington, 2005. American Public Health Association. 1082p., 2005.
- AUGUSTO, M.R., CAMILOTI, P.R., SOUZA, T.S.O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using ANAMMOX and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 266, p.151–157, 2018.
- DALLAGO, R.C., GOMES, S.D., MEES, J.B.R., ASSIS, T.M., HASAN, S.D.M., KUNZ, A. Nitrification and denitrification of a poultry slaughterhouse wastewater according to cycle time and ammoniacal nitrogen concentration using surface response Methodology. **Journal of Food, Agriculture & Environmental**, v.10, p.856-860, 2012.
- GARCIA, G.; CARDOSO, A.A.; SANTOS, O.A.M.. Da escassez ao estresse do planeta: um século de mudanças no ciclo do nitrogênio. **Quim. Nova**, v.36, p.1468–1476, 2013.
- JIN, R.C., YANG, G.F., MA, C., YU, J.J., ZHANG, Q.Q., XING, B.S.. Influence of effluent recirculation on the performance of ANAMMOX process. **Chem. Eng. J.** v.200, p.176–185, 2012.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2010.
- MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A. A.; ROBERSON, L. A.; KUENEM, J. G.. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized reactor. **FEMS Microbiol. Ecol.**, v. 16, p. 177-184, 1995.

SALEEM, M., LAVAGNOLO, M.C., CONCHERI, G., STEVANATO, P., SQUARTINI, A., SPAGNI, A. Application of anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for the successful enrichment of Anammox bacteria using mixed anaerobic and aerobic seed sludge. **Bioresource Technology**, v. 266, p. 532–540, 2018.

STROUS, M., HEIJNEN, J.J., KUENEN, G.J., JETTEN, M.M.S.. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Appl. Microbiol. Biotechnology**, v.50, p.589–596, 1998.

TANG, C.-J., ZHENG, P., WANG, C.-H., MAHMOOD, Q., ZHANG, J.-Q., CHEN, X.-G., ZHANG, L., CHEN, J.-W.. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. **Water Res.**, v.45, p.135–44, 2010.

VAN DE GRAAF, A. A; BRUIJIJ, P.; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G.. Metabolic Pathway of Anaerobic Ammonium Oxidation on the Basis of <sup>15</sup>N Studies in a Fluidized Bed Reactor. **Microbiology**, v.143, p.2415-2421, 1997.