

**DARLEILA DAMASCENO COSTA**

**DESNITRIFICAÇÃO DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO UTILIZANDO  
MICRORGANISMOS PROVENIENTES DE BIOMASSA NATURAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Ambientais, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Everton Skoronski  
Coorientadora: Maria de Lourdes Borba Magalhães

**LAGES, SC  
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

DAMASCENO COSTA, DARLEILA  
DESNITRIFICAÇÃO DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO  
UTILIZANDO MICRORGANISMOS PROVENIENTES DE BIOMASSA  
NATURAL / DARLEILA DAMASCENO COSTA. - Lages , 2017.  
90 p.

Orientador: Everton Skoronski  
Co-orientadora: Maria de Lourdes Borba Magalhães  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado  
de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Ambientais, Lages, 2017.

1. Biomassa natural. 2. Desnitrificação. 3.  
Nitrato. 4. Nitrito. 5. Fonte de carbono. I.  
Skoronski, Everton. II. Borba Magalhães, Maria de  
Lourdes. , .III. Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. IV.  
Título.

**DARLEILA DAMASCENO COSTA**

**DESNITRIFICAÇÃO DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO UTILIZANDO  
MICROORGANISMOS PROVENIENTES DE BIOMASSA NATURAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, da Universidade do Estado de Santa Catarina.

**Banca examinadora**

Orientador:

---

(Prof. Dr. Everton Skoronski)  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Coorientadora:

---

(Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria de Lourdes Borba Magalhães)  
Universidade do Estado de Santa Catarina

**Membros:**

---

(Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Daiana Cardoso de Oliveira)  
Universidade do Sul de Santa Catarina- UNISUL

---

(Prof. Dr<sup>a</sup> Viviane Trevisan)  
Universidade do Estado de Santa Catarina

**Lages, 21/07/2017**



A meu pai, Eleovalbes Costa (*in  
memoriam*), pelo amor e zelo a nós  
dedicados todos os dias de sua vida.



## AGRADECIMENTOS

Ao meu querido orientador, professor Doutor Everton Skoronski, por todo apoio, paciência, além de sua competência e atenção nas sugestões e revisões, fatores fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À minha coorientadora Professora Doutora Maria de Lourdes Borba Magalhães pelas valiosas sugestões no decorrer do trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Tratamento de Águas e Resíduos - LabTrat do CAV/UDESC pela ajuda e parceria nos experimentos, por me fazerem sentir acolhida a tantos quilômetros distantes de casa. Minha gratidão especial ao Bolsista de Iniciação Científica Anderson Albino pela ajuda em todos os experimentos. Obrigada por ter sido tão bom amigo e parceiro.

À Doutoranda Mylena Fernandes, pelas sugestões e paciência nos momentos de dúvidas.

Ao Laboratório de Bioquímica do CAV pela disponibilização do espaço para realização de alguns experimentos ao longo do trabalho.

Ao Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal – CEDIMA do CAV/UDESC pela identificação do microrganismo.

À professora Roseli L. da C Bortoluzzi do Departamento de Agronomia do CAV pela identificação do gênero e espécie do bambu.

Ao Técnico do Laboratório de Instrumentos do CAV, Éderson Rodrigues Pereira, pela valiosa contribuição na análise de carbono orgânico total.

Ao Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP) da UDESC pela bolsa concedida.

Às Professoras Dr<sup>a</sup> Daiana Cardoso de Oliveira e Dr<sup>a</sup> Viviane Trevisan, membros da banca examinadora, por terem atendido ao convite para desempenhar este papel, dispondo de seu tempo e conhecimento para analisar este trabalho.

À minha família por sempre me apoiar incondicionalmente. De maneira especial à minha mãe, por ser exemplo de humildade e persistência.

Ao meu noivo, Fernando Fleydson, pelo apoio incondicional, compreensão, amor e incentivo. Obrigada por sempre acreditar nas minhas capacidades. Você foi a pessoa que compartilhou comigo os momentos de tristezas e alegrias.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.



“Água, uma poesia de Deus que nos dá e mantém a vida”.  
(Odilon Euzébio)



## RESUMO

Entre os métodos que vem sendo explorados para eliminar o nitrato da água potável, a desnitrificação biológica é uma alternativa importante, pois é a única técnica onde a remoção é realizada por via bioquímica. Embora diversos estudos relatem a utilização de bactérias desnitrificantes para remoção de nitrato, os trabalhos envolvem a utilização de lodo de esgoto sanitário como biomassa para obtenção da microbiota. Neste estudo utilizou-se biomassa natural como fonte de bactérias desnitrificantes, realizando o controle das variáveis do processo com foco na otimização do desempenho da bactéria para posteriores estudos de adequação físico-química da água. Para isto, utilizou-se biomassa do bambu como fonte de microrganismos desnitrificantes e adotou-se os Microrganismos Imobilizados na Biomassa de origem (MIB) e Microrganismos Livres em Solução (MLS) para remoção do nitrato da água potável. O monitoramento da conversão das espécies nitrogenadas no processo de desnitrificação foi realizado através das análises de nitrito e nitrato. Para as duas fontes biológicas, realizou-se a otimização dos principais parâmetros da desnitrificação através do estudo de diferentes condições de pH, temperatura, concentrações de nitrato, diferentes fontes de carbono e relações estequiométricas C/N. Além disso, avaliou-se a estabilidade operacional do MIB e MLS e a cinética de desnitrificação utilizando diferentes quantidades dos microrganismos presentes em solução. Realizou-se a identificação dos microrganismos presentes na biomassa responsáveis pela desnitrificação. A água desnitrificada foi submetida ao pós tratamento através de ensaios de coagulação e floculação para adequação aos parâmetros de cor e turbidez. A desnitrificação utilizando MIB ocorreu com eficiência de 73% sem a necessidade do uso de uma fonte de carbono externa. A utilização do MLS forneceu eficiência de desnitrificação superior ao MIB, utilizando etanol (96,46%), glicose (98,58%) e glicerol (98,5%). A avaliação da estabilidade operacional permitiu a realização de 12 ciclos utilizando o MIB e 9 ciclos utilizando o MLS e média final de nitrato e nitrito permaneceu dentro dos padrões estabelecidos. Após a primeira utilização do MIB exigir 48 horas para a remoção completa do nitrato da água, nos demais ciclos a desnitrificação ocorreu em 24 horas. A bactéria presente no bambu, responsável pela desnitrificação foi identificada como *Proteus Mirabilis*. Após o tratamento físico-químico empregado, apenas a água desnitrificada utilizando os microrganismos livres em solução permaneceu dentro dos parâmetros de cor e turbidez exigidos pela portaria 2.914/ 2011 do Ministério da Saúde.

**Palavras-chave:** Biomassa natural. Desnitrificação. Nitrato. Nitrito. Fonte de carbono. Potabilidade.



## ABSTRACT

Among the methods that have been explored to eliminate nitrate from potable water, biological denitrification is an important alternative because it is the only technique where the removal is carried out biochemically. Although several studies report the use of denitrifying bacteria for nitrate removal, the work involves the use of sanitary sewage sludge as biomass to obtain the microbiota. In this study, natural biomass was used as a source of denitrifying bacteria, controlling the process variables with a focus on optimizing bacterial performance for subsequent studies of physico-chemical adequacy of water. In this way, biomass of bamboo was used as a source of denitrifying microorganisms and the Biomass Immobilized Microorganisms of origin (BIM) and Free Microorganisms in Solution (FMS) were used to remove nitrate from the water. Conversion monitoring of nitrogen species in the denitrification process was performed through nitrite and nitrate analysis. For the two biological sources, optimization of the main denitrification parameters was carried out by studying different pH, temperature, nitrate concentrations, different carbon sources and C / N stoichiometric ratios. In addition, the operational stability of the BIM and FMS and the kinetics of denitrification were evaluated using different amounts of the microorganisms present in solution. The microorganisms present in the biomass responsible for denitrification were identified. The denitrified water was submitted to the post-treatment through coagulation and flocculation tests to suit the parameters of color and turbidity. Denitrification using BIM occurred with 73% efficiency without the need for an external carbon source. The use of FMS provided superior denitrification efficiency to BIM using ethanol (96.46%), glucose (98.58%) and glycerol (98.5%). The evaluation of the operational stability allowed the realization of 12 cycles using the BIM and 9 cycles using the FMS and final mean of nitrate and nitrite remained within the established standards. After the first use of the BIM requires 48 hours for the complete removal of the nitrate from the water, in the other cycles the denitrification occurred within 24 hours. The bacterium present in bamboo, responsible for denitrification was identified as *Proteus Mirabilis*. After the physical-chemical treatment used, only the denitrified water using the free microorganisms in solution remained within the parameters of color and turbidity required by Brazilian drinking water norm (Ordinance 2.914/2011 from Ministry of Health)

**Keywords:** Natural biomass. Denitrification. Nitrate. Nitrite. Carbon source. Potability



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Denominações das partes do bambu.....	44
Figura 2 - Microrganismos imobilizados na biomassa do bambu a) Colmos do bambu cortados, b) Biomassa em água contaminada com íons nitrato.....	48
Figura 3 - Representação do processo de obtenção do MLS a) crescimento utilizando MIB durante 48 horas, b) microrganismos livres em solução contaminada com íons nitrato para teste de atividade das células crescidas durante 24 horas, c) MLS após centrifugação.....	49
Figura 4 - Eficiência de desnitrificação utilizando gênero A e B de bambu.....	56
Figura 5 - Características visuais da água desnitrificada utilizando diferentes gêneros de bambu a) Gênero A, b) Gênero B.....	56
Figura 6 - Eficiência da desnitrificação em diferentes temperaturas a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas.....	57
Figura 7 - Eficiência da desnitrificação em diferentes valores de pH a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas.....	58
Figura 8 - Eficiência da desnitrificação utilizando diferentes concentrações de nitrato a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas.....	59
Figura 9 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e metanol em diferentes razões estequiométricas a) Metanol e MIB, b) Metanol e MLS.....	62
Figura 10 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e etanol em diferentes razões estequiométricas a) Etanol e MIB, b) Etanol e MLS.....	64
Figura 11 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e glicose em diferentes razões estequiométricas a) Glicose e MIB, b) Glicose e MLS.....	65
Figura 12 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e glicerol em diferentes razões estequiométricas a) Glicerol e MIB; b) Glicerol e MLS.....	66
Figura 13 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas e MLS em 24 horas e etilenoglicol em diferentes razões estequiométricas a) Etilenoglicol e MIB, b) Etilenoglicol e MLS.....	67
Figura 14 - Eficiência de remoção de 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L utilizando MIB em 48 horas e MLS em 24 horas e acetato de sódio em diferentes razões estequiométricas a) Acetato de sódio e MIB, b) Acetato de sódio e MLS.....	68
Figura 15 - Reutilizações da biomassa em diferentes ensaios de desnitrificação de água contaminada com 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L em 24 horas e diferentes quantidades de caldo a) sem carbono e 100 mL de caldo, b) 12,5 mL caldo, c) 25 mL caldo, d) 50 mL caldo, e) 100 mL caldo.....	71
Figura 16 - Reutilizações do MLS em diferentes ciclos de desnitrificação de água contaminada com 25 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L em 24 horas utilizando diferentes fontes de carbono a) Etanol, b) Glicerol, c) Glicose.....	73

Figura 17 - Monitoramento cinético da desnitrificação com intervalo de 2 horas, utilizando diferentes quantidades de microrganismos a) M1; b) M2; c) M3; d) M4, e) M5....	74
Figura 18 - Densidade óptica do meio ao longo da desnitrificação .....	76
Figura 19 - Resultado COT, mostrando consumo de etanol ao longo da desnitrificação.....	78
Figura 20 - Aspecto da água após tratamento físico-químico a) água desnitrificada utilizando MIB após o tratamento físico-químico, b) água desnitrificada utilizando MLS após o tratamento-físico.....	80

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Panorama da qualidade das águas nos aquíferos do Brasil em relação ao nitrato...	32
Tabela 2 - Trabalhos relatados na literatura que utilizam desnitrificação biológica na remoção de nitrato de água .....	42
Tabela 3 - Parâmetros operacionais avaliados na desnitrificação .....	49
Tabela 4 - Volumes utilizados nos diferentes ciclos de desnitrificação .....	50
Tabela 5 - Volume (mL) de solução de células centrifugadas .....	51
Tabela 6 - Parâmetros utilizados na determinação de carbono total .....	52
Tabela 7 - Resultados obtidos em 48 horas utilizando fonte de microrganismos esterilizada e não esterilizada.....	55
Tabela 8 - Concentração média final de nitrito e nitrato após os ciclos de desnitrificação realizados .....	72
Tabela 9 - Velocidade de remoção de nitrato e nitrito para adequação aos parâmetros do MS .....	75
Tabela 10 - Parâmetros físico químicos medidos após desnitrificação e tratamento físico-químico .....	79



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Caern	Companhia de Águas e Esgotos do Rio Grande do Norte
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
Cedima	Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal
COT	Carbono Orgânico Total
DO	Densidade Óptica
LabTrat	Laboratório de Tratamento de Águas e Resíduos
MIB	Microrganismos Imobilizados na Biomassa
MLS	Microrganismos Livres em Solução
MS	Ministério da Saúde
MSR	Método de Superfície de Resposta
NMBA	<i>National Mission on Bamboo Applications</i>
OD	Oxigênio Dissolvido
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
Udesc	Universidade do Estado de Santa Catarina
UNT	Unidade Nefelométrica de Turbidez



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>29</b>
3.1	CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS POR NITRATO.....	29
3.2	MECANISMO DE CONTAMINAÇÃO POR NITRATO .....	33
3.3	PROBLEMAS DO CONSUMO DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM NITRATO	34
3.4	PROCESSOS DE TRATAMENTO UTILIZADOS NA REMOÇÃO DE NITRATO	35
<b>3.4.1</b>	<b>Troca iônica</b> .....	<b>36</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Tecnologia de membranas</b> .....	<b>36</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Adsorção</b> .....	<b>37</b>
<b>3.4.4</b>	<b>Eletrocoagulação</b> .....	<b>38</b>
<b>3.4.5</b>	<b>Desnitrificação biológica</b> .....	<b>38</b>
3.5	BIOMASSA NATURAL .....	43
<b>3.5.1</b>	<b>O bambu</b> .....	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>47</b>
4.1	MATERIAIS .....	47
4.2	METODOLOGIA.....	47
<b>4.2.1</b>	<b>Fonte de microrganismos desnitrificantes</b> .....	<b>47</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Desnitrificação biológica</b> .....	<b>47</b>
4.2.2.1	<i>Confirmação da presença de microrganismos desnitrificantes na biomassa</i> .....	47
4.2.2.2	<i>Microrganismos imobilizados na biomassa do bambu</i> .....	47
4.2.2.3	<i>Microrganismos livres em solução</i> .....	49
<b>4.2.3</b>	<b>Otimização dos Parâmetros operacionais da desnitrificação biológica</b> .....	<b>49</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Avaliação da estabilidade operacional</b> .....	<b>50</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Cinética de desnitrificação</b> .....	<b>50</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Crescimento das células bacterianas</b> .....	<b>51</b>
<b>4.2.7</b>	<b>Isolamento e identificação dos microrganismos presentes na biomassa</b> .....	<b>52</b>
<b>4.2.8</b>	<b>Determinação de carbono orgânico total</b> .....	<b>52</b>
4.3	EXPERIMENTOS DE PÓS - TRATAMENTO .....	53
<b>4.3.1</b>	<b>Coagulação e Floculação</b> .....	<b>53</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Desinfecção</b> .....	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>

5.1	CONFIRMAÇÃO DA PRESENÇA DE ORGANISMOS DESNITRIFICANTES NA BIOMASSA .....	55
5.2	FONTE DE MICRORGANISMOS DESNITRIFICANTES .....	55
5.3	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS DA DESNITRIFICAÇÃO	56
<b>5.3.1</b>	<b>Temperatura, pH e concentração de nitrato .....</b>	<b>56</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Fontes de Carbono .....</b>	<b>60</b>
5.3.2.1	<i>Metanol</i> .....	61
5.3.2.2	<i>Etanol</i> .....	63
5.3.2.3	<i>Glicose</i> .....	64
5.3.2.4	<i>Glicerol</i> .....	65
5.3.2.5	<i>Etilenoglicol</i> .....	67
5.3.2.6	<i>Acetato de sódio</i> .....	67
<b>5.3.3</b>	<b>Avaliação da estabilidade operacional do MIB .....</b>	<b>70</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Avaliação da estabilidade operacional do MLS .....</b>	<b>72</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Cinética de Desnitrificação.....</b>	<b>74</b>
<b>5.3.6</b>	<b>Crescimento das células bacterianas .....</b>	<b>76</b>
<b>5.3.7</b>	<b>Identificação Microbiológica.....</b>	<b>77</b>
<b>5.3.8</b>	<b>Carbono Orgânico Total .....</b>	<b>78</b>
5.4	PÓS TRATAMENTO FÍSICO-QUÍMICO .....	79
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>81</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As águas subterrâneas, devido à sua disponibilidade e abundância, servem como fonte de água potável na maioria dos países do mundo. No entanto, a qualidade dos mananciais subterrâneos vem sendo cada vez mais comprometida como consequência da intensificação das ações antrópicas ao longo dos anos (AUGUSTO et al., 2012; ZHANG e ANGELIDAK, 2013; SINGH et al., 2015).

De forma específica, o aumento da contaminação das águas por compostos nitrogenados vem merecendo atenção especial, uma vez que está se tornando um problema mundial, devido a sua ampla e diversificada procedência. O íon nitrato, devido a sua alta solubilidade em água, é possivelmente, o contaminante mais difundido na água subterrânea do mundo resultando numa séria ameaça para o abastecimento de água potável. O nitrato pode rapidamente alcançar lençóis freáticos e cursos de água, causando danos à saúde humana pelo consumo de água contaminada (BHATNAGAR; SILLANPÄÄB, 2011; TORRES, 2011; GANESAN et al., 2013; SINGH et al., 2015; BARTUCCA et al., 2016).

De acordo com Wang e Chu (2016), existem diferentes fontes de contaminação das águas subterrâneas por nitrato. Destaca-se o uso intensivo de fertilizantes à base de nitrogênio e o sistema de saneamento adotado com disposição local de efluentes domésticos. No caso da fossa séptica, por exemplo, observa-se uma grande utilização deste sistema no Brasil, principalmente por consistir num processo de tratamento de esgotos de construção e operação simples, compacta e de baixo custo. O sistema de fossa séptica seguida de sumidouro é empregado como solução para o tratamento de esgoto individual em várias cidades do país. Os compostos oriundos dos sumidouros, que são ricos em nitrogênio, infiltram no solo, atingindo o lençol freático que, por sua vez, é utilizado como manancial de abastecimento (TORRES, 2011).

A contaminação de águas por nitrato proveniente de sistemas sépticos já se caracteriza como um grave problema de abastecimento público de água na cidade de Natal (RN), por exemplo. O processo de contaminação das águas subterrâneas de Natal por nitrato encontra-se num estágio bastante acentuado e tem sido motivo de preocupação por parte da população que a consome, tendo em vista que em muitos bairros da cidade os teores de nitrato são superiores ao limite estabelecido pelo Ministério da Saúde (MS). Embora este problema em Natal tenha recebido bastante atenção, até o momento, estudos específicos da contaminação de aquíferos por nitrogênio ainda são bastante restritos no Brasil, sobretudo quando o tema é focado com alto grau de detalhe (MELO et al., 2011).

A evolução da poluição dos mananciais superficiais e subterrâneos por substâncias nitrogenadas exige a necessidade de tecnologias eficientes na remoção de nitratos. No entanto, aplicações tecnológicas sedimentadas relacionados a este assunto ainda são escassas. A maioria das pesquisas envolvem matérias pertencentes a empresas com patentes dos mesmos, além de se tratar de técnicas bastante onerosas, como exemplo as unidades de troca iônica e membranas, que apresentam aplicação restrita devido ao alto custo. Além disso, estas tecnologias apenas transferem de fase o contaminante, gerando um resíduo concentrado de nitrato que necessita de posterior tratamento. Por outro lado, estudos voltados a remoção de nitrato são importantes para o desenvolvimento de técnicas que sejam eficientes e possuam custo acessível para descontaminação dos mananciais contaminados, permitindo que os mesmos possam voltar a serem utilizados para fins potáveis (RAVNJAK; VRTOVŠEK; PINTAR, 2013; COSTA; KEMPKA; SKORONSKI, 2016).

As pesquisas em remoção de nitrato estão voltadas para melhorar a eficiência e reduzir custos, otimizando as estratégias de tratamento disponíveis ou buscando novos processos e possivelmente novos organismos capazes de converter nitrogênio amoniacal em nitrogênio gasoso. A remoção biológica de nitrato tem demonstrado ser uma abordagem promissora, pois trata-se de um método de conversão, ao contrário das outras técnicas baseadas em mudança de fase, seletivo e, pode apresentar atratividade financeira por empregar biomassa para a obtenção de microrganismos (KIELING, 2004).

A desnitrificação é um processo no qual ocorre a conversão do nitrato e nitrito à formas mais reduzidas, como o óxido nitroso, óxido de nitrogênio e nitrogênio gasoso. O processo é mediado por uma variedade de bactérias heterotróficas, que utilizam o nitrato comoceptor final de elétrons. Estes microrganismos são muito comuns, pois são facultativos, isto é, podem utilizar outras fontes de oxigênio além do oxigênio molecular, nomeadamente, o nitrato e o nitrito (CAO, 2014; CARNEIRO, 2015).

Embora diversos estudos relatem a utilização de bactérias desnitrificantes para remoção de nitrato, os trabalhos envolvem a utilização de lodo como biomassa para obtenção da microbiota. Como por exemplo o trabalho desenvolvido por Sun et al. (2017), onde verificaram a viabilidade de usar o excesso de lodo ativado na desnitrificação na remoção de baixas concentrações de nitrato utilizando um reator anaeróbio de fluxo ascendente. Maintinguer et al. (2013) também estudaram a utilização de lodo ativado na remoção de nitrato em um reator anaeróbio, adicionando etanol como fonte de carbono ao processo biológico de desnitrificação. Neste estudo verificaram que as comunidades microbianas responsáveis pela desnitrificação foram identificadas como *Acidovorax* sp., *Acinetobacter* sp. e *Comamonas* sp. Liu et al. (2012)

realizaram um estudo de remoção de nitrato de águas residuais através da desnitrificação utilizando células livres e imobilizadas de *Paracoccus* sp obtidas de lodo de esgoto. Estes estudos mostram que a utilização do processo de desnitrificação biológica é crescente, no entanto, a fonte biológica mais utilizada ainda é o lodo de esgoto.

Deste modo, este trabalho objetivou a utilização de biomassa natural como fonte de bactérias desnitrificantes, realizando o controle das variáveis do processo com foco na otimização do desempenho da bactéria para posteriores estudos de adequação físico-química da água. A combinação destes processos, de forma controlada, pode apresentar maiores perspectivas para aplicação em campo, sobretudo em municípios que já encaram a contaminação de nitrato em sua água de abastecimento público.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Explorar o processo de remoção biológica de nitrato em água para fins potáveis utilizando biomassa natural como fonte de microrganismos desnitrificantes.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar microrganismos provenientes de gêneros diferentes de bambu para o processo de desnitrificação biológica;
- avaliar o desempenho da utilização dos Microrganismos Imobilizados na Biomassa (MIB) de origem e também os Microrganismos Livres em Solução (MLS) na eficiência da remoção do nitrato da água;
- investigar a influência dos parâmetros do processo de desnitrificação tais como pH, temperatura e concentração das principais substâncias químicas relevantes para o processo;
- avaliar a eficiência da desnitrificação utilizando diferentes fontes de carbono;
- estudar a cinética e estequiometria do processo bioquímico de desnitrificação biológica;
- identificar os microrganismos presentes na biomassa natural responsáveis pela remoção biológica do íon nitrato da água para obter mais informações a seu respeito;
- avaliar preliminarmente o desempenho do processo de pós-tratamento na adequação dos parâmetros de cor e turbidez da água desnitrificada.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS POR NITRATO

A água para consumo humano pode ser obtida de diferentes fontes. Dentre elas destaca-se o manancial subterrâneo. A água subterrânea pode ser captada no aquífero confinado ou artesiano, que se encontra entre duas camadas relativamente impermeáveis, o que dificulta a sua contaminação, ou ser captada no aquífero não confinado ou livre que fica próximo à superfície, e está, portanto, mais suscetível a contaminação. No Brasil, a captação de água do aquífero livre é a mais utilizada devido ao baixo custo e a facilidade de perfuração (OTENIO et al., 2007; SINGH et al., 2015).

De acordo com Augusto (2012), diversos fatores podem comprometer a qualidade dos mananciais subterrâneos. O destino final do esgoto doméstico e industrial em fossas e tanque sépticos, a disposição inadequada de resíduos sólidos urbanos e industriais, postos de combustíveis e de lavagem e a modernização da agricultura representam fontes de contaminação destas águas por bactérias e vírus patogênicos, parasitas, substâncias orgânicas e inorgânicas.

Entre os contaminantes cada vez mais comuns nos mananciais subterrâneos, destaca-se o nitrato. Este é o constituinte inorgânico que atualmente apresenta ocorrência mais generalizada e problemática, devido a sua alta mobilidade e estabilidade nos sistemas aeróbios de águas subterrâneas (BHATNAGAR; SILLANPÄÄB, 2011; GANESAN et al., 2013; BARTUCCA et al., 2016).

Segundo Baird e Cann (2011), esse problema deve ser tratado sob uma perspectiva global, uma vez que a contaminação dos mananciais subterrâneos por nitrato é um problema socioambiental que atinge diversas regiões do mundo. O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) não degrada facilmente em meio aeróbico e o principal mecanismo de degradação é a desnitrificação, que exige um ambiente redutor, presença de bactérias desnitrificantes, carbono facilmente degradável ou uma substância equivalente receptora de elétrons, ou seja, condições raras no ambiente de água subterrânea.

A ocorrência de contaminação de aquíferos por espécies nitrogenadas, provenientes de sistema sépticos ou de práticas inadequadas de saneamento, tem sido documentada por diversos trabalhos em vários países. Esses trabalhos, em sua maioria, quantificam e estudam o comportamento dessas espécies, correlacionando-as a outros constituintes químicos e à densidade populacional ou, ainda, comparando os teores obtidos em áreas saneadas aos de áreas não saneadas (CABRAL; RIGHETTTO; QUEIROZ, 2009).

Segundo Barbosa (2005), o nitrato ocorre naturalmente em águas subterrâneas, mas a sua presença em concentrações elevadas é geralmente resultante da atividade antrópica, destacando-se a aplicação de fertilizantes e o uso de sistemas de saneamento *in situ*.

Nas análises de água o íon nitrato pode ser referido ao próprio ânion ou ao seu equivalente em nitrogênio, isto é, uma parte de nitrogênio corresponde a 4,43 partes de nitrato. As concentrações de nitrato podem ser expressas em mg/L de N-nitrato (mg/L de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ou em mg/L de nitrato (mg/L de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). No Brasil, a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011, do MS, estabelece o valor máximo permissível de 10 mg/L de N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou 45 mg/L de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em água potável. Como resultado de evidências da presença de nitritos em águas, o MS estabelece o limite de 1 mg/L para o nitrito (como N) (BRASIL, 2011; COSTA et al., 2012).

Segundo os dados mais recentes do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), divulgados em janeiro de 2017, referentes ao ano de 2015, apenas 50,3% dos brasileiros têm acesso à coleta de esgoto, o que significa que mais de 100 milhões de pessoas utilizam medidas alternativas para lidar com os dejetos. O destino inadequado do esgoto doméstico e industrial acarreta a degradação do manancial subterrâneo pela lixiviação de contaminantes orgânicos e inorgânicos. Grande parte desses contaminantes chega ao lençol freático raso, podendo alcançar também o lençol freático profundo ou artesiano (BARBOSA, 2005).

O aumento da contaminação de águas subterrâneas por nitrato utilizadas para abastecimento público e pela falta de rede coletora de esgoto residencial e industrial, em muitos municípios brasileiros, propicia a realização de estudos sobre este tema. Na China e Espanha, essa contaminação ocorre principalmente por fontes difusas, com um aumento considerável de nitrato nas águas subterrâneas devido às práticas agrícolas. Já em outros países, principalmente subdesenvolvidos, a contaminação por nitrato ocorre por fontes pontuais em decorrência da disposição inadequada de resíduos e efluentes de atividades industriais e domésticas (BIGUELINI; GUMY, 2012; TORRES et al., 2013).

De acordo com Wasik, Bohdziewicz e Błaszczuk (2001), existe um aumento considerável na concentração de nitratos nas águas subterrâneas em muitos países europeus, incluindo a Polônia. Isto é resultado da aplicação extensiva de fertilizantes artificiais na agricultura, os quais passam facilmente para as águas subterrâneas. Na região mediterrânea da Espanha, o número de poços com concentração de íons nitratos superior ao limite máximo permitido vem aumentando consideravelmente.

Segundo Salem et al. (2007), estudos em algumas regiões da Argélia têm revelado que a contaminação das águas subterrâneas por nitrato atinge o nível máximo recomendado pela Organização Mundial da Saúde. Em algumas planícies foram encontradas concentrações de

nitratos de até 260 mg/L. Ainda na mesma pesquisa, em amostras de água da planície de Mitidja em 2004, a concentração de nitratos (175 mg/L) dobrou em comparação com a encontrada em 2002. A poluição é devido principalmente ao uso de quantidades de fertilizantes nitrogenados superiores as necessidades das plantas.

Apesar do conhecimento relacionado à importância da água subterrânea para o desenvolvimento socioeconômico do Brasil, o país ainda apresenta uma séria deficiência no conhecimento do potencial hídrico de seus aquíferos e principalmente no tocante à qualidade das suas águas. Os estudos regionais são poucos e encontram-se defasados. A maior parte dos estudos de qualidade da água subterrânea publicados mais recentemente são de caráter localizado (ANA, 2007).

Em uma pesquisa executada na cidade de Presidente Prudente - SP, com o objetivo de delimitar zonas de contaminação das águas subterrâneas por nitrato e caracterizar a associação destas zonas com a expansão da área urbana, realizada por Godoy et al. (2004), percebeu-se que a contaminação por este íon em águas subterrâneas é um dano ambiental significativo. A pesquisa constatou o comprometimento da potabilidade em 38 dos 134 poços selecionados. Este número representa uma proporção de 28,36%, o que caracteriza uma situação preocupante quanto à qualidade da água captada.

No estado do Ceará as águas provenientes de poços são a única fonte de abastecimento para a população de algumas regiões do estado. Em estudo para avaliar a qualidade microbiológica e química das águas para consumo humano provenientes de poços e correlacioná-la com o nível de esgotamento sanitário de diversas localidades, obteve-se que 7,8% das amostras de poços analisados ultrapassaram os níveis de nitrato permitido na legislação para consumo humano.

Em 2007, a Agência Nacional de Águas (ANA) realizou um estudo sobre o panorama da qualidade das águas subterrâneas no Brasil. Este estudo avaliou além de outros parâmetros, a contaminação dos principais sistemas aquíferos brasileiros por nitrato. Os resultados revelaram que em grande parte dos aquíferos, as concentrações encontradas foram superiores ao limite estabelecido pelo MS. A Tabela 1 mostra os resultados da qualidade dos aquíferos do Brasil obtidos pela ANA, especificamente em relação a contaminação por nitrato.

Tabela 1 - Panorama da qualidade das águas nos aquíferos do Brasil em relação ao nitrato

<b>Aquífero</b>	<b>Estados</b>	<b>Resultados</b>
Missão Velha	Aflora no Piauí Abastece Juazeiro Norte, Crato e Barbalha, no Ceará	57 pontos monitorados, 14 com valores de nitrato acima do limite para potabilidade
Exu	Aflora em partes dos estados do Ceará, Pernambuco e Piauí.	Concentrações de nitrato acima dos valores de potabilidade
Barreiras	Aflora de forma descontínua desde a região Norte até a Sudeste	Em Belém, apresentou valores de nitrato acima do padrão da legislação vigente
Bauru - Caiuá	Oeste do Estado de São Paulo	Elevadas concentrações de nitrato
Jaciparaná	Porto Velho	Em 120 poços selecionados em 6 bairros obteve-se concentrações de nitrato fora dos padrões de potabilidade

Fonte: ANA, 2007.

Os principais usos das águas dos aquíferos avaliados são o abastecimento humano e industrial. As altas concentrações de nitrato estão relacionadas à contaminação por efluentes líquidos (principalmente esgotos domésticos) das águas superficiais que interagem com as águas subterrâneas, à presença de fossas negras e inexistência de saneamento básico, além da aplicação de fertilizantes e insumos nitrogenados (ANA, 2007).

O Município de Natal - RN é um exemplo característico de impactos de atividades urbanas em águas subterrâneas situadas sob o seu domínio. Em grande parte do município, são encontradas concentrações de nitrato chegando a mais de 60 mg/L. Apesar da importância que as águas subterrâneas representam para o abastecimento deste município, sua qualidade, a cada dia, se deteriora em decorrência das crescentes atividades urbanas.

Dentre as atividades mais impactantes, destaca-se a infiltração no solo de águas das fossas e sumidouros, pois cerca de 70% dos esgotos domésticos produzidos são lançados no subsolo. De acordo com a Companhia de Águas e Esgoto do Rio Grande do Norte (Caern), vários poços que ultrapassaram esse limite foram fechados, enquanto outros ainda se encontram

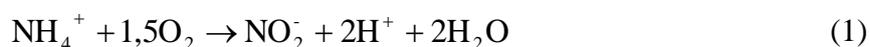
em operação devido à diluição efetuada pela concessionária, por meio da mistura de águas provenientes de mananciais superficiais (CABRAL; RIGHETTTO; QUEIROZ, 2009).

### 3.2 MECANISMO DE CONTAMINAÇÃO POR NITRATO

O nitrogênio é um importante elemento nas reações biológicas. Ele pode estar ligado a componentes que produzem muita energia, como aminoácidos e amins. Os compostos de nitrogênio estão presentes no meio ambiente fazendo parte de um ciclo onde pode se apresentar na forma de nitrogênio gasoso ( $N_2$ ), como compostos nitrogenados na sequência de oxidação de nitrogênio na forma de amônia ( $NH_3$ ) ou amônio ( $NH_4^+$ ), nitrito ( $NO_2^-$ ) e nitrato ( $NO_3^-$ ), sendo esses processos vitais na cadeia alimentar (LOGANATHAN; VIGNESWARAN; KANDASAMY, 2013; PATIL; HUSAIN; RAHANE, 2013; VESILIND e MORGAN, 2013).

Quando as bactérias atuam sobre a matéria orgânica nitrogenada libera diversos resíduos para o meio ambiente, entre eles a amônia. Quando a amônia se combina com a água do solo, forma hidróxido de amônio ( $NH_4OH$ ) que, ionizando-se, produz  $NH_4^+$ , (íon amônio) e  $OH^-$  (hidroxila). Os íons amônio presentes no solo são absorvidos pelas plantas ou são aproveitados por bactérias do gênero *Nitrosomonas* e *Nitrosococcus* (BAIRD; CANN, 2011).

A oxidação microbiana do íon amônio ocorre em dois estágios diferentes, envolvendo diferentes bactérias nitrificantes quimioautotróficas, que utilizam amônio ou nitrito como uma fonte de energia, oxigênio como acceptor final de elétrons, amônio como fonte de nitrogênio e carbonato como fonte de carbono. O primeiro estágio do processo é a oxidação do íon amônio a nitrito, conforme a reação (1) (FRANCO NETO, 2011).



De acordo com Franco Neto (2011), a oxidação dos íons amônio produz nitritos como resíduos nitrogenados (nitrosação), que são liberados para o meio ambiente. Os nitritos liberados pelas bactérias nitrosas (*Nitrosomonas* e *Nitrosococcus*) são absorvidos e utilizados como fonte de energia por bactérias quimiossintetizantes do gênero *Nitrobacter*. Os nitratos são formados através da oxidação dos nitritos, de acordo com a reação (2). Quando liberados para o solo, os nitratos podem ser absorvidos e metabolizados pelas plantas.



A agricultura contribui significativamente para o processo de formação do nitrato devido à aplicação generalizada de fertilizantes à base de nitrogênio. Ao longo das últimas décadas houve um aumento da lixiviação e do escoamento deste elemento ameaçando a qualidade da água, especialmente em áreas agrícolas, onde as elevadas concentrações de nitrato são comuns. O nitrato possui grande mobilidade no solo e é extremamente solúvel na água podendo, assim, facilmente contaminar as águas subterrâneas (ENSIE; SAMAD, 2014).

### 3.3 PROBLEMAS DO CONSUMO DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM NITRATO

A saúde humana pode ser comprometida pelo uso de águas com concentrações elevadas de nitrato. Seu consumo, por meio das águas de abastecimento, está relacionado a indução à metahemoglobinemia, especialmente em crianças (BIGUELINI; GUMY, 2012). O desenvolvimento desta doença a partir do nitrato nas águas potáveis depende da conversão bacteriana deste para nitrito durante a digestão, o que pode ocorrer na saliva e no trato gastrointestinal. As bactérias reduzem parte do íon nitrato em íon nitrito, conforme mostra a reação (3):



O nitrito oxida os íons de ferro na hemoglobina no sangue de  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ , evitando a absorção e a transferência de oxigênio para as células. A hemoglobina contendo  $\text{Fe}^{3+}$  é designada como metahemoglobina. A falta de oxigênio na corrente sanguínea provoca mudança de cor na pele do bebê, que se torna azul, por isso essa doença é comumente designada de “síndrome do bebê azul”. A insuficiência de oxigênio pode levar à paralisia cerebral e ao óbito, caso não haja um tratamento adequado. A doença é letal quando 70% da hemoglobina do corpo é convertida em metahemoglobina (SANT’ANNA JUNIOR, 2010).

As crianças pequenas, principalmente as menores de três meses de idade, são bastante suscetíveis ao desenvolvimento da metahemoglobinemia por causa das condições mais alcalinas do seu sistema gastrointestinal, fato também observado em pessoas adultas que apresentam gastroenterites, anemia, porções do estômago cirurgicamente removidas e mulheres grávidas. Nos adultos, em geral, a hemoglobina oxidada é praticamente reduzida novamente a sua forma de transporte de oxigênio, e o nitrito é novamente oxidado para nitrato, de forma rápida; mas, em bebês, esse processo é lento (ALABURDA; NISHIHARA, 1998).

No leste europeu, a síndrome do bebê azul foi um sério problema até os anos oitenta do século passado. A metahemoglobinemia induzida por nitrato, é atualmente rara nos países

industrializados, mas continua preocupante nos países em desenvolvimento (SPIRO; STIGLIANI, 2009; BAIRD; CANN, 2011).

Outro tipo de enfermidade que pode estar relacionada a ingestão de grandes quantidades de nitratos nas águas e que tem preocupado alguns pesquisadores e médicos nos últimos anos é o risco de desenvolvimento do câncer gástrico ocasionado pela formação de nitrosaminas carcinogênicas. Embora as pesquisas realizadas ainda sejam insatisfatórias para esclarecerem esta relação, trabalhos publicados mostram que mulheres que beberam água de abastecimento público com elevado nível de nitrato ( $> 2,46$  mg/L) apresentam três vezes mais probabilidade de serem diagnosticadas com câncer de mama do que as menos expostas ( $< 0,36$  mg/L na água potável) (BAIRD; CANN, 2011; MELO NETO et al., 2013).

As nitrosaminas e nitrosamidas podem surgir como produtos de reação entre o nitrito ingerido ou formado pela redução bacteriana do nitrato, com as aminas secundárias ou terciárias e amidas presentes nos alimentos. O pH ótimo para a reação de nitrosaminação é entre 2,5 a 3,5, faixa semelhante à encontrada no estômago humano após a ingestão de alimentos. Tanto as nitrosaminas como as nitrosamidas estão relacionadas com o aparecimento de tumores em animais de laboratório (BIGUELINI; GUMY, 2012).

Embora seja estabelecido o limite de 10 mg/L de nitrato para água destinada ao abastecimento humano, devido à capacidade do organismo em reverter o processo, produzindo nitrito por redução de nitrato, o uso contínuo de água contaminada por nitrato em concentrações inferiores ao limite estabelecido pode trazer danos, devido ao efeito cumulativo no organismo (BIGUELINI; GUMY, 2012).

### 3.4 PROCESSOS DE TRATAMENTO UTILIZADOS NA REMOÇÃO DE NITRATO

Devido à sua elevada estabilidade e solubilidade, o nitrato tem uma baixa tendência para a precipitação e adsorção, e, portanto, é difícil remover este íon da água utilizando as tecnologias convencionais de tratamento de água, sendo assim, são necessários tratamentos especiais para a diminuição da concentração a níveis aceitáveis (LOGANATHAN; VIGNESWARAN; KANDASAMY, 2013).

As tecnologias existentes são demoradas e possuem custo elevado, e, em muitos casos não pode fornecer bons resultados. Existem técnicas de descontaminação das águas dentro do aquífero, com a injeção de produtos que provocam a desnitrificação, mas essas técnicas estão ainda no campo da pesquisa. O que as empresas concessionárias de água têm feito é mesclar águas contaminadas com outras em que a concentração de nitrato é menor, fornecendo desta maneira águas não contaminadas (MELO et al., 2011).

A preocupação com a contaminação da água por nitrato resultou no desenvolvimento de várias técnicas de purificação com base nos processos físico-químicos e biológicos utilizados para remover ou reduzir a quantidade de poluentes tóxicos encontrados. Dentre os vários métodos disponíveis, os que têm sido mais utilizados são: troca iônica, tecnologia de membrana, adsorção, eletrocoagulação e tratamento biológico (SHRIMALI; SINGH, 2001; ZHANG; ANGELIDAKI, 2013).

### 3.4.1 Troca iônica

A troca iônica consiste na passagem de água contaminada por uma coluna preenchida com resina com grupos funcionais neutralizados por ânions de bases fortes, que são trocados pelo contaminante até a exaustão completa da resina. Este processo é muito atraente, pois o seu controle é fácil, a sua automação é simples e as temperaturas típicas não afetam a sua operação. O processo de troca iônica é eficiente, no entanto, apresenta custos operacionais bastante elevados, além de requerer um fornecimento contínuo de substâncias químicas (BARBOSA, 2005; ANSARI; PARSA, 2016). Abrams (2000) estudou a eficiência de remoção de nitratos em águas superficiais ácidas usando leito fixo com 20 litros e uma resina aniônica. A eficiência média de remoção de nitratos foi de 37,4%.

Ansari e Parsa (2016) analisaram o desempenho e modelagem das polianilinas PANI-Cl<sup>-</sup>, PANI-ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> e PANI-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na remoção de nitrato em um reator de célula dupla, empregando a abordagem de troca de íons com eletricidade alternada. No estudo, a polianilina condutora foi sintetizada através de um método eletroquímico no eletrodo de platina em três meios ácidos diferentes e a técnica de troca iônica foi processada controlando a pressão do potenciostato. Obteve-se melhor resultado na remoção de nitrato utilizando PANI-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, removendo 87% de íons nitrato.

### 3.4.2 Tecnologia de membranas

A tecnologia de membranas é um método que necessita de um pós-tratamento de salmoura gerada antes da descarga. O princípio da remoção dos íons neste método baseia-se na passagem forçada, pela aplicação de pressão superior à osmótica, da água contaminada por uma membrana semipermeável, que filtra o íon nitrato. No entanto, o processo não é seletivo, pois remove muitos íons junto com o nitrato. Apresenta sensibilidade à presença de componentes orgânicos, suspensos, partículas coloidais, variações no pH, exposição ao cloro e elevada quantidade de sólidos totais dissolvidos, sendo necessário o pré-tratamento da água

(BARBOSA, 2005). Embora seja considerada vantajosa em relação a outros métodos de remoção de nitratos a eficácia de custo é sua principal limitação.

Santafé-Moros, Gozávez-Zafrilla e García-Lora (2005) estudaram a eficiência da remoção de nitrato utilizando três membranas comerciais de nanofiltração: NF90, NF270 e ESNA1-LF. A membrana NF270 apresentou um fluxo alto e uma baixa rejeição a nitratos. As membranas NF90 e ESNA1-LF produziram uma rejeição suficientemente alta para o nitrato. O pH foi o fator mais influente para ambas as membranas e o aumento da concentração de íons sulfato causou uma diminuição na rejeição de nitratos. As membranas apresentaram desempenho diferente.

A remoção de nitratos também foi estudada por Hamouda, Touati e Amor (2017) através da utilização de membranas AMX, AM3 e RPA. A remoção dos mesmos foi estudada nas condições de diálise de Donnan em função da concentração, pH e da natureza da fase de alimentação. Observou-se que a membrana AMX proporcionou a maior eficiência de transporte de nitrato (37,9%).

### 3.4.3 Adsorção

A adsorção tem sido empregada com sucesso para remoção de nitrato de água. Consiste num processo que compreende a transferência de massa entre adsorvente (material sobre cuja superfície ocorre a adsorção) e adsorbato (substância adsorvida). Para o processo de adsorção ser eficiente é necessário o adsorvente ser de alta seletividade, alta capacidade, longa vida e preferencialmente estar disponível em grandes quantidades a um baixo custo (IMMICH; GUELLI; SOUZA, 2009).

O carvão ativado é geralmente considerado como um adsorvente universal para a remoção de diversos tipos de poluentes aquáticos, especialmente poluentes orgânicos. No entanto, apresenta baixa adsorção para poluentes aniônicos.

Bhatnagar et al. (2008) realizaram um estudo de adsorção utilizando carvão ativado granulado não tratado e granulado tratado com cloreto de zinco ( $ZnCl_2$ ) para a remoção de nitratos em água. A comparação entre carvão ativado granulado tratado com  $ZnCl_2$  e não tratado indicou que o tratamento com  $ZnCl_2$  melhorou significativamente a eficiência de adsorção. A capacidade de adsorção encontrada foi de 1,7 mg/g para o carvão ativado não tratado e de 10,2 mg/g para o carvão granulado tratado com  $ZnCl_2$ .

Mizuta et al. (2004) estudaram a eficiência de adsorção de carvão em pó de bambu na remoção de nitrato da água. Foi utilizado também o carvão ativado comercial para comparar a eficiência de adsorção. Os valores de adsorção obtidos para o carvão em pó de bambu e carvão

ativado comercial foram 1,25 e 1,09 mg/g, respectivamente. A partir dos resultados os autores constataram que o carvão em pó de bambu pode ser uma opção atraente para o tratamento *in situ* por adsorção de água subterrânea e superficial contaminada com nitratos.

A eficiência do carvão de palha de trigo e carvão de palha de mostarda como adsorventes para a remoção de nitrato da água foi investigada por Mishra e Patel (2009). O carvão comercial ativado foi usado como padrão para comparação. A eficiência de adsorção da palha de mostarda foi maior, seguida por carvão comercial ativado e palha de trigo, independentemente da concentração de nitrato-nitrogênio na faixa de 0-25 mg/L.

#### **3.4.4 Eletrocoagulação**

Além das técnicas já mencionadas, estudos recentes tem utilizado o processo de eletrocoagulação no tratamento de águas contaminadas por nitrato. A eletrocoagulação é o processo de desestabilização dos contaminantes em suspensão, emulsão ou dissolvidos em um meio aquoso, através da introdução de uma corrente elétrica. Neste processo, um coagulante é produzido na célula eletrolítica usando um ânodo e cátodo apropriado. As vantagens do processo incluem a simplicidade de operação e manutenção, baixos requisitos de energia, baixo custo de operação e geração de pequeno volume de lodo (DEHGHANI et al., 2016).

Emamjomeh, Jamali e Moradnia (2017), utilizaram o Método de Superfície de Resposta (MSR) com o objetivo de encontrar as melhores condições para a remoção de nitrato por eletrocoagulação, utilizando eletrodos de alumínio. As condições ótimas foram obtidas utilizando pH 10, voltagem de 17 V, tempo de 68 min e concentração inicial de nitrato de 226 mg/L. Nas melhores condições, a eficiência de remoção de nitrato e o consumo de energia obtidos foram 87,95% e 144,15 kWh/m<sup>3</sup>, respectivamente.

Dehghani et al. (2016) realizaram um estudo com o objetivo determinar a eficiência da remoção de nitrato através da eletrocoagulação, usando eletrodos de alumínio e ferro em um reator em lote. Os resultados mostraram que a eficiência de remoção aumentou de 27% para 86% utilizando a condição ideal de 30 V, tempo de operação de 75 min e pH 11.

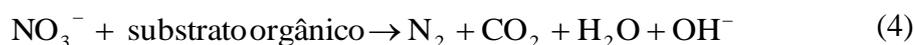
#### **3.4.5 Desnitrificação biológica**

Os processos físico-químicos são eficientes na remoção de vários íons e sais específicos, mas possuem custo elevado. Além disso, produzem grande quantidade de resíduos que são constituídos por grandes concentrações de nitratos e por outros íons presentes na água, por exemplo, cloro, sulfato e hidrogenocarbonetos (SOUSA, 2004; TORRES, 2011;).

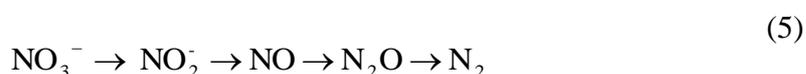
A desnitrificação biológica é um processo amplamente estudado para remoção de nitrato das águas residuais. A utilização desta técnica para tratamento de água para abastecimento foi implementada recentemente na Alemanha e nos Estados Unidos, por exemplo, e apresenta diversas vantagens sobre os métodos de osmose reversa e troca iônica. Dentre os benefícios destaca-se a capacidade de remoção seletiva do nitrato, a conversão do poluente num composto inócuo (nitrogênio molecular), além do custo-benefício ser maior que nos outros processos (TORRES, 2011).

Este é o único processo que visa diretamente a conversão do nitrato em um residual que não é nocivo ao meio ambiente (gás nitrogênio). Os demais processos se resumem a uma mudança de fase, ou seja, o nitrato é removido da fase aquosa gerando um resíduo concentrado em termos deste íon que requer tratamento. O melhor custo-benefício comparado a outros processos, a baixa geração de subprodutos químicos ofensivos à saúde humana e facilidade de operação e manutenção, são algumas vantagens reconhecidas do processo de desnitrificação no tratamento de água (SHRIMALI; SINGH, 2001).

A desnitrificação consiste na redução biológica dos nitratos ou nitritos a nitrogênio molecular em ambiente anóxico (ambiente biológico com pouco ou nenhum oxigênio dissolvido), em que os nitratos e os nitritos funcionam como aceitador final na cadeia de transporte de elétrons, quando uma fonte orgânica de carbono está disponível (reação (4)). As bactérias utilizam o oxigênio dos nitratos e dos nitritos para metabolizar estruturas celulares. As bactérias desnitrificantes podem ser heterotróficas (utilizam carbono orgânico como sua fonte de carbono) ou autotróficas (utilizam carbono inorgânico como fonte de carbono) (REZAEI et al., 2010; NETO, 2011).



Existem cinco compostos de nitrogênio principais na desnitrificação, conforme mostrado na reação (5). O nitrato é o substrato inicial e nitrogênio molecular o produto final. Neste processo os microorganismos primeiro reduzem nitratos para nitritos e, em seguida, produzem óxido nítrico, óxido nitroso e nitrogênio gasoso. No caso da desnitrificação ser incompleta, podem ser liberados intermediários como o NO e o N<sub>2</sub>O, o que acontece geralmente se a concentração de nitratos for muito elevada e a concentração de substratos orgânicos relativamente baixa (FRANCO NETO, 2011).



Muitas bactérias heterotróficas que oxidam aerobiamente matéria orgânica, usando  $\text{NO}_3^-$  como receptor terminal de elétrons, funcionam como facultativas desnitrificantes. As bactérias desnitrificantes utilizam preferencialmente o oxigênio molecular, que compete com o nitrato na função de receptor de elétrons. Desta forma, a desnitrificação ocorre na ausência de oxigênio e na presença de nitrato. Na verdade, o oxigênio dissolvido inibe a capacidade das bactérias desnitrificantes de degradar nitrato. Por esta razão, as bactérias desnitrificadoras primeiro utilizam o oxigênio como aceitador de elétrons, e apenas quando o oxigênio dissolvido for inferior a um determinado limite, podem mudar para a utilização do nitrato como receptor de elétrons (GROUNDWATER, 2013).

O tipo de doador de elétrons é a principal diferença entre os processos heterotróficos e autotróficos de remoção biológica de nitrato. As bactérias heterotróficas podem utilizar diferentes compostos de carbono como doadores de elétrons. As fontes de carbono externas mais comumente usadas são o metanol, o etanol e o acetato. Efluentes de indústrias de produtos alimentares, como o melão e a cerveja, efluentes da destilação do vinho, lixiviados de resíduos alimentares, resíduos de suinocultura e lamas hidrolisadas, são alguns exemplos de substratos orgânicos que podem ser utilizados como fonte de carbono na desnitrificação (MOHSENI-BANDPI; ELLIOTT; ZAZOULI, 2013).

No início de 1980, bactérias desnitrificantes que utilizam simultaneamente oxigênio e nitrato como receptores de elétrons, foram relatadas pela primeira vez. Várias bactérias aeróbias que exibem características ideais de desnitrificação de nitrogênio foram estudadas posteriormente, incluindo *Microvirgula aerodenitrificans*, *Bacillus methylotrophicus* e *Pseudomonas stutze*. Bactérias desnitrificadoras podem ser isoladas a partir de diversos ambientes (solos agrícolas, estações de tratamento de águas residuais) e pertencem a gêneros bacterianos diversos (REZAEI et al., 2010; HUANG et al., 2015).

A desnitrificação é menos sensível às condições ambientais do que a nitrificação. No entanto, determinadas condições devem ser mantidas para a reação ocorrer em elevada extensão. Nomeadamente, deve controlar-se o intervalo de pH, temperatura e Oxigênio Dissolvido (OD).

O processo de desnitrificação pode ocorrer num largo intervalo de pH, embora a velocidade de desnitrificação máxima ocorra num intervalo entre 7,0 e 8,0, com diferentes valores ótimos para as diferentes populações bacterianas. A temperatura também influencia a velocidade de desnitrificação, esta aumenta com o aumento da temperatura até 35 °C e é muito reduzida quando a temperatura é inferior a 5 °C (TEIXEIRA, 2006; WIESMANN; CHOI; DOMBROWSKI 2007).

O  $O_2$  inibe a desnitrificação, porque suprime a formação da enzima nitrato redutase. Concentrações de oxigênio dissolvido superiores ou iguais a 0,2 mg/L reduzem a taxa de desnitrificação, pois a energia gasta para obter oxigênio por quebra da molécula de nitrato é maior do que a energia gasta na utilização do  $O_2$ , pelo que os microrganismos utilizam preferencialmente o  $O_2$  quando este está presente naquela concentração mínima (USEPA, 2008).

A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos que utilizaram a desnitrificação biológica na remoção do nitrato da água.

Tabela 2 - Trabalhos relatados na literatura que utilizam desnitrificação biológica na remoção de nitrato de água

<b>Trabalho</b>	<b>Eficiência</b>	<b>Referência</b>
Desnitrificação utilizando bambu: estudo da viabilidade de seu uso como inóculo de um biorreator de leito fixo com escala contínua	80% para 6,5 mg de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L h <sup>-1</sup> .	Bucco et al., 2014
Desnitrificação utilizando lodo de esgoto em carvão de bambu	Células livres: 4,57mg/(Lh) células imobilizadas: 6,82 mg/(Lh)	Liu et al., 2012
Desnitrificação heterotrófica com pH heterogeneizado, facilitada pela desnitrificação autotrófica utilizando efluente como inóculo do reator.	Aproximadamente $\frac{1}{3}$ de remoção	Huang et al., 2011
Desnitrificação hidrogenotrófica em reatores de leito móvel sob tração e operação contínua utilizando lodo retirado de uma estação de tratamento de águas residuais	Preenchimento com tração: de 4,4 g NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N/Ld para o filtro com cascalho de 2,41 mm	Vasiliadou, 2009
Valorização de um resíduo de vegetal como fonte de carbono (resíduos de oliva) no tratamento de água através da desnitrificação	500 mg/L de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> removidos em 7 dias	Salem et al., 2007
Desnitrificação utilizando alcaçuz ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) e a cana gigante ( <i>Arundo donax</i> ) fonte de carbono na desnitrificação biológica da água potável.	100% utilizando <i>G. glabra</i> , e entre 87 e 100% utilizando <i>A. donax</i> ,	Ovez, Yuksel e Ozgen, 2006
Desnitrificação utilizando bactérias <i>Alcaligenes eutrophus</i> imobilizadas em copolímero de poliácridamida e alginato	Modo contínuo: (0,6-0,7 kg-N/m <sup>3</sup> /dia) após 6 dias.	Chang, Tseng e Huang, 1999

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Apesar da abordagem crescente da remoção de nitrato da água através da desnitrificação, ainda escassos os estudos que utilizam biomassa natural como fonte de microrganismos. A maioria dos trabalhos que utilizam microrganismos desnitrificantes, fazem uso do lodo como biomassa para obtenção da microbiota. Embora o estudo conduzido por Liu et al. (2012), utilize o bambu na desnitrificação, a aplicação é apenas como meio suporte para a imobilização dos microrganismos provenientes de lodo de esgoto.

Um dos primeiros trabalhos relatados na literatura que avalia o uso de microrganismos desnitrificantes obtidos do bambu na remoção de nitrato de água potável é descrito por Bucco et al. (2014). O estudo utilizou o bambu como fonte de microrganismos na preparação do inóculo para alimentação de um biorreator de leito fixo de escala contínua. No entanto, a fonte de carbono utilizada consistiu apenas no etanol (em excesso) . Além disso, o estudo não realizou a avaliação e controle dos parâmetros que influenciam no processo de desnitrificação.

### 3.5 BIOMASSA NATURAL

#### 3.5.1 O bambu

Os bambus, também chamados de taquara ou taboca pelos índios brasileiros, são plantas de rápido crescimento, pertencentes à família das *Gramineae* ou *Poaceae*, com mais de 1.250 espécies classificadas e distribuídas em cerca de 90 gêneros distintos, representando um recurso natural renovável e de alto rendimento. O Brasil conta com a maior diversidade e o mais alto índice de florestas de bambu em toda a América Latina, representando 32%, significando 137 espécies, sendo que os estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Bahia e Paraná, possuem a maior diversidade (PEREIRA NETO et al., 2009).

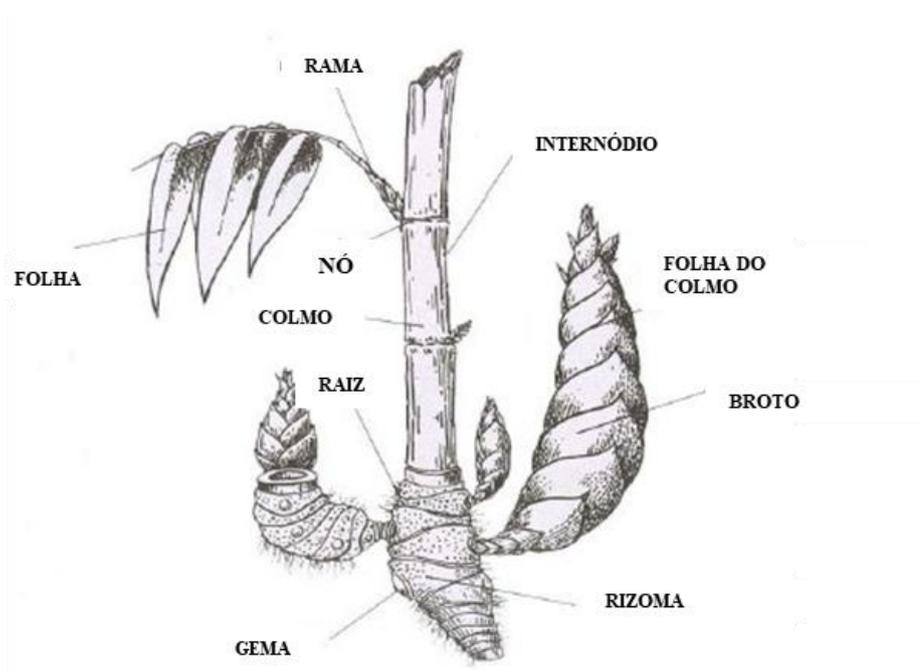
O bambu tem acompanhado o desenvolvimento humano desde o princípio do desenvolvimento tecnológico, fornecendo abrigo, alimento, utensílios domésticos e outros artefatos. No oriente, é conhecido como a planta dos mil usos, devido às suas excelentes características físicas, químicas e mecânicas. Pode ser considerado como um material altamente ecológico. Leva pouco tempo para ser renovado, produzindo colmos assexuadamente durante anos sem necessidade de replantio (DELGADO, 2011).

O bambu é o recurso natural que se renova em menor intervalo de tempo, não havendo nenhuma outra espécie florestal que possa competir em velocidade crescimento e de aproveitamento por área. A velocidade de propagação do bambu, depois de estabelecido, é rápida. Esta cultura não necessita de replantio e permite cortes periódicos a cada dois anos. Após cada corte, surgem novas perfilações, que induzem a formação de rizomas. Cada rizoma

abriga um número variado de gemas que vão germinar e formar novas perfilações ou hastes (DALLAGNOL et al., 2013).

Segundo Teixeira (2006), embora seja uma gramínea, os bambus possuem hábito arborescente, e da mesma forma que as árvores, são constituídos por uma parte aérea – colmo, folhas e ramificações – e outra subterrânea, composta pelo rizoma e raiz, conforme apresentado na Figura 1. Os colmos apresentam forma muito próxima à cilíndrica e suas dimensões variam muito de acordo com a espécie. O colmo é dividido por diafragmas que conferem grande rigidez, flexibilidade e resistência, aparecendo externamente como nós, de onde saem os ramos e folhas.

Figura 1 - Denominações das partes do bambu



Fonte: NATIONAL MISSION ON BAMBOO APPLICATIONS (NMBA), 2004.

Entre as inúmeras vantagens no cultivo do bambu, destaca-se sua pouca exigência com relação ao solo. Produz bem em quase todos os tipos de solo, mas tem o seu maior desenvolvimento vegetativo em solos arenosos e leves, com elevado teor de matéria orgânica e boa drenagem, essencial para o ciclo de vida vegetativa de espécies tropicais (COSTA, 2004).

O bambu apresenta ampla tolerância às condições climáticas, persistindo em áreas tropicais e subtropicais. Além disso, algumas espécies apresentam taxas de crescimento que atingem o pico de aproximadamente 7,5-100 cm por dia. As taxas de crescimento rápido favorecem a acumulação de carbono orgânico pela fotossíntese. Dada a grande distribuição do bambu em relação a outras espécies vegetais e suas altas taxas de crescimento, as coberturas de

de bambu podem sequestrar quantidades substanciais de carbono, ajudando assim a mitigar os efeitos das mudanças climáticas (MOGNON, 2017).

Os principais constituintes químicos dos colmos de bambu são a celulose, holocelulose e lignina (carboidratos) e, em menor escala, estão presentes as resinas, tanino (ácido tânico), ceras e sais orgânicos. Esta composição química varia de acordo com a espécie, com as condições de crescimento das touceiras, com a idade dos colmos e regiões do colmo, conforme o bambu vai se desenvolvendo até chegar a sua maturidade. Depois do desenvolvimento total do colmo a composição química do bambu tende a permanecer constante (COSTA, 2004).

Ainda que possa ser reconhecida como uma planta de grande utilidade, o bambu é um grande recurso inexplorado, sendo uma das suas principais utilidades, a produção de matéria prima voltada para a habitação de baixo custo. Vários estudos relatam a utilização do bambu como fonte biológica, no entanto, os trabalhos limitam-se ao seu uso como adsorvente devido a suas boas características de absorção.

Uma das espécies de bambu mais conhecida no mundo e com mais fácil adaptação ao clima temperado é *Phyllostachys aurea*. Pertence à família *poacea*, subfamília *Bambusoidae*, gênero *Phyllostachys*, espécie *aurea*. É nativo da China, porém é encontrada também em Taiwan, Japão, América Central e América do Sul. Sua altura atinge de 6 a 12 m e diâmetro entre 3 e 7 cm. Os colmos são eretos, verdes quando jovens, tendendo a amarelo esverdeado com o tempo (CRUZ, 2002; XAVIER, 2004).

O gênero *Phyllostachys* é o mais variado, tendo grande número de espécies. É bastante difundido no Brasil, devido à sua grande utilização, como contenção de declives, na construção civil, no artesanato, como vara de pescar, entre outros (CRUZ, 2002).

Vários fatores fazem do bambu uma planta especialmente diferenciada e com um grande potencial de utilização. Um dos destaques é a grande quantidade de espécies existentes e o seu potencial de crescimento: cresce mais rápido do que qualquer outra planta do planeta e pode atingir até 30 metros. Além disso, trata-se de uma planta tropical renovável e que produz anualmente sem a necessidade de replantio.



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAIS**

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (Sigma Aldrich, Vetec, Química Moderna e Biotec).

### **4.2 METODOLOGIA**

#### **4.2.1 Fonte de microrganismos desnitrificantes**

Foram estudados dois gêneros (A e B) de bambu como fonte de bactérias desnitrificantes. O gênero A foi obtido às margens do Rio Caveiras no município de Lages/SC (coordenadas UTM 567496 W e 6920240 S) e o gênero B utilizado foi coletado do interior do campus do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC).

Apenas o gênero com melhores taxas de desnitrificação foi utilizado no decorrer do trabalho. Além dos microrganismos imobilizados na biomassa do bambu, utilizou-se também os microrganismos livres em solução.

#### **4.2.2 Desnitrificação biológica**

##### *4.2.2.1 Confirmação da presença de microrganismos desnitrificantes na biomassa*

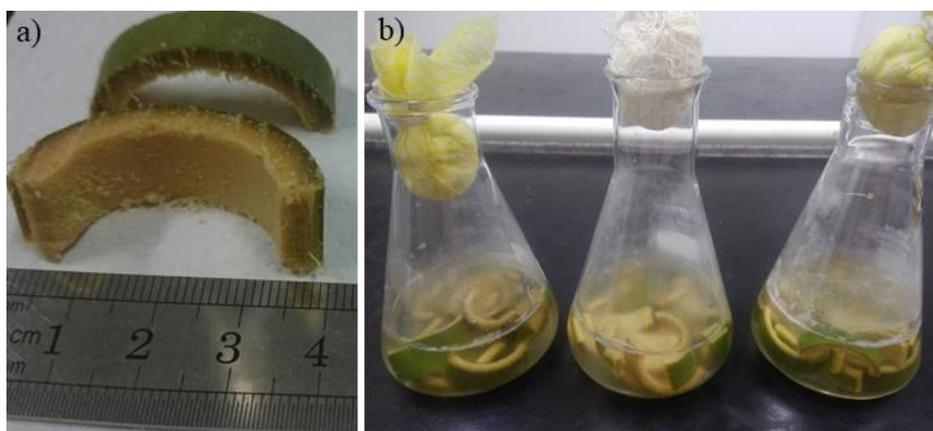
Foi realizado um ensaio de confirmação da presença de microrganismos na biomassa utilizada. Para isto, desenvolveu-se o procedimento para a desnitrificação e, paralelamente, um experimento com a esterilização de todos os materiais utilizados na remoção de nitrogênio da água, através da autoclavagem em Autoclave vertical modelo CS (Prismatec) à 121 °C durante 15 min, permitindo assim, a descontaminação dos mesmos. Em seguida, os experimentos foram submetidos às mesmas condições e a remoção do nitrato foi avaliada. Este procedimento foi aplicado ao MIB e MLS.

##### *4.2.2.2 Microrganismos imobilizados na biomassa do bambu*

O bambu foi cortado e levado ao Laboratório de Tratamento de Águas e Resíduos (LabTrat) do CAV. Em seguida, os colmos foram preparados, separando-se os nós para serem posteriormente pesados em balança analítica. Foi utilizado uma razão de 30% de biomassa em relação à água, referente ao volume máximo que poderia ser imerso no frasco reacional. O

bambu foi lavado com água corrente e em seguida adicionado à água contaminada com íons nitrato. Utilizou-se água simulada contaminada em laboratório, empregando nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) como fonte de íons nitrato e água destilada para o preparo da solução. Os colmos do bambu foram adicionados à 100 mL de água contaminada com 25 mg  $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$  e logo em seguida foi adicionado etanol à solução como fonte de carbono. Todos os experimentos foram realizados com um ensaio sem acréscimo de carbono. Os experimentos foram realizados em Erlenmeyer de 250 mL, conforme ilustrado na Figura 2, e mantidos em agitação orbitalar em incubadora *Shaker* CE 720 (Cienlab) durante o tempo necessário para remoção do nitrato da água.

Figura 2 - Microrganismos imobilizados na biomassa do bambu a) Colmos do bambu cortados, b) Biomassa em água contaminada com íons nitrato



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

O monitoramento da conversão das espécies nitrogenadas no processo de desnitrificação foi realizado através das análises de nitrato e nitrito, empregando o protocolo DIN 38405-9 para determinação de nitrato e metodologia descrita na 20ª edição do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005) para análise de nitrito e utilizando espectrofotômetro UV/VIS 190-1100 nm PHARO 300 (Merck).

Nas análises de água o íon nitrato e nitrito podem ser referidos ao próprio ânion ou ao seu equivalente em nitrogênio. Neste trabalho, os valores de concentração utilizados foram expressos em termos de nitrogênio (N), o qual fazem parte do nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) e nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ). Para converter os valores finais para nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) multiplica-se por 4,43 e por 2,28 para converter em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ). Isto é, uma parte de nitrogênio corresponde a 4,43 partes de nitrato e 2,28 partes do nitrito.

#### 4.2.2.3 Microrganismos livres em solução

Inicialmente foi realizado o crescimento das bactérias desnitrificantes durante 48 horas utilizando MIB e água contaminada com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. Logo após a completa remoção do nitrato, a biomassa foi retirada e a água desnitrificada foi novamente contaminada com íons nitrato, com a finalidade de confirmar a atividade dos microrganismos crescidos, utilizando um período de 24 horas de reação. , finalmente, as células crescidas foram centrifugadas utilizando Centrífuga Eppendorf 5804 AG durante 5 minutos em rotação de 5000 rpm. Ao final da centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, denominado de microrganismos livres em solução, foi acrescentado em uma nova água contaminada com nitrato e o etanol foi adicionado. Para todos os experimentos utilizando o MLS, também foi realizado um ensaio onde não houve acréscimo de fonte de carbono externa. A Figura 3 ilustra o processo de obtenção do MLS.

Figura 3 - Representação do processo de obtenção do MLS a) crescimento utilizando MIB durante 48 horas, b) microrganismos livres em solução contaminado com íons nitrato para teste de atividade das células crescidas durante 24 horas, c) MLS após centrifugação



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

#### 4.2.3 Otimização dos Parâmetros operacionais da desnitrificação biológica

Foram estudados os principais parâmetros operacionais, relatados na literatura, que influenciam na desnitrificação biológica. A Tabela 3 mostra os valores de todos os parâmetros avaliados. Estes parâmetros foram estudados utilizando MIB e MLS.

Tabela 3 - Parâmetros operacionais avaliados na desnitrificação

Parâmetros	Valores
Ph	5; 6; 7; 8 e 9
Temperatura (°C)	7,2; 20; 30; 40 e 50
Concentração nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	12,5; 25; 50; 100 e 250

Relação C/N	0,5:1; 1:1; 2:1; 3:1 e 4:1
-------------	----------------------------

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

As seguintes fontes de carbono foram avaliadas quanto à sua eficácia na remoção de nitrato: etanol, glicose, glicerol, metanol, etilenoglicol e acetato de sódio. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e as comparações entre as médias dos tratamentos foram efetuadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro utilizando-se o programa estatístico Assistat Versão 7.7 pt, desenvolvido por Silva (2016).

#### 4.2.4 Avaliação da estabilidade operacional

Com o objetivo de avaliar a possibilidade de utilização da mesma fonte biológica em diversos ciclos de desnitrificação, realizou-se o experimento de reutilização utilizando MIB e MLS. Para o MIB, foi estudado também a influência da presença de diferentes quantidades de água desnitrificada (denominada de caldo) na remoção de nitrato nos diversos ciclos realizados. Para isto, após a desnitrificação completa, a biomassa foi mantida e retirou-se diferentes quantidades da água desnitrificada. O volume resultante foi completado para 100 mL e contaminado com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L, seguido da adição de etanol. Para todas as reutilizações também foi realizado um experimento sem adição de carbono. A Tabela 4 mostra os volumes utilizados nos diferentes ciclos.

Tabela 4 - Volumes utilizados nos diferentes ciclos de desnitrificação

Amostra	Volume caldo (mL)	Volume água (mL)
1	12,5	87,5
2	25	75
3	50	50
4	0	100

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Na reutilização do MLS, logo após a remoção do nitrato, as células presentes no meio foram novamente centrifugadas e acrescentadas a uma nova água contaminada com 25 mg N- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L, seguido da adição de etanol.

#### 4.2.5 Cinética de desnitrificação

O monitoramento cinético das espécies nitrogenadas nitrito e nitrato foi realizado utilizando-se MLS. Em um intervalo de duas horas de reação, foi retirado uma alíquota para análise dos compostos, até a completa remoção destes íons da água. Além disso, com o objetivo

de avaliar a influência de diferentes quantidades de células na velocidade de desnitrificação, realizou-se também um experimento utilizando diversas quantidades dos microrganismos presentes em solução. As quantidades foram distinguidas através do volume da solução centrifugada contendo as células crescidas. Os volumes centrifugados estão detalhados na Tabela 5.

Tabela 5 - Volume (mL) de solução de células centrifugadas

<b>Amostra</b>	<b>Volume centrifugado (mL)</b>
M1	100
M2	200
M3	300
M4	400
M5	500

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

#### 4.2.6 Crescimento das células bacterianas

A verificação do crescimento das populações dos microrganismos presentes na biomassa foi realizada através da determinação da sua Densidade Óptica (DO), ao longo do tempo e utilizando MLS. A densidade óptica da cultura corresponde à absorvância, que é determinada com base na expressão abaixo:

$$D.O = \log (I_0/I)$$

Onde  $I_0$  é a intensidade da luz incidente e  $I$  é a intensidade da luz transmitida através da suspensão de células.

A absorvância foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS 190-1100 nm PHARO 300. O comprimento de onda usado para medição da densidade óptica de suspensões de células foi de 600 nm utilizando cubeta de 50 mm e os intervalos de tempo de 0,4, 8, 12,18, 20 e 24 horas. Através da equação (6), descrita por Shuler e Kargi (2001), foi possível calcular a velocidade de crescimento dos microrganismos.

$$\ln \left[ \frac{X}{X_0} \right] / T - T_0 = \mu_x \quad (6)$$

Onde:

X = absorvância final

$X_0$  = absorvância inicial

T = tempo final

$T_0$  = Tempo inicial

$\mu_x$  = velocidade de crescimento

#### 4.2.7 Isolamento e identificação dos microrganismos presentes na biomassa

A amostra foi semeada pela técnica de esgotamento em placa em Ágar Sangue (0,5% de sangue ovino) e incubada a 37 °C por 24 h. Em seguida, foi realizada a visualização das características das colônias. Após este procedimento, realizou-se a coloração de Gram para posteriores testes bioquímicos para identificação da bactéria. Estes testes foram incubados a 37 °C por 24 horas, e após fez-se a leitura dos mesmos de acordo com Oliveira (2012). O isolamento e identificação foi realizada pelo Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (Cedima) do CAV/UDESC.

#### 4.2.8 Determinação de carbono orgânico total

A determinação de Carbono Orgânico Total (COT), foi efetuada utilizando um analisador de carbono (multi N/C 2100, Analytik Jena, Alemanha), o qual utiliza a absorção de Radiação Infravermelha Não Dispersiva (RIND) pelo dióxido de carbono formado após combustão da amostra a 800 °C em forno vertical. A fonte de carbono utilizada para construção da curva de calibração foi glicerina dissolvida em água ultrapura. Todos os parâmetros utilizados estão descritos na Tabela 6. Este procedimento foi realizado para verificar o consumo de carbono, especificamente o etanol, pelos microrganismos livres em solução ao longo da desnitrificação.

Tabela 6 - Parâmetros utilizados na determinação de carbono total

<b>Parâmetro</b>	<b>Descrição</b>
Modo de injeção	Automático
Volume de injeção	60 µL
Temperatura do forno	800 °C
Tempo de integração	180 s
Faixa de trabalho	10 - 1000 mg L <sup>-1</sup>

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

### 4.3 EXPERIMENTOS DE PÓS - TRATAMENTO

Após a desnitrificação completa foram medidos os valores de pH da água utilizando pHmetro portátil WTW modelo Profile 3210, cor aparente e turbidez através do equipamento Fotômetro NOVA 60 Spectroquant (Merck), utilizando método de execução descrito pelo Standard Methods (APHA, 2005). Em seguida, a amostra foi submetida ao pós-tratamento, por meio de ensaios físico-químicos de coagulação, floculação e desinfecção. Foram utilizados neste processo a água desnitrificada com as duas fontes microbiológicas avaliadas.

#### 4.3.1 Coagulação e Floculação

Para o ensaio de coagulação e floculação foi utilizado um Jar Test modelo JT102/6. A finalidade do ensaio neste equipamento foi determinar as dosagens ótimas do agente coagulante Tanfloc sb (Tanac S.A) utilizado neste processo para o tratamento da água. A determinação das dosagens ótimas foi realizada por tentativa e comparação utilizando as concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 mg/L.

O equipamento utilizado possui seis recipientes graduados onde cada um possui um volume útil aproximado de 2 litros. O equipamento Jar Test possui paletas giratórias com ajuste de rotação onde foi possível regular os gradientes de velocidade. Neste experimento foram empregadas as etapas de mistura rápida durante 1min e rotação de 120 rpm, mistura lenta por 30 min e rotação de 40 rpm (floculação) e, sedimentação por 30 min.

Após a sedimentação, foram monitorados a cor aparente e turbidez final das amostras, e os melhores resultados foram submetidos à desinfecção.

#### 4.3.2 Desinfecção

Após a otimização do experimento de coagulação, a água foi submetida ao processo de desinfecção, com solução de hipoclorito de sódio (NaClO). Foram aplicadas concentração de cloro livre iguais a 2,0, 1,0 e 0,5 mg/L. Foi admitido um tempo de contato de 30 min para avaliação da presença e ausência de coliformes totais e fecais. Adotou-se um reagente comercial de enriquecimento seletivo para detecção simultânea de coliformes cotais e *E. Coli* em águas, modelo ReadyCult (Merck) para esta avaliação. A composição de cada flaconete de ReadyCult contém os seguintes reagentes: Triptose (0,5 g), cloreto de sódio (0,5 g), triptofano (0,1g), dipotássio hidrogeno fosfato (0,27 g), potássio dihidrogeno fosfato (0,2 g), lauril sulfato de sódio (0,01g), X-GAL (0,008 g), MUG (0,05 g) e IPTG (0,01 g).

Além disso, também foi realizado a contagem das bactérias resultantes seguindo o procedimento descrito pelo Standard Methods (APHA, 2005). Foi utilizado um contador de colônias mecânico CP602 (Phoenix- Cienlab).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CONFIRMAÇÃO DA PRESENÇA DE ORGANISMOS DESNITRIFICANTES NA BIOMASSA

A Tabela 7 mostra os resultados obtidos para o experimento de confirmação da presença de microrganismos desnitrificantes na biomassa utilizada. Foi possível perceber que no teste em que o MIB e MLS foram autoclavados, não houve desnitrificação. Em contraste, a remoção do nitrogênio foi completa para os experimentos em que não houve a esterilização.

Tabela 7 - Resultados obtidos em 48 horas utilizando fonte de microrganismos esterilizada e não esterilizada

Fonte de microrganismos	Autoclavado		Não autoclavado	
	Remoção nitrito (%)	Remoção nitrato (%)	Remoção nitrito (%)	Remoção nitrato (%)
MIB	0,1	0,2	99,08	80%
MLS	1,4	1,2	99,84	94%

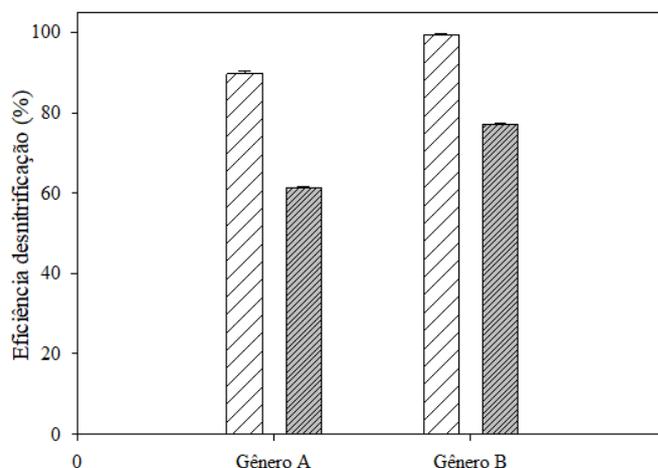
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os resultados encontrados neste experimento confirmaram a presença de microrganismos desnitrificantes no MIB e MLS, tornando possível assim, a utilização dos mesmos como fonte biológica para remoção de nitrato da água. Após os testes de identificação determinou-se que o microrganismo presente na biomassa do bambu responsável pela desnitrificação tratava-se de bactérias do gênero *Proteus Mirabilis*.

### 5.2 FONTE DE MICRORGANISMOS DESNITRIFICANTES

A Figura 4 ilustra os resultados da taxa de remoção de nitrato e nitrito utilizando bambu do gênero A e B. Para o primeiro, a média de eficiência de remoção de nitrato foi de 61,32% e nitrito 89,76%. Enquanto isso, utilizando o segundo, obteve-se uma eficiência média de 77,22% de remoção de nitrato e 99,39% de nitrito. Nesse sentido, o gênero B de bambu apresentou resultados mais satisfatórios.

Figura 4 - Eficiência de desnitrificação utilizando gênero A e B de bambu



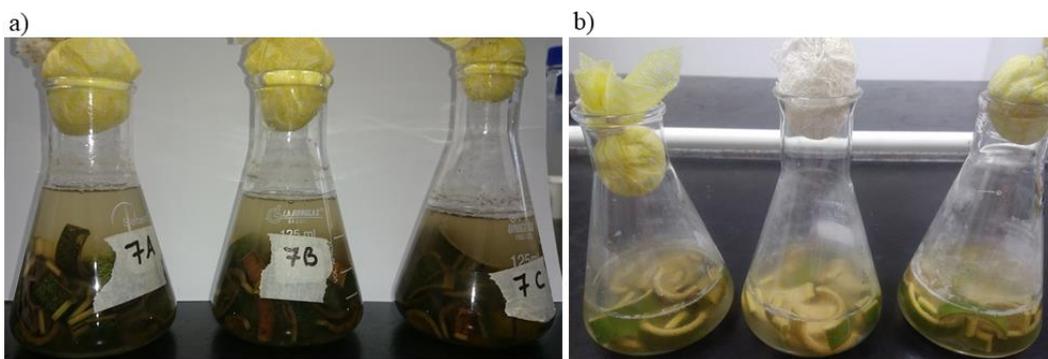
□ Eficiência nitrito

▨ Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Além disso, as características visuais da água após a desnitrificação também foram melhores para este gênero, conforme observado na Figura 5. Nesse sentido, optou-se por utilizar o gênero B no decorrer do trabalho, identificado pelo Departamento de Agronomia do CAV/Udesc como pertencente ao gênero *Phyllostachys* e espécie *aurea*.

Figura 5 - Características visuais da água desnitrificada utilizando diferentes gêneros de bambu  
a) Gênero A, b) Gênero B



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

## 5.3 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS DA DESNITRIFICAÇÃO

### 5.3.1 Temperatura, pH e concentração de nitrato

Os resultados da comparação entre as médias obtidas através do Teste de Tukey para as diferentes condições avaliadas estão descritos nos gráficos de eficiência para nitrato e nitrito,

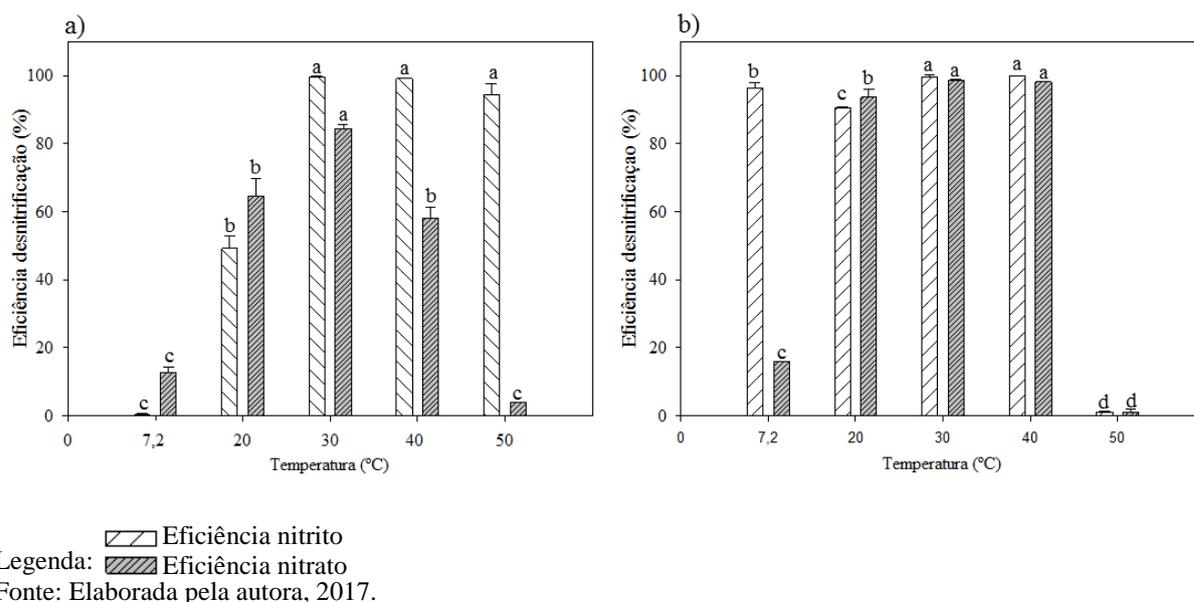
elaborados a partir do programa SigmaPlot versão 12.0. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 95% de confiança

Conforme apresentado no referencial teórico, item 3.4.4, o processo de desnitrificação ocorre em duas etapas: na primeira, o nitrato é reduzido a nitrito, e depois o nitrito é reduzido, produzindo nitrogênio gasoso. A velocidade e a eficiência deste processo dependem de alguns fatores operacionais e ambientais.

Segundo Dallago (2009) e Teixeira (2006), a temperatura representa um dos fatores ambientais mais importantes para o desenvolvimento da desnitrificação, pois afeta o crescimento microbiano e conseqüentemente a velocidade de remoção de nitrato, podendo ocorrer na faixa de 7 a 40 °C, embora a maioria dos estudos envolvidos mostrem a faixa de temperatura ideal entre 20 e 30 °C.

A Figura 6 mostra a eficiência da desnitrificação em diferentes temperaturas utilizando MIB e MLS como fonte de microrganismos desnitrificantes em água contaminada com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. Conforme observado na Figura 6 a), a velocidade da desnitrificação utilizando MIB aumenta com o aumento da temperatura até o valor ótimo de 30 °C. Acima de 30 °C, a eficiência de remoção do nitrato diminui significativamente. Para o nitrito observou-se que não houve diferenças significativas entre as médias das três maiores temperaturas avaliadas.

Figura 6 - Eficiência da desnitrificação em diferentes temperaturas a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas



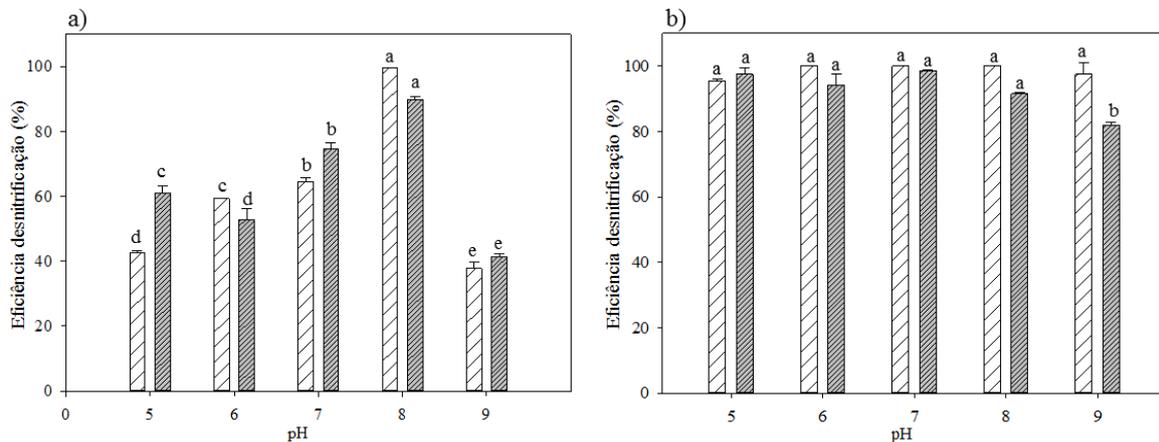
Em contraste, utilizando MLS, a taxa de desnitrificação foi ótima para as temperaturas de 20, 30 e 40 °C, conforme observado na Figura 6 b). Percebeu-se ainda, que não houveram

diferenças significativas entre as temperaturas de 30 e 40 °C e a eficiência de desnitrificação foi próxima a 100% para estes casos.

Assim como a temperatura, o pH também apresenta importância significativa no processo de desnitrificação, pois o pH do meio pode afetar a diversidade e atividade microbiana. Dallago (2009) e Liu et al. (2012) relatam que os microrganismos desnitrificantes podem tolerar uma faixa de pH entre 6,0 e 8,0. Em pH abaixo de 6,0 e acima de 8,0 existe uma redução bastante significativa na velocidade da desnitrificação, principalmente devido ao aumento da produção de óxidos nítricos, inibidores do processo.

Como mostrado na Figura 7 a), utilizando MIB, observamos que a eficiência de remoção de nitrato aumentou de 60,92% para 89,96% quando o pH do meio variou de 5,0 a 8,0. No entanto, a desnitrificação foi mais eficiente somente para pH 8,0, onde a remoção de nitrito e nitrato foi ótima. À medida que o valor de pH aumenta para 9,0, a eficiência de remoção de nitrato diminui de 89,96% para 41,45%. É provável que as condições ácidas ou alcalinas afetem a atividade bacteriana e, portanto, a eficiência de desnitrificação. Estes resultados são consistentes com o estudo desenvolvido por Liu et al. (2012), que cita que o crescimento é favorecido a níveis de pH entre 6,0 e 8,0.

Figura 7 - Eficiência da desnitrificação em diferentes valores de pH a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas



Legenda:  Eficiência nitrito

 Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

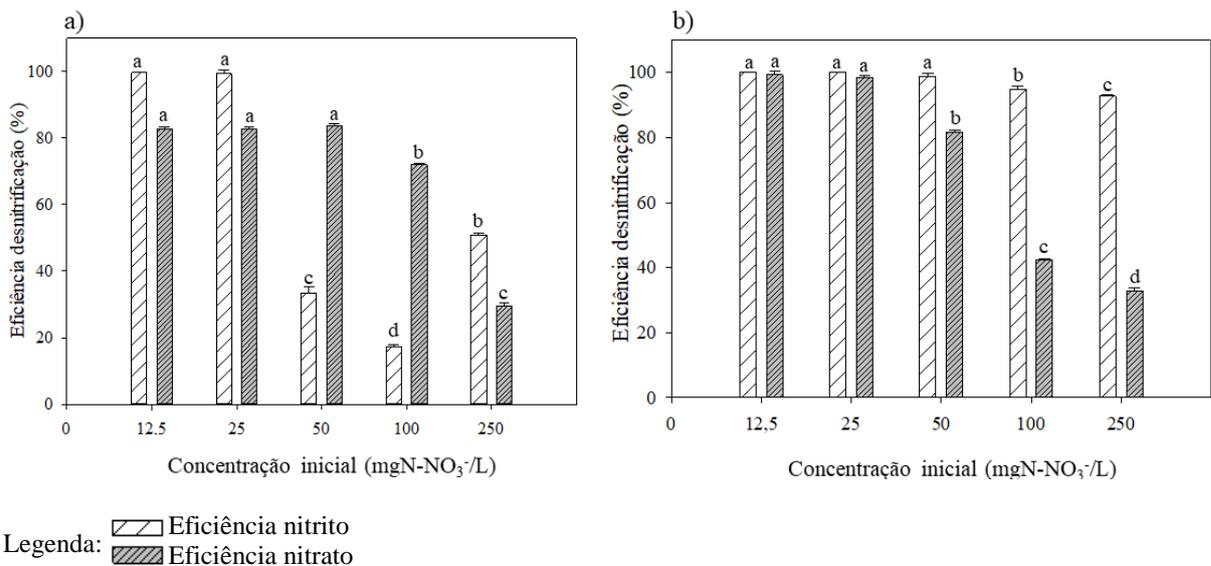
No entanto, em contraste com MIB, a eficiência de desnitrificação utilizando o MLS foi superior e a taxa de desnitrificação foi ótima em todos os valores de pH utilizados. Enquanto no primeiro experimento a desnitrificação foi mais eficiente em pH 8,0, utilizando os microrganismos livres em solução obteve-se remoção do nitrato próxima a 100% no intervalo de pH 5-8, de acordo com a Figura 7 b). As médias não apresentaram diferenças significativas

para eficiência de nitrato e nitrito em nenhum destes casos. Apenas em pH 9,0 a eficiência da remoção do nitrato foi inferior aos demais, no entanto, a desnitrificação ainda foi bastante significativa. O pH ótimo para a maioria das bactérias desnitrificantes relatada na literatura é em torno de 7 a 8, porém de acordo com Cao (2014), a reação pode ser processada em uma larga faixa de pH que varia de 3,5 a 11, dependendo do microrganismo envolvido no processo. Demonstrou-se, portanto, que a desnitrificação utilizando MLS foi menos sensível às alterações de pH do meio.

Foram também examinados o efeito das concentrações iniciais de nitrato na desnitrificação para avaliar a capacidade dos microrganismos imobilizados na biomassa e microrganismos livres em solução em tolerar altas concentrações de nitrato. Cao (2014) sugere que a inibição ao substrato nitrato pode ser devido à toxicidade, causada pelo acúmulo de nitrito, especificamente a das espécies não ionizadas, como ácido nitroso.

Conforme ilustrado na Figura 8, foi possível observar que a desnitrificação ocorre de maneira eficiente para as concentrações de 12,5 e 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L para as duas fontes biológicas avaliadas, sem diferenças significativas entre as médias encontradas para nitrato e nitrito nestas duas concentrações. No entanto, utilizando o MLS, as taxas de desnitrificação foram superiores.

Figura 8 - Eficiência da desnitrificação utilizando diferentes concentrações de nitrato a) MIB em 48 horas, b) MLS em 24 horas



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

À medida que a concentração aumentou de 25 para 50 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L a eficiência de remoção de nitrito utilizando MIB diminuiu de 99,27 para 33,35%, resultando na acumulação deste íon, enquanto para o MLS, não houve redução de eficiência. Para o nitrato, a eficiência

também foi inferior para as duas fontes de microrganismos utilizadas, mas ainda assim, permaneceu dentro dos limites estabelecidos pela portaria 2.914/2011 do MS.

As maiores concentrações avaliadas foram 100 e 250 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L e os resultados mostraram que para a concentração de 100 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L, a remoção de nitrato ainda é bastante significativa utilizando MIB, no entanto, houve o acúmulo de nitrito. No caso da última concentração avaliada, a taxa de eficiência diminuiu significativamente para as duas fontes de microrganismos utilizadas. Somente utilizando o MLS a eficiência de remoção do nitrito foi ótima para as concentrações de 100 e 250 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Foi possível, assim, perceber que a concentração de nitratos pode influenciar diretamente a taxa de crescimento das bactérias desnitrificantes, já que estas utilizam o nitrato como receptor de elétron. Assim, as eficiências diminuíram à medida que a concentração de nitrogênio aumentou consideravelmente. As taxas de eficiência de desnitrificação foram mais significativas utilizando o MLS, haja vista que houve acúmulo de nitrito nas três maiores concentrações de nitrogênio, utilizando MIB.

O tempo exigido para a remoção do nitrato depende do organismo utilizado, dos parâmetros operacionais, bem como do processo empregado. No trabalho desenvolvido por Bucco et al. (2014), a remoção efetiva de nitrogênio começou apenas após 62 horas e o desaparecimento total do nitrato ocorreu em aproximadamente 90 horas. Para este trabalho, utilizando MIB, o tempo necessário para remoção total do nitrogênio da água foi de 48 horas. Para os experimentos realizados utilizando MLS, o período diminuiu para 24 horas.

Liu et al. (2012), estudaram a desnitrificação de águas residuais utilizando células livres e células imobilizadas em carvão de bambu de cepas de *Paracoccus* sp YF1 (isolada de lodo ativado) e os resultados mostram que o tempo de desnitrificação diminuiu de 24 horas utilizando células livres, para 15 horas utilizando células imobilizadas em carvão de bambu. A eficiência utilizando células livres foi de 4,57 mg/(L.h) e para as células imobilizadas obtiveram eficiência de 6,82 mg / (L.h). Aslan (2005) utilizou um sistema de desnitrificação biológica submerso para a desnitrificação biológica de água potável e obteve eficiência de remoção de 95% após três dias.

### 5.3.2 Fontes de Carbono

Wasik, Bohdziewicz e Błaszczuk (2001) destacam que as bactérias desnitrificantes são na sua maioria anaeróbias facultativas e ocorrem comumente na natureza, no solo e na água. Aproximadamente 60 tipos de bactérias, principalmente heterotróficas, são capazes de realizar a desnitrificação.

Como as bactérias responsáveis pela desnitrificação são, na sua maioria, heterótrofas, é necessário que a água a ser desnitrificada contenha carbono orgânico suficiente para o crescimento sob condições aeróbicas e anaeróbicas e geração de energia para a conversão do nitrato a nitrogênio gasoso. O requerimento de carbono pode ser fornecido por meio de fonte interna ou externa. Uma fonte de carbono orgânico é um componente importante do processo de desnitrificação. Diferentes fontes de carbono produzem diferentes taxas de desnitrificação.

Para todos os experimentos utilizando MIB, foi possível observar que houve eficiência significativa na desnitrificação para os testes sem acréscimo de uma fonte de carbono externa. Este resultado é justificado devido ao fato do bambu possuir a capacidade de incorporar o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) à sua biomassa através do processo de fotossíntese e, por isso, é classificado como sequestrador de carbono. É classificado também como uma planta  $\text{C}_4$ , pois a incorporação de  $\text{CO}_2$  na biomassa é feita por uma via adicional que envolve moléculas de quatro carbonos.

De acordo com Osse e Meireles (2011), durante o processo de fotossíntese das plantas comuns, ocorre o processo de respiração, absorvendo oxigênio ( $\text{O}_2$ ) e liberando uma quantidade de  $\text{CO}_2$ , chamado de foto respiração. Nas plantas conhecidas como  $\text{C}_4$ , este processo é praticamente ausente, pois estas armazenam em suas fibras o  $\text{CO}_2$  fixado pela foto respiração das plantas comuns. A biomassa da floresta de bambu armazena uma grande quantidade de carbono e avalia-se que a porcentagem é de 40 a 45%, quase metade da biomassa total.

O potencial do sequestro de carbono através do bambu é alto devido, principalmente, ao rápido crescimento do colmo individual durante sua fase de expansão. Sendo assim, ao utilizarmos o MIB, a desnitrificação ocorre de maneira eficiente sem a necessidade de adição de carbono. No entanto, no caso de algumas fontes de carbono, a taxa de remoção de nitrato pode ser otimizada ou inibida, conforme observado nos resultados obtidos.

É importante ressaltar que a taxa de absorção de carbono pela biomassa do bambu é influenciada por diversos fatores, como a temperatura local, a taxa de luminosidade, a idade da planta, a influência de outras plantas na área estudada e o tamanho das plantas em uma determinada área. Para os testes utilizando MLS verificou-se que nos ensaios em que não houve adição de carbono, não ocorreu desnitrificação. Isto por que neste caso utilizou-se apenas o precipitado da centrifugação e, assim, o carbono já não estava mais presente.

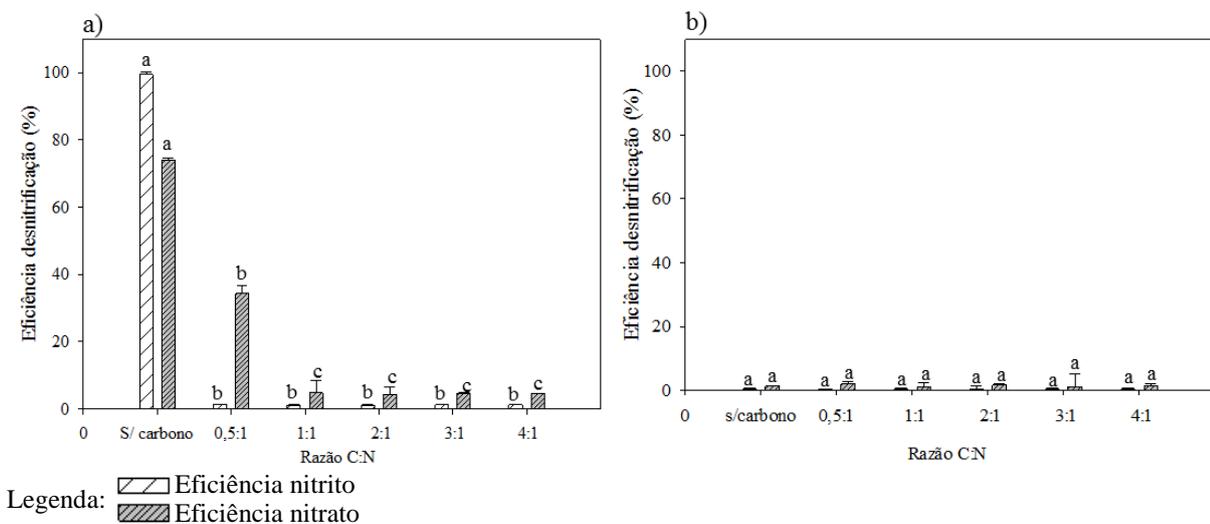
#### *5.3.2.1 Metanol*

Dos produtos orgânicos que podem servir como fonte de carbono para os organismos desnitrificantes, o mais frequentemente utilizado para a remoção de nitrogênio é o metanol.

Alguns estudos sugerem que o metanol como fonte de carbono seja um substrato pobre para o processo de desnitrificação, outros destacam que este mostrou-se eficiente na remoção de nitrato. A principal desvantagem do uso de metanol como fonte de carbono na desnitrificação é a sua potencial toxicidade. O Departamento do Meio Ambiente do Reino Unido sugere que a concentração máxima de metanol admissível seja de 0,25 mg/L para água distribuída (MOHSENI-BANDPI; ELLIOTT; ZAZOULI, 2013).

Callado e Foresti (2002) realizaram ensaios de desnitrificação com lodo de reator sequencial em batelada desnitrificante, utilizando metanol como fonte externa de carbono e encontraram uma razão ótima C/N de 0,83, obtendo uma eficiência de desnitrificação de 100%. A Figura 9 mostra as eficiências de desnitrificação obtidas utilizando o metanol como fonte de carbono em diferentes razões estequiométricas para as duas fontes de microrganismos estudadas.

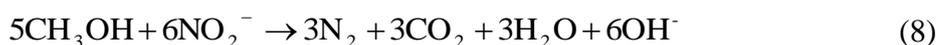
Figura 9 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e metanol em diferentes razões estequiométricas a) Metanol e MIB, b) Metanol e MLS



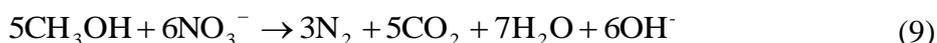
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os resultados demonstraram que a utilização desta fonte de carbono não promoveu a desnitrificação completa para nenhuma das fontes de microrganismos utilizadas e relações C/N testadas. A utilidade desta fonte de carbono no processo de desnitrificação é determinado em primeiro lugar por considerações econômicas, no entanto, existe o problema da ação tóxica do metanol para os microrganismos e a água. Conseqüentemente, a escolha de outras fontes de carbono eficientes para a desnitrificação é necessária.

As relações estequiométricas que descrevem o processo de desnitrificação utilizando metanol como fonte carbono exógena está descrito abaixo. As reações de energia das bactérias está representado nas reações (7) e (8) (MOHSENI-BANDPI; ELLIOTT; ZAZOULI, 2013).



A reação (9) descreve o processo respiratório geral:

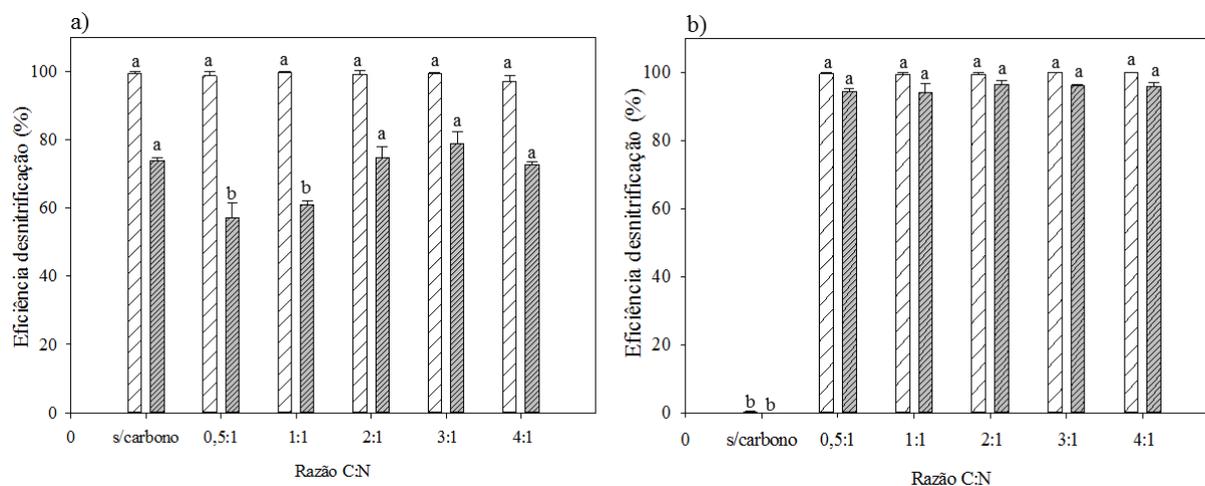


### 5.3.2.2 Etanol

Para superar o problema de toxicidade devido ao uso do metanol como doador de elétrons no processo de remoção de nitrato, o etanol tem sido recomendado como uma fonte de carbono orgânico seguro. Não existe limite estabelecido referente a toxicidade do etanol em água potável. A toxicidade mostra-se relacionada à dose, mas a tolerância varia amplamente entre os indivíduos. No Brasil, o etanol é produzido em grande escala a partir da cana de açúcar e apresenta custo inferior ao metanol.

Observamos na Figura 10 a) que a eficiência de remoção de nitrato utilizando MIB e etanol foi ótima utilizando as três maiores razões C/N e não apresentaram diferenças significativas em relação ao experimento sem adição de carbono. Percebeu-se também que quanto à eficiência na remoção do nitrito, os resultados encontrados são estatisticamente iguais e próximas a 100% para todas as razões estequiométricas estudadas, inclusive para o experimento em que não houve adição de carbono.

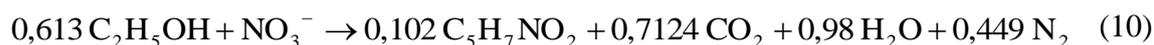
Figura 10 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e etanol em diferentes razões estequiométricas a) Etanol e MIB, b) Etanol e MLS



Legenda:  Eficiência nitrito  
 Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Para os experimentos utilizando MLS, o etanol apresentou alta taxa de desnitrificação (próximo a 100%) e a eficiência foi superior ao MIB em todas as razões C/N avaliadas, sem diferenças significativas, conforme observado na Figura 10 b). Segundo Bucco et al. (2014), a estequiometria de desnitrificação biológica usando etanol como fonte de carbono pode ser representada pela reação (10).



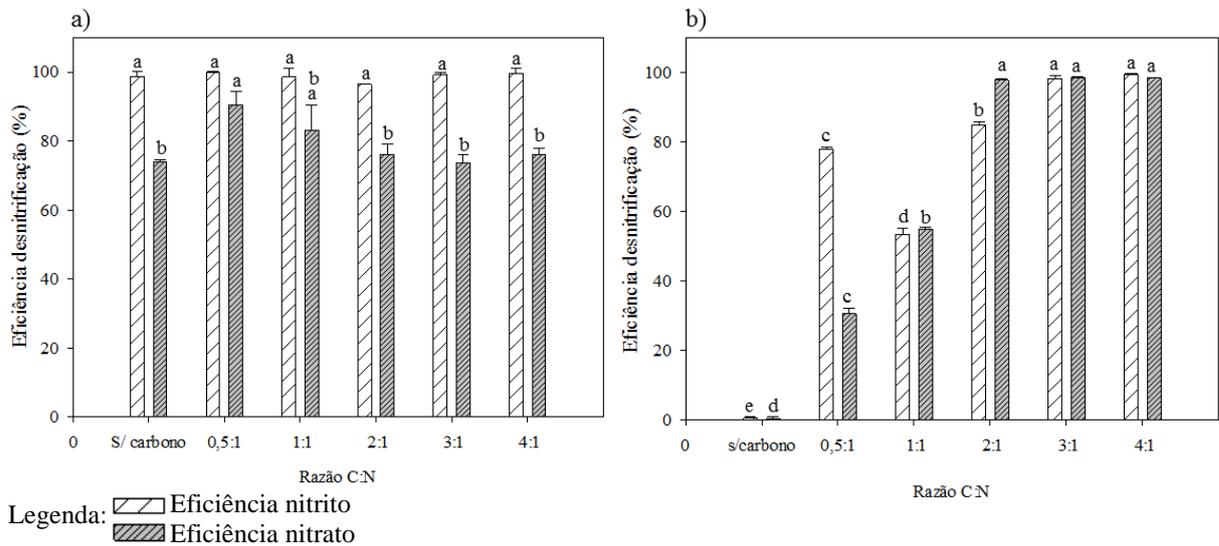
A relação C/N ótima para sistemas desnitrificantes biológicos deve ser determinada experimentalmente. Santos (2003) avaliou comparativamente o desempenho de reatores desnitrificantes em batelada, tendo etanol, metanol e gás metano como doadores de elétrons. A melhor relação C/N para alcançar eficiência de 100% utilizando o etanol foi igual a 1,0.

### 5.3.2.3 Glicose

Para a glicose, o resultado da eficiência do nitrito foi semelhante em todas as razões estequiométricas utilizando MIB, conforme observado na Figura 11 a). A desnitrificação completa foi mais eficiente utilizando as razões C/N 0,5:1 e 1:1. No entanto, a análise comparativa entre as médias mostrou que para a relação C/N 1:1, os resultados não apresentam diferenças significativas em relação ao teste sem carbono. Nas demais estequiometrias, a

comparação entre as médias não mostrou diferença significativa em relação aos testes sem carbono.

Figura 11 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e glicose em diferentes razões estequiométricas a) Glicose e MIB, b) Glicose e MLS



A oxidação da glicose com a redução de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> é descrita na reação (11):



Em todas as quantidades de glicose avaliadas utilizando o MIB como fonte de microrganismos desnitrificantes, percebeu-se que a taxa de desnitrificação foi superior a 70%. Por outro lado, utilizando MLS, as taxas de eficiência encontradas foram 98% para as duas maiores razões C/N (3 e 4:1), conforme a Figura 11 b).

Her e Huang (1995), estudaram a influência da fonte de carbono e relação C/N na desnitrificação em um sistema de reator em bateladas e utilizando, entre outras fontes de carbono, a glicose. A melhor relação C/N encontrada foi de 2,80, fornecendo uma eficiência de desnitrificação de 99,2%.

#### 5.3.2.4 Glicerol

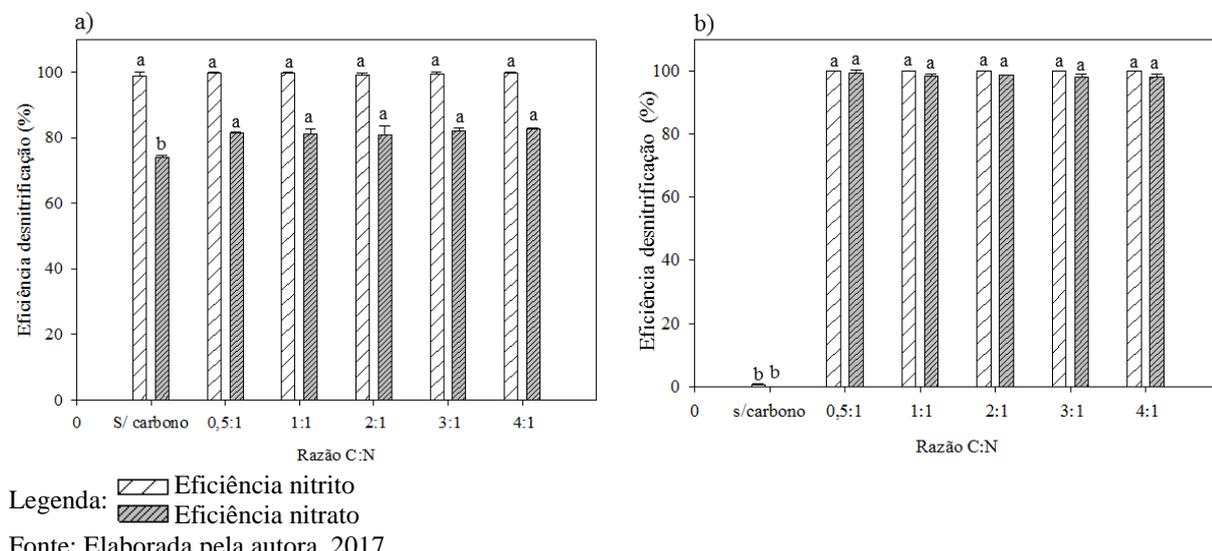
De acordo com Modin; Fukushi e Yamamoto (2007), é importante ressaltar que devido ao alto custo, a utilização de algumas fontes externas de carbono pode inviabilizar aplicações em grande escala. Sendo assim, existe a tendência crescente em se utilizar suplementos

carbonáceos mais simples e baratos, de forma a aliar economia e eficiência ao processo de desnitrificação.

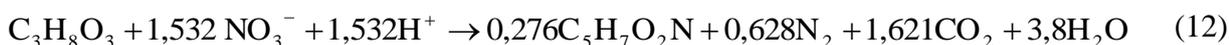
O glicerol é o principal subproduto da produção de biodiesel. Segundo Carneiro (2015), o excedente de glicerina vem saturando o mercado, sendo sua oferta maior que a procura, levando assim, à queda do preço deste subproduto e à estocagem do mesmo sem um destino correto. Diante do cenário do aumento da produção de biodiesel, a glicerina se apresenta como um subproduto com elevada disponibilidade, com tendência de aumento, e sem um mercado direto para absorver esta oferta. Nesse sentido, a utilização do glicerol como fonte de carbono na desnitrificação surge como uma abordagem promissora.

Para os testes utilizando o glicerol e MIB, foi possível observar que em todas as razões estequiométricas adicionadas, a eficiência da desnitrificação foi superior ao teste sem carbono, de acordo com a Figura 12 a) e não houve diferença significativa entre as médias das diferentes razões C/N utilizadas. Para o teste utilizando MLS, foi obtida taxa de desnitrificação acima de 98% para todas as relações C/N avaliadas, de acordo com a Figura 12 b). Além disso, a eficiência de remoção de nitrogênio foi bastante superior à utilização do MIB.

Figura 12 - Eficiência da remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L utilizando MIB em 48 horas, MLS em 24 horas e glicerol em diferentes razões estequiométricas a) Glicerol e MIB; b) Glicerol e MLS



A reação global de desnitrificação utilizando glicerol como doador de elétrons é descrita através da reação (12) (CARNEIRO, 2015).



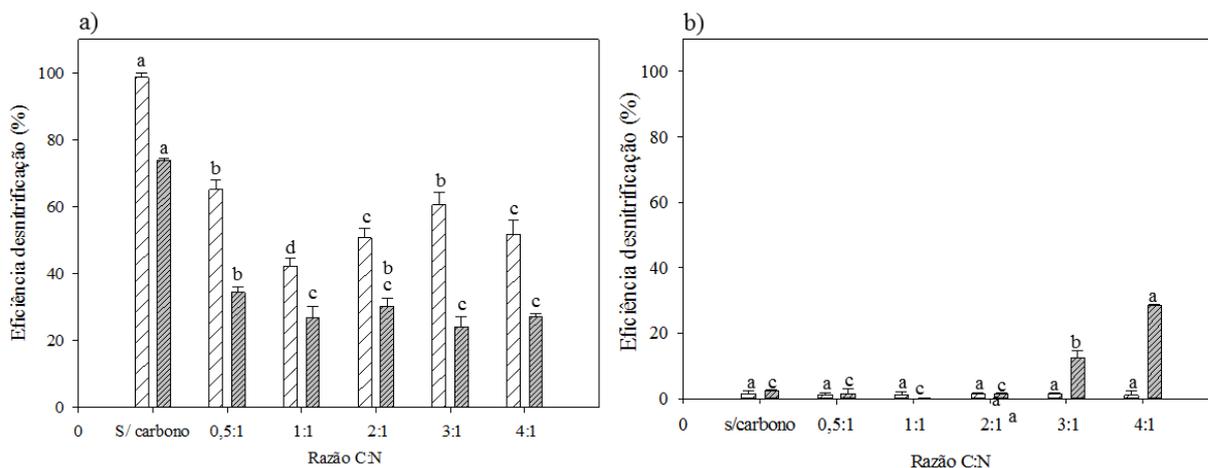
Essa reação aponta que, para cada grama de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) reduzido, consome-se 4,29 g de glicerol; são produzidos 1,45 g de novas células e 3,57 g de alcalinidade (como  $\text{CaCO}_3$ ). No entanto, a quantidade real de fonte de carbono necessária para uma desnitrificação completa (relação C/N ótima) depende de vários fatores, que envolvem condições operacionais e tipo de doador de elétrons utilizados (CARNEIRO, 2015).

Cyplik et al., 2013 estudaram a desnitrificação de águas residuais industriais utilizando glicerol como fonte de carbono. A relação ótima obtida foi de  $\text{C/N} = 3$ , permitindo uma eficiência de 100% na remoção de nitrato.

### 5.3.2.5 Etilenoglicol

A utilização do etilenoglicol não promoveu a desnitrificação completa da água contaminada em nenhuma das fontes de microrganismos testadas, conforme observado na Figura 13. Nos experimentos realizados com o MIB, somente para a razão 0,5:1 C/N, a taxa de remoção de nitrogênio foi mais significativa, no entanto, em relação ao nitrito, não houve eficiência considerável e conseqüentemente acúmulo deste íon.

Figura 13 - Eficiência da remoção de 25 mg  $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$  utilizando MIB em 48 horas e MLS em 24 horas e etilenoglicol em diferentes razões estequiométricas a) Etilenoglicol e MIB, b) Etilenoglicol e MLS



Legenda:  Eficiência nitrito  
 Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

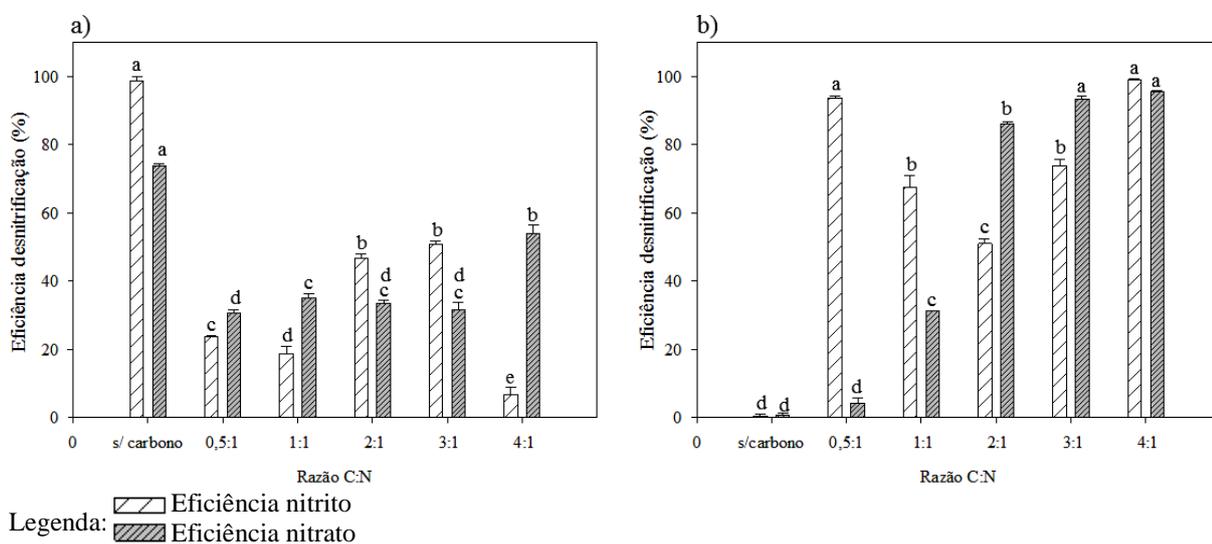
### 5.3.2.6 Acetato de sódio

Segundo Khanitchaidecha, Sumino e Kazama (2010), o acetato de sódio como fonte de carbono na desnitrificação, é considerado um substrato atraente e versátil devido à biodegradabilidade, baixo consumo ( $\text{mg-C/mg-N}$ ) e baixa toxicidade. O acetato de sódio

utilizado inibiu o crescimento das bactérias desnitrificantes utilizando MIB, conforme observado na Figura 14.

A remoção de nitrato foi superior a 50% somente utilizando a razão C/N 4:1, mas houve acúmulo de nitrito. Apenas para o teste em que não houve a adição de carbono a desnitrificação foi completa e consideravelmente mais eficiente. No caso do MLS o acetato de sódio forneceu eficiência de desnitrificação igual a 86,26; 93,45 e 95,70% utilizando as razões C/N 2, 3 e 4:1, respectivamente, de acordo com a Figura 14 b).

Figura 14 - Eficiência de remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L utilizando MIB em 48 horas e MLS em 24 horas e acetato de sódio em diferentes razões estequiométricas a) Acetato de sódio e MIB, b) Acetato de sódio e MLS



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

A reação (13) mostra a desnitrificação utilizando como fonte de carbono o acetato de sódio (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).



Shen et al. (2009), utilizaram acetato de sódio como fonte externa de carbono na desnitrificação biológica de águas residuais com alto teor de nitrato em um biorreator anóxico e alcançaram taxa de remoção de nitrato de 99,9% sem acumulação de nitrito utilizando uma razão C/N de 1,56.

Foi possível verificar que além da fonte de carbono utilizada, a relação C/N também interfere na atividade microbiana da desnitrificação e os valores ideais para a relação C/N variam de acordo com a fonte de carbono utilizada e outros aspectos do processo de

desnitrificação. Por esse motivo, a relação C/N adequada para sistemas desnitrificantes biológicos deve ser determinada e analisada conforme cada caso em particular (VICTORIA, 2006).

A eficiência de remoção de nitrato aumenta linearmente com o aumento da relação C/N, até esta razão atingir um valor ótimo, conforme observado nos resultados obtidos para a glicose e acetato de sódio, utilizando MLS. Após atingir este valor, a eficiência do sistema estabilizou e dependendo do tipo de fonte carbono, provavelmente, se houvesse o aumento considerável desta relação, o processo de desnitrificação pode ser inibido ou cessado devido à falta de doadores de elétrons, para promover a desnitrificação completa.

Os resultados encontrados nestes experimentos mostraram que o tipo de fonte empregada como doadora de elétrons para a redução de nitratos afeta fortemente a dinâmica de seleção e crescimento dos microrganismos que participam da desnitrificação. Esses fatores, por sua vez, influenciaram a eficiência da remoção de nitrogênio na água. Segundo Wasik, Bohdziewicz e Błaszczuk (2001), os compostos orgânicos não são igualmente eficazes na remoção de nitrato, o que indica diferenças consideráveis na eficiência da desnitrificação e requisitos quantitativos das bactérias desnitrificantes para diferentes substratos orgânicos.

Neste trabalho, o monitoramento das concentrações de nitrito mostraram que os pontos de concentração seguiram o padrão típico da desnitrificação biológica: aumento transitório de concentrações de nitrito (o nitrito foi produzido por redução de nitratos), seguido pelo seu decaimento. A aparição dos nitritos está ligada ao desaparecimento dos nitratos, de acordo Feleke e Sakakibara (2012). Portanto, a formação dos nitritos é apenas um passo intermediário de desnitrificação. Vale à pena mencionar que se houver acúmulo de nitrito, mesmo em pequenas quantidades, o processo não é tão interessante.

A maioria dos autores que estudam processos de remoção biológica na remoção do nitrato da água baseiam-se na análise de nitrato e nitrito para avaliação da conversão das espécies nitrogenadas. No trabalho desenvolvido por Bucco et al. (2014), foram avaliadas as concentrações de nitrato, nitrito e matéria orgânica no processo de desnitrificação utilizando bambu como fonte de microrganismos. O período de adaptação dos microrganismos durou aproximadamente 20 horas. Após este tempo, o nitrato foi continuamente convertido em nitrito até aproximadamente 62 horas. Após este período, a concentração de nitrato diminuiu para zero em aproximadamente 90 horas.

Salem et al. (2007), avaliaram a valorização de um resíduo de vegetal como fonte de carbono (resíduos de oliva) no tratamento de água através da desnitrificação. A desnitrificação foi avaliada através de análise da concentração de sólidos voláteis suspensos, nitrato e nitrito.

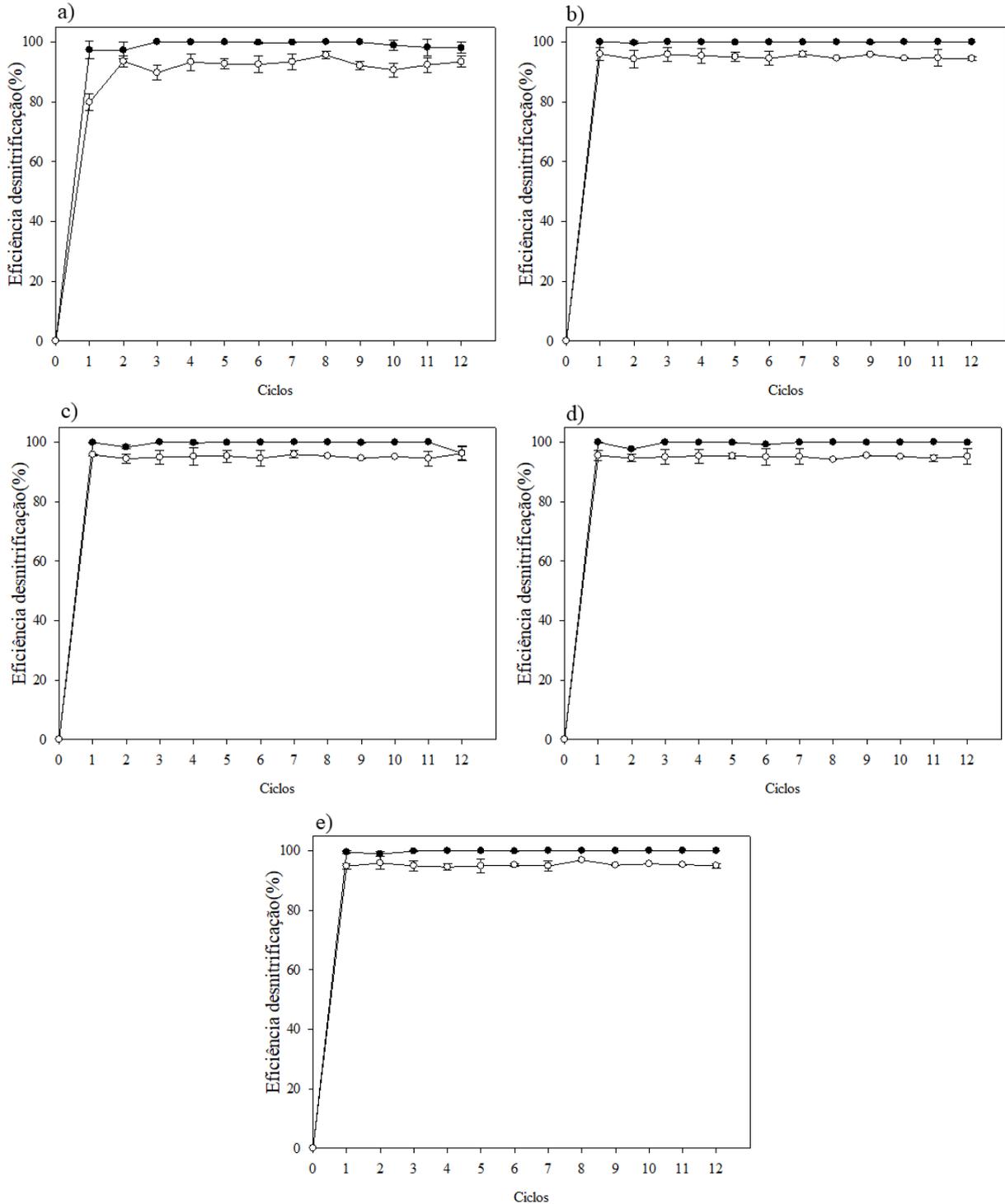
Nos resultados obtidos, a concentração de nitrito aumentou durante a desnitrificação e atingiu um valor máximo, depois diminuiu gradualmente. Foram removidos 500 mg/L de  $\text{N-NO}_3^-$  em 7 dias.

### **5.3.3 Avaliação da estabilidade operacional do MIB**

Os resultados encontrados mostraram que é possível utilizar a mesma biomassa em diversos ciclos de desnitrificação, conforme observado na Figura 15. Além disso, após a primeira utilização exigir 48 horas para a remoção completa do nitrato da água, nos demais ciclos a desnitrificação ocorreu em 24 horas.

Para o experimento sem adição de carbono (Figura 15 a)), foi possível observar que houve alta taxa de desnitrificação em todos os ciclos. Para o nitrito, a eficiência de remoção foi superior a 95% em todas as reutilizações sem diferenças significativas entre as médias, utilizando o teste de Tukey. A eficiência do nitrato apresentou diferenças significativas apenas para o primeiro ciclo, onde a taxa de remoção de nitrato foi 79,86%. Nas demais reutilizações, as taxas de remoção foram superiores a 92%.

Figura 15 - Reutilizações da biomassa em diferentes ensaios de desnitrificação de água contaminada com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L em 24 horas e diferentes quantidades de caldo a) sem carbono e 100 mL de caldo, b) 12,5 mL caldo, c) 25 mL caldo, d) 50 mL caldo, e) 100 mL caldo



Legenda: ● Eficiência nitrito  
○ Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Para este trabalho foram realizados 12 ciclos e em todos os casos a eficiência na remoção de nitrato foi superior a 90%. O teste estatístico não apresentou diferenças significativas para as médias de eficiência do nitrito e nitrato em nenhuma das quantidades de caldo utilizadas. Além disso, também não houveram diferenças significativas relacionadas a quantidade de ciclos. Assim, foi possível observar que a quantidade de caldo não influencia na eficiência da desnitrificação, assim como, a quantidade de ciclos de reutilizações não diminuiu a eficiência de remoção de nitrato. A concentração média final de nitrato para todas as quantidades de caldo utilizadas após as 12 reutilizações pode ser observada na Tabela 8.

Tabela 8 - Concentração média final de nitrito e nitrato após os ciclos de desnitrificação realizados

<b>Quantidade de caldo (mL)</b>	<b>Concentração média final de nitrito (mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L)</b>	<b>Concentração média final de nitrato (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L)</b>
Sem carbono	0,1	2,1
12,5	0,02	0,8
25	0,2	1,2
50	0,1	1,25
100	0,05	1,20

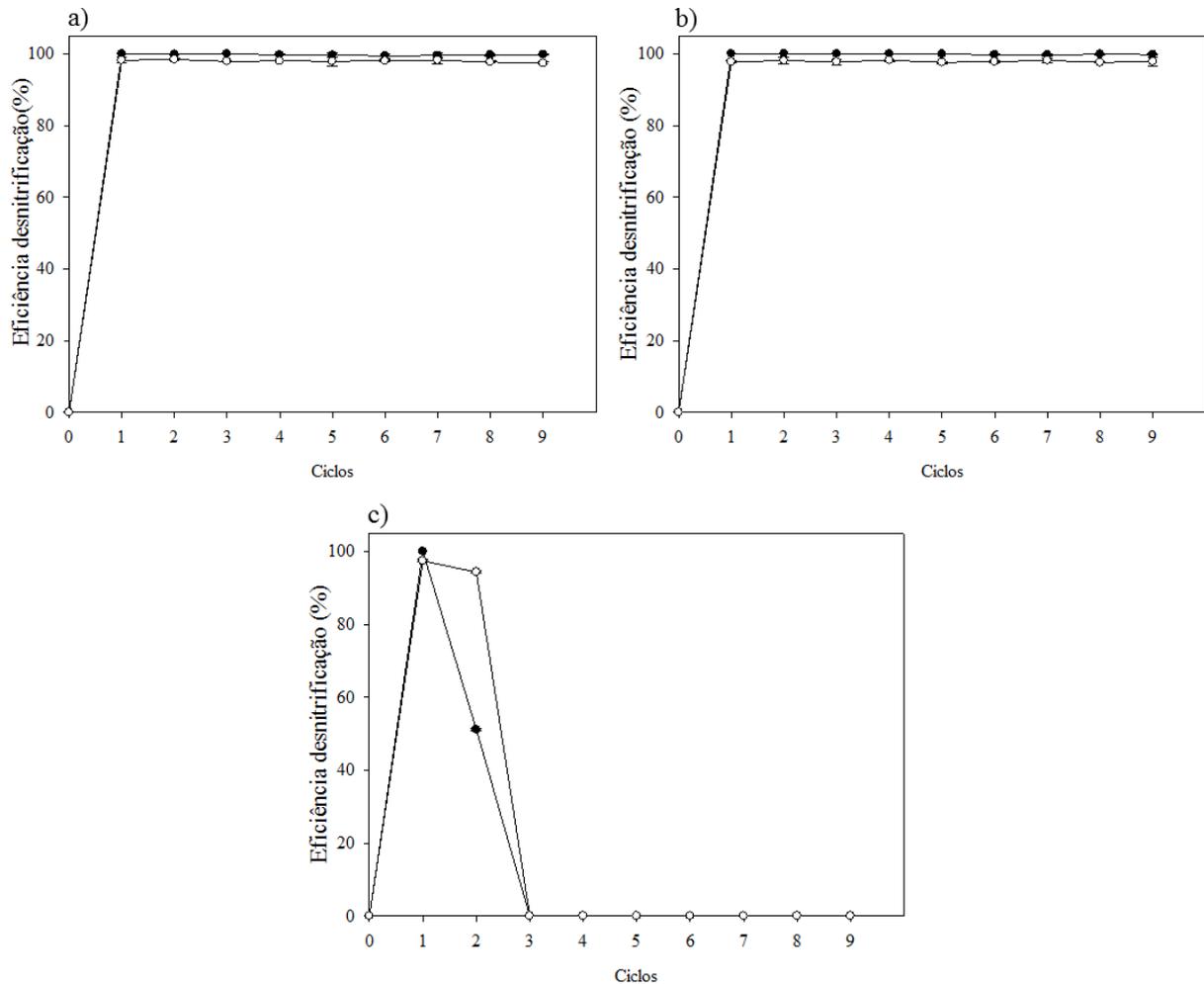
Fonte: Elaborada pela autora, 2017

Os valores de concentração média encontrados ao final de todos os ciclos realizados ficaram abaixo e em conformidade com o padrão de potabilidade da água segundo a portaria 2.914/2011, que estabelece o valor máximo de 10 mg/L de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em água potável e 1 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L para o nitrito.

#### **5.3.4 Avaliação da estabilidade operacional do MLS**

A Figura 16 mostra as eficiências obtidas em 24 horas nos diferentes ciclos de desnitrificação utilizando o MLS e as fontes de carbono que apresentaram melhores taxas de remoção de nitrogênio.

Figura 16 - Reutilizações do MLS em diferentes ciclos de desnitrificação de água contaminada com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L em 24 horas utilizando diferentes fontes de carbono a) Etanol, b) Glicerol, c) Glicose



Legenda: ● Eficiência nitrito  
○ Eficiência nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

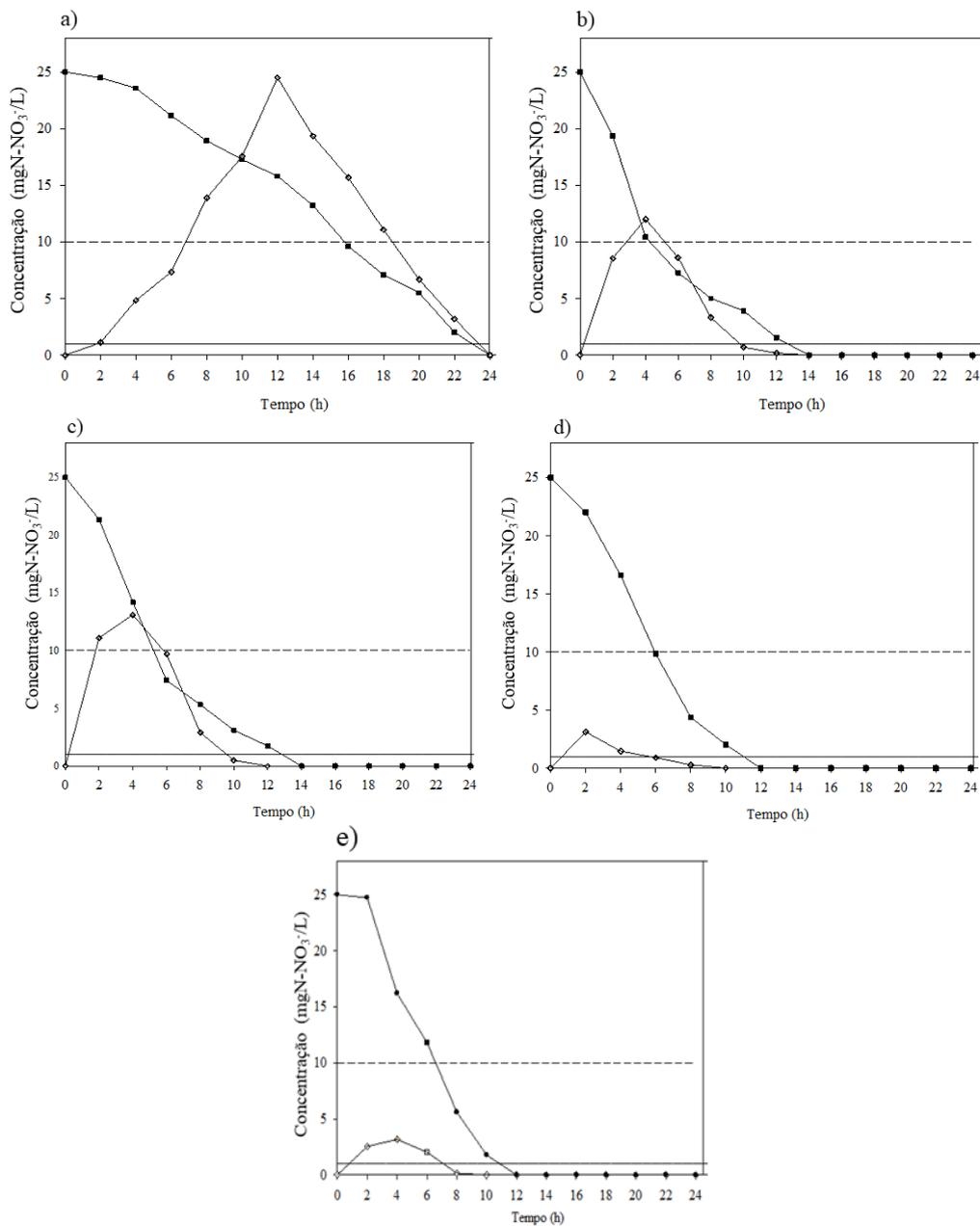
Para este experimento foram realizados 9 ciclos utilizando as mesmas células do MLS e os resultados obtidos mostraram que para o etanol e glicerol a eficiência de desnitrificação do nitrato e nitrito foram próximas ou iguais a 100%, em todas as reutilizações, conforme Figura 16 a) e b), respectivamente. A concentração média final do nitrito foi de 0,13 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L e nitrato 0,55 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L, utilizando o etanol como fonte de carbono. Para os ciclos utilizando o glicerol, obteve-se uma concentração final média de nitrito de 0,10 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L e 0,70 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L de nitrato.

Para as reutilizações utilizando a glicose, até o segundo ciclo, a remoção do nitrato apresentou taxa de eficiência superior a 90%. No entanto, houve acúmulo de nitrito, conforme Figura 16 (c), impossibilitando as posteriores reutilizações.

### 5.3.5 Cinética de Desnitrificação

Através do monitoramento cinético utilizando o MLS, foi possível observar a conversão das espécies nitrogenadas na desnitrificação, especificamente o nitrato e nitrito. A Figura 17 ilustra os resultados obtidos na cinética de desnitrificação.

Figura 17 - Monitoramento cinético da desnitrificação com intervalo de 2 horas, utilizando diferentes quantidades de microrganismos a) M1; b) M2; c) M3; d) M4, e) M5



- Nitrato
- ◇ Nitrito

Legenda: — Limite nitrito  
 - - - Limite nitrato

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

No início do processo, a concentração inicial do nitrogênio é aproximadamente 25 mg/L, enquanto o nitrito é zero. Ao longo do tempo, observamos a formação do nitrito até atingir o valor de 25 mg/L, seguido pelo decaimento do mesmo e a remoção do nitrato. A cada 2 horas, visualizou-se a remoção completa do nitrogênio da água contaminada, num tempo total de 24 horas, conforme Figura 17 (a).

As diferentes quantidades de células utilizadas influenciaram na velocidade da desnitrificação. Nas Figuras 17 (b) e 17 (c) é possível verificar que o tempo necessário para a remoção total do nitrogênio, formação e redução completa do nitrito diminuiu de 24 para 14 horas, utilizando o dobro e o triplo da quantidade de células centrifugadas.

A utilização de quatro e cinco vezes mais quantidades de células não promoveu a redução significativa de tempo necessário para a total remoção do nitrato e nitrito em contraste com as quantidades M2 e M3. De acordo com a Figura 17 (d) e (e), a redução foi de apenas 2 horas em relação aos experimentos anteriores.

É importante ressaltar que o tempo necessário para a que os valores de nitrato e nitrito fiquem dentro dos limites estabelecidos pelo MS é inferior ao exigido para completa remoção destes íons da água. Na Tabela 9 é possível verificar a velocidade de remoção do nitrato e nitrito para as diferentes quantidades de células utilizadas de modo que os valores fiquem dentro dos parâmetros exigidos pela legislação.

Tabela 9 - Velocidade de remoção de nitrato e nitrito para adequação aos parâmetros do MS

<b>Células</b>	<b>Velocidade remoção (mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L/h)</b>	<b>Velocidade remoção (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L/h)</b>
M1	1,04	1,25
M2	2,43	2,95
M3	2,46	2,93
M4	4,01	2,52
M5	3,10	2,42

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

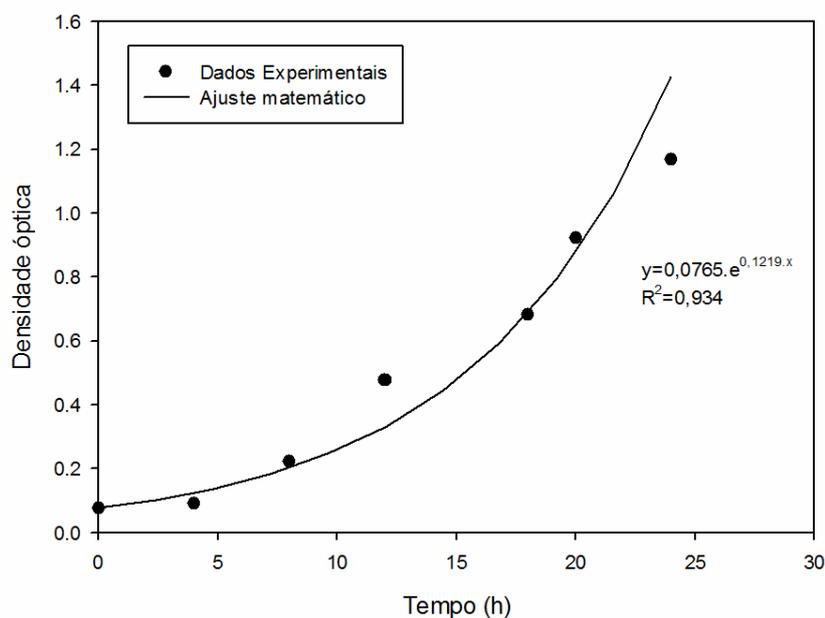
Percebe-se mais uma vez que, utilizando duas e três vezes mais a quantidade de células, a velocidade ocorreu de forma bastante semelhante, sendo superior ao experimento contendo apenas o valor de massa M1. Utilizando quatro vezes mais a quantidade de MLS, a velocidade de remoção do nitrito foi de 4,02 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L/h e superior as demais. No entanto, em relação ao nitrato, foi ligeiramente menor que a quantidade de células anterior. Para a quantidade M5, maior quantidade de células utilizada, percebeu-se diminuição de velocidade em contraste com

a quantidade M4 para nitrato e nitrito. Assim, percebeu-se que, de maneira geral, as quantidades que promovem maior velocidade de desnitrificação estão entre M2 e M3.

### 5.3.6 Crescimento das células bacterianas

As intensidades de crescimento, determinadas por densidade óptica a 600 nm estão descritas na Figura 18 e demonstraram que ao longo do tempo a absorbância medida aumentou. Através do monitoramento da densidade óptica foi possível observar o crescimento linear das células ao longo do tempo.

Figura 18 - Densidade óptica do meio ao longo da desnitrificação



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Ao final da desnitrificação, no tempo de 24 horas, seria esperado o decaimento da densidade óptica, devido principalmente ao esgotamento ou diminuição de nutrientes no meio e pelo aumento de produtos tóxicos provenientes do próprio metabolismo microbiano. No entanto, a avaliação da densidade óptica é baseada no fato de as células microbianas dispersarem a luz, podendo assim, ser detectadas por meio da absorbância, e desse modo, a turbidimetria. Nesse sentido, a turbidimetria não é capaz de realizar a discriminação entre as células vivas e células mortas presentes na água. Em termos cinéticos, a velocidade específica de crescimento do microrganismo foi avaliada em  $0,1219 \text{ h}^{-1}$ .

### 5.3.7 Identificação Microbiológica

Alguns ensaios provaram qualitativamente a existência de bactérias desnitrificantes ativas em bambu. As bactérias do gênero *Proteus Mirabilis*, identificadas na biomassa utilizada, são gram-negativas e comumente encontradas no meio ambiente, principalmente em locais com água poluída e solos com material degradado, participando da decomposição de matéria animal, pois esses bacilos exibem atividade proteolítica em condições de aerobiose e são anaeróbios facultativos.

É um tipo de enterobactérias e pode fazer parte da flora normal de intestino. Os organismos do gênero *Proteus* são urease positivos diferentemente da maioria das enterobactérias. A urease é uma enzima produzida por alguns microrganismos, mas é especialmente importante para identificar espécies deste gênero.

O gênero *Proteus* faz parte dos microrganismos capazes de realizar a desnitrificação. Estas bactérias são heterotróficas capazes de realizar uma redução dissimilatória do nitrato em um processo de duas etapas. O primeiro passo é a conversão do nitrato a nitrito. Este estágio é seguido pela produção de componentes intermediários: óxido nítrico, óxido nitroso e nitrogênio gasoso (PANTOJA FILHO, 2011; TEIXEIRA, 2006).

Um exemplo de rota para remoção biológica de nitrogênio que tem sido investigada usando esta bactéria é a oxidação anaeróbia de amônio (ANAMMOX). Este processo ocorre na ausência de oxigênio, onde amônio é oxidado a nitrito, enquanto a oxidação de nitrito a nitrato é evitada, estimulando o crescimento das bactérias oxidadoras de amônia (AOB) e ao mesmo tempo inibindo as bactérias oxidantes de nitrito (NOB). O amônio remanescente e o nitrito formado são usados pelas bactérias Anammox, que os converte em N<sub>2</sub> (CAO, 2014).

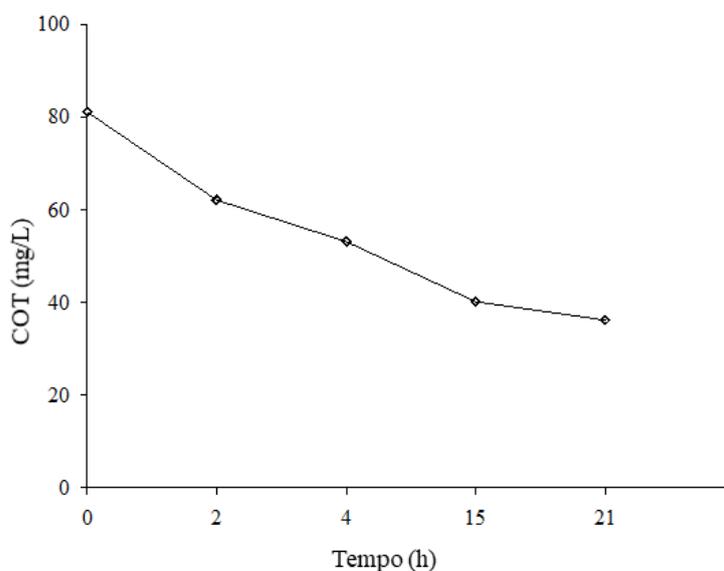
Não foram encontrados descritos na literatura processos de desnitrificação de água potável utilizando este microrganismo. Os estudos de remoção de nitrogênio envolvendo as bactérias do gênero *Proteus* estão limitados para o tratamento de efluentes, principalmente como microrganismo capaz de realizar o processo de nitrificação e desnitrificação em biorreatores.

No estudo desenvolvido por Bucco et al. (2014), não houve a identificação dos microrganismos responsáveis pela desnitrificação. No trabalho destes autores utilizou-se a análise da biologia molecular com a reação em cadeia em tempo real da polimerase (RT-qPCR), apenas para a quantificação total das bactérias redutoras de nitrato.

### 5.3.8 Carbono Orgânico Total

A análise de COT considera as parcelas biodegradáveis e não biodegradáveis da matéria orgânica, quantificando apenas o carbono orgânico total presente na amostra. A Figura 19 ilustra os valores de COT para a desnitrificação utilizando etanol como fonte de carbono na remoção de 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Figura 19 - Resultado COT, mostrando consumo de etanol ao longo da desnitrificação



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Pelos valores de COT, constatou-se que havia, em média, 80 mg/L de carbono, enquanto no final da desnitrificação o valor foi 36 mg/L, correspondendo a uma remoção de carbono orgânico de 55%, representando o consumo necessário pelos microrganismos para remoção do nitrato da água. Segundo Di Bernardo e Sabogal-Paz (2009), este fator necessita de maior avaliação, uma vez que poderá ser precursor de reações de formação de espécies organocloradas no processo de desinfecção.

De acordo com Mohseni-Bandp, Elliott e Zazouli (2013), na síntese bacteriana utilizando etanol (reação (14)), é necessária uma quantidade de 0,38 mg de etanol para remover 1 mg de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.



Na desnitrificação, foram removidos 25 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (correspondente a 110,75 mg de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). De acordo com a relação, seriam necessários 42,085 mg de etanol para o consumo total

da concentração de nitrato utilizada. O valor médio consumido, obtido na análise de COT, foi de 44 mg. Sendo assim, o valor obtido está próximo ao valor teórico relatado.

#### 5.4 PÓS TRATAMENTO FÍSICO-QUÍMICO

Durante o curso da desnitrificação, observou-se que as fontes microbiológicas utilizadas liberaram matéria orgânica para a água. Isso foi confirmado pelo aumento da turbidez e cor aparente da água. Parte do aumento desses parâmetros foram devido ao crescimento celular durante a desnitrificação.

A cor e turbidez tem suma importância no processo de tratamento de água. O padrão de turbidez para água potável, resultante de filtração lenta é de 1,0 UNT (Unidade Nefelométrica de Turbidez) e para a filtração rápida este valor é 0,5 UNT. A portaria 2.914 do MS estabelece para cor aparente o valor máximo permitido de 15 uH (unidade Hazen) como padrão organoléptico para consumo humano.

A Tabela 10 mostra os valores de pH, cor e turbidez da água, medidos após a desnitrificação e ao final do tratamento físico químico. Para o tratamento físico-químico foram apresentados os valores obtidos para a melhor concentração do agente coagulante utilizado.

Tabela 10 - Parâmetros físico químicos medidos após desnitrificação e tratamento físico-químico

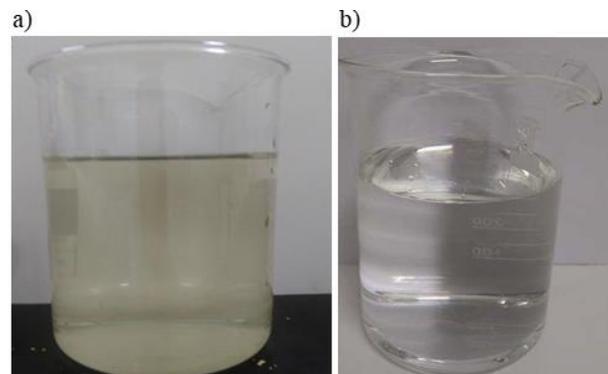
Após desnitrificação				Após tratamento físico químico			
Amostra	pH	Cor (uH)	Turbidez (UNT)	Amostra	pH	Cor (uH)	Turbidez (UNT)
MIB	7,0	132,6	85	MIB	7,0	49	2
MLS	7,0	83,9	50	MLS	7,0	8	0

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Percebeu-se que as características físico-químicas da água desnitrificada utilizando o MLS são superiores à água utilizando MIB. Desse modo, necessitou de menos esforços para adequação dos parâmetros de cor e turbidez.

Ao final do tratamento aplicado, apenas os resultados de cor e turbidez da água desnitrificada utilizando MLS permaneceram em consonância com a Portaria 2.914 do MS (Figura 20). Os valores de pH para as duas fontes biológicas utilizadas foram iguais e estão dentro dos parâmetros estabelecidos.

Figura 20 - Aspecto da água após tratamento físico-químico a) água desnitrificada utilizando MIB após o tratamento físico-químico, b) água desnitrificada utilizando MLS após o tratamento-físico.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os microrganismos utilizados no processo de desnitrificação biológica podem persistir na água purificada e a fase final do seu tratamento também deve lidar com a remoção da suspensão bacteriana. A portaria 2.914 do MS estabelece que seja verificada, na água para consumo humano, para garantir sua potabilidade, a ausência de coliformes totais e *Escherichia Coli* e seja determinada a contagem de bactérias heterotróficas. A portaria recomenda que não deve exceder a 500 Unidades Formadoras de Colônias por 1 mililitro de amostra (500 UFC/mL).

Os ensaios bacteriológicos envolvendo a pesquisa de coliformes na água desnitrificada utilizando MIB apresentaram resultado positivo para coliformes totais e negativos para coliformes fecais após a desinfecção. O resultado positivo pode ser proveniente da presença de grande quantidade de matéria orgânica na água após o tratamento físico-químico, confirmada pelo valor de cor medida, conforme descrito por Bucco et al. (2014).

Para a água desnitrificada utilizando MLS, o resultado da determinação de coliformes totais e fecais após a desinfecção foi negativo e a contagem de bactérias heterotróficas também revelou resultados negativos. No entanto, é importante ressaltar que são necessários maiores estudos, utilizando outros desinfetantes, além de um aprofundamento maior na microbiologia de pós tratamento, para total adequação da água desnitrificada aos padrões biológicos para água potável.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise dos dados experimentais obtidos neste trabalho foi possível constatar que a biomassa do bambu, em particular o gênero utilizado, foi considerada uma fonte adequada de microrganismos desnitrificantes para a remoção de nitrogênio da água contaminada. Além disso, os microrganismos desnitrificantes imobilizados na biomassa de origem e microrganismos livres em solução apresentaram eficiência de desnitrificação satisfatória. A avaliação dos parâmetros operacionais permitiu a otimização do processo e o MLS apresentou-se menos sensibilidade às condições testadas.

Para a utilização dos microrganismos imobilizados na biomassa de origem, a desnitrificação ocorreu sem a necessidade de uso de uma fonte de carbono externa, devido à presença de carbono incorporado à biomassa utilizada, com eficiência igual a 73% na remoção de nitrato de água contaminada com 25 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. A utilização do etanol, glicose e glicerol, aumentaram a eficiência para 78% (3:1 C/N), 82% (3:1 C/N) e 90% (0,5:1C/N) respectivamente. O metanol, etilenoglicol e acetato de sódio inibiram a desnitrificação.

Utilizando o MLS, a desnitrificação não ocorre sem a adição de uma fonte de carbono externa. Os substratos que forneceram melhores taxas de remoção de nitrato foram: etanol (96,48 % 2:1 C/N), glicerol (próximo a 100% em todas as relações C/N testadas), glicose com eficiência de remoção de 98,58 (3:1 C/N) e acetato de sódio (95% 4:1 C/N).

Nos ensaios de avaliação da estabilidade operacional para as duas fontes biológicas, os resultados permaneceram dentro dos parâmetros de nitrito e nitrato exigidos pela portaria 2.914/2011, após a realização de 12 ciclos utilizando MIB (sem adição de carbono) e 9 ciclos utilizando MLS, utilizando etanol e glicerol. A eficiência da desnitrificação utilizando glicerol pode ser uma alternativa atrativa, aliando economia e ótimos resultados ao processo de desnitrificação, além da destinação ambientalmente adequada deste subproduto.

As características físico-químicas da água desnitrificada utilizando o MLS foram superiores ao MIB e após o ensaio de coagulação e floculação, apenas a água desnitrificada com esta fonte biológica permaneceu dentro dos parâmetros de cor e turbidez exigidos pela portaria 2.914 do MS. Nesse sentido, apesar da necessidade da utilização de uma fonte de carbono externa empregando o MLS, as taxas de desnitrificação e as características físico-químicas da água mostraram que a sua utilização é mais viável em relação ao MIB.



## REFERÊNCIAS

ABRAMS, I. M. Countercurrent ion exchange with fixed beds for remove anions. **Water Eng.**,v.10, n.1, p.18-26, 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Panorama do enquadramento dos corpos d'água do Brasil e Panorama da qualidade das águas subterrâneas no Brasil**. Brasília, ANA. 2007. 124p.

ALABURDA, J.E.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. **Revista de Saúde Pública**, n.32,v.2. 1998. p.160-165.

ANSARI, M. H.; PARSA, J. Removal of nitrate from water by conducting polyaniline via electrically switching ion exchange method in a dual cell reactor: Optimizing and modeling, **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 158-170, 2016.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21th edn, American Public Health Association, Washington, 2005.

ASLAN, S. Combined removal of pesticides and nitrates in drinking waters using biodenitrification and sand filter system. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 417–424, 2005.

AUGUSTO, L. G. da S. O contexto global e nacional frente aos desafios do acesso adequado à água para consumo humano. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.17, n.6, p. 1511-1522, jun. 2012.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BARBOSA, C. F. **Hidrogeoquímica e a contaminação por nitrato em água subterrânea do bairro Piranema, Seropédica – RJ**. 2005. Dissertação (Mestrado em Geociências) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2005.

BARTUCCA M. L. et al. Nitrate removal from polluted water by using a vegetated floating system. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 803-808, 2016.

BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄB, M. A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 493–504, 2011.

BHATNAGAR, A. et al. Removal of nitrate from water by adsorption onto zinc chloride treated activated carbon, **Separation Science and Technology**, v.43, p. 886–907, 2008.

BIGUELINI, C. P.; GUMY, M. P. Saúde ambiental: índices de nitrato em águas subterrâneas de poços profundos na região sudoeste do Paraná. **Revista Faz Ciência**, v. 14, n. 20, p. 153-175, 2012.

BRASIL. Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 dez. 2011.

BUCCO, S. Drinking water decontamination by biological denitrification using fresh bamboo as inoculum source. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 37, p. 2009–2017, 2014.

CABRAL, N. M. T.; RIGHETTTO, A. M.; QUEIROZ, M. A. Comportamento do nitrato em poços do aquífero Dunas/Barreiras nas explorações Dunas e Planalto, Natal, RN, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 299–306, 2009.

CALLADO, N. H.; FORESTI, E. Ensaio de atividade desnitrificante utilizando diferentes fontes exógenas de carbono. In: VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, **Anais...** Vitória (ES), 2002, 8p.

CAO, S. M. de S. **Remoção biológica de matéria orgânica e nitrogênio de um efluente industrial em sistema de leito móvel com biofilme de dois estágios**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

CARNEIRO, R. B. **Utilização de glicerol como fonte de carbono para desnitrificação e remoção biológica de fósforo em reator submetido à aeração intermitente**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e saneamento) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

CHANG, C. C.; TSENG, S. K.; HUANG, H. K. Hydrogenotrophic denitrification with immobilized *Alcaligenes eutrophus* for drinking water treatment. **BioresourceTechnology**, v. 69, p. 53-58, 1999.

COSTA, C. L. et al. Avaliação da qualidade das águas subterrâneas em poços do estado do Ceará, Brasil. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 171-180, 2012.

COSTA, D. D.; KEMPKA, A.P.; SKORONSKI, E. A contaminação de mananciais de abastecimento pelo nitrato: o panorama do problema no Brasil, suas consequências e as soluções potenciais. **Revista Eletrônica do PRODEMA**, v. 10, n. 2, p. 49-61, 2016.

COSTA, T. M. de S. **Estudo da viabilidade técnica do emprego do bambu da espécie *bambusa vulgaris schard*. Como carvão vegetal**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, 2004.

CRUZ, M. L. S. **Caracterização física e mecânica de colmos inteiros do bambu da espécie *Phyllostachys aurea*: comportamento à flambagem**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

CYPLIK, P. Denitrification of industrial wastewater: Influence of glycerol addition on metabolic activity and community shifts in a microbial consortium. **Chemosphere**, v. 93, n.11, p. 2823-2831, 2013.

DALLAGO, R. C. **Remoção biológica de nitrogênio de efluente avícola usando reator em batelada sequencial**.2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2009.

DALLAGNOL, F. S. et al. Estimativa dos teores de carbono por espectroscopia no infravermelho em *merostachys skvortzovii* (bambusoidae). **Floresta Online**, v. 43, p. 281, 2013.

DEGHANI, M. et al. Optimizing Electrocoagulation Process for the Removal of Nitrate from Aqueous Solution. **Jundishapur J Health Sci**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2016.

DELGADO, P. S. **O bambu como material eco -eficiente: caracterização e estudos exploratórios de aplicações**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

DI BERNARDO, L.; SABOGAL-PAZ, L. P. **Seleção de Tecnologias de Tratamento de Água**. 1 ed. São Carlos: Cubo, 2009.

DIN 38405-9 (1979-05) **German Standard Methods for Examination of Water, Waste Water and Sludge; Anions (group D), Determination of Nitrate Ion (d 9)**.

EMAMJOMEH, M. M.; JAMALI, H. A.; MORADNIA, M. Optimization of nitrate removal efficiency and energy consumption using a batch monopolar electrocoagulation: prediction by rsm method. **Journal of Environmental Engineering**, v. 147, p. 1-8, 2017.

ENSIE, B.; SAMAD, S. Removal of nitrate from drinking water using nano SiO<sub>2</sub>-FeOOH-Fe core-shell. **Desalination**, v. 347, p. 1–9, 2014.

FELEKE, Z.; SAKAKIBARA, Y. A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide. **Water Research**, v.36, p. 3092-3102.

FRANCO NETO, I. F. **Estudo dos processos de nitrificação e desnitrificação numa Estação de Tratamento de Águas Residuais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa-PT, 2011.

GANESAN, P. et al. Application of isotherm, kinetic and thermodynamic models for the adsorption of nitrate ions on graphene from aqueous solution. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, p. 808-814, 2013.

GODOY, M. C. T. F. de et al. Contaminação das águas subterrâneas por nitrato em Presidente Prudente – SP, Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n.2, p. 208-214, 2004.

GROUNDWATER Denitrification Application of Biological for Nitrate Removal from District 37. Los Angeles, Califórnia: water quality & treatment solutions, inc.,2013. 37p.

HAMOUDA, S. B.; TOUATI, K.; AMOR, M. B. Donnan dialysis as membrane process for nitrate removal from drinking water: Membrane structure effect. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 287–292, 2017.

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

HUANG, T. et al. Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 209–216, 2015.

HUANG, Bin et al. Removal of highly elevated nitrate from drinking water by pH heterogenized heterotrophic denitrification facilitated with ferrous sulfide-based autotrophic denitrification. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10154–10157, 2011.

IMMICH, A. P. S.; GUELLI, U. de S. S. M. A.; SOUZA, A. A. U. de. Adsorption of Remazol Blue RR from Textile Effluents Using *Azadirachta indica* Leaf Powder as an Alternative Adsorbent. **Adsorption Science & Technology**, v. 27, p. 461-478, 2009.

KHANITCHAIDECHA, W.; SUMINO, T.; KAZAMA, F. Influence of carbon source on biological nitrogen removal by immobilised bacteria. **J. Water Resource and Protection**, v. 2, p. 527-531, 2010.

KIELING, D. D. **Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxicas**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

LIU, Y. et al. Removal of nitrate using *Paracoccus* sp . YF1 immobilized on bamboo carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v. 229–230, p. 419–425, 2012.

LOGANATHAN, P.; VIGNESWARAN, S.; KANDASAMY, J. Enhanced removal of nitrate from water using surface modification of adsorbents e A review. **Journal of Environmental Management**, v. 131, p. 363–374, 2013.

MAINTINGUER, S. I. et al. Evaluation of the microbial diversity of denitrifying bacteria in batch reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.30 n.3, p 457 - 465, 2013.

MELO, J. G. de et al. Problemas de manejo de águas subterrâneas em ambientes urbanos: o caso do Município de Natal, RN. In: XIX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 12, 2011, Maceió-Al. **Anais...** Maceio: Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso, 2011.

MELO NETO, R. R. et al. Nitrate removal from water using cashew bagasse chemically modified. **Revista Verde**, v. 8, n.4, p. 08-16, 2013.

MISHRA, P.C.; PATEL, R. K. Use of agricultural waste for the removal of nitrate-nitrogen from aqueous medium, **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 519–522, 2009.

MIZUTA, K. et al. Removal of nitrate-nitrogen from drinking water using bamboo powder charcoal, **Bioresour. Technol**, v. 95, p. 255–257, 2004.

MODIN, O.; FUKUSHI, K.; YAMAMOTO, K. Denitrification with methane as external carbon source. **Water Research**, v. 41, n. 12, p. 2726-2738, 2007.

MOGNON, F. Forest Ecology and Management Carbon stocks in bamboo ecosystems worldwide : estimates and uncertainties. **Forest Ecology and Management**, v. 393, p. 113–138, 2017.

MOHSENI-BANDPI, A.; ELLIOTT, D. J.; ZAZOULI, M. A. Biological nitrate removal processes from drinking water supply-a review. **Journal of Environmental Health Sciences & Engineering**. p. 1-11,2013.

NATIONAL Mission on Bamboo Applications - NMBA. Bamboo flooring, market assessment. MA 01. Nova Delhi, 2004.

OTENIO, M. H. et al. Qualidade da água utilizada para consumo humano de comunidades rurais do município de Bandeirantes-PR. **Salusvita, Bauru**, v. 26, n. 2, p. 85–91, 2007.

PATIL, I. D.; HUSAIN, M.; RAHANE, V. R. Ground water nitrate removal by using ‘Chitosan’ as an adsorbent. **International Journal of Modern Engineering Research**, v. 3, p. 346-349, 2013.

OLIVEIRA, S. J. de. **Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária**. 3ª ed. Canoas: Ulbra, 2012.

OSSE, V. C.; MEIRELLES, C. R. M. The potential of bamboo in minimizing the weather problems in urban areas. **Revista labverde**. v 03, p. 36-53, 2011.

OVEZ, B.; YUKSEL, M.; OZGEN, S. Biological denitrification in drinking water using *Glycyrrhiza glabra* and *Arunda donax* as the carbon source, **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1539-1544, 2006.

PANTOJA FILHO, J. L. R. **Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogênio em reator aeróbio-anóxico de leito fixo (raalf) aplicado ao pós- tratamento de efluente de reator anaeróbio**. 2011. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Campinas, 2011.

PEREIRA NETO, J. S. et al. Aplicação do bambu nas construções rurais. **Revista Educação Agrícola Superior**. v.24, n.2, p.67-77, 2009.

RAVNJAK, M.; VRTOVŠEK, J.; PINTAR, A. Denitrification of drinking water in a two-stage membrane bioreactor by using immobilized biomass. **Bioresource Technology**, v. 128, 804–808, 2013.

REZAEI, A et al. Isolation and characterization of a novel denitrifying bacterium with high nitrate removal: *Pseudomonas stutzeri*. **Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.**, v. 7, p. 313-318, 2010.

SALEM, Z. et al. Valorisation of olive pits using biological denitrification. **Desalination**, v. 204, p. 72–78, 2007.

SANTAFE-MOROS, A.; GOZALVEZ-ZAFRILLA, J.M.; LORA-GARCIA, J. Performance of commercial nanofiltration membranes in the removal of nitrate ions, **Desalination**, v. 185, p. 281–287, 2005.

SANT'ANNA JUNIOR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2010.

SANTOS, S. G. dos. **Utilização de metanol, etanol e metano como doadores de elétrons para a desnitrificação**. 2003. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

SHEN, J. et al. Biological denitrification of high-nitrate wastewater in a modified anoxic/oxic membrane bioreactor (A/O- MBR). **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 2-3, p. 595- 600, 2009.

SHRIMALI, M.; SINGH K. P. New methods of nitrate removal from water. **Environmental Pollution**, v. 112, p. 351- 359, 2001.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering: basic concepts**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2001.

SINGH, P. K. et al. Advances Kinetic and equilibrium modeling for removal of by a potential adsorbent , hydrous bismuth oxide. **RSC Advances**, v. 5, p. 35365–35376, 2015.

SILVA, F. de A. S. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric**, v. 11, p. 3733-3740, 2016.

SPIRO, T. G.; STIGLIANI, W. M. **Química ambiental**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009.

SOUSA, A. F. de. **Identificação, caracterização e estudo do crescimento e da capacidade de desnitrificação de uma bactéria marinha isolada de um filtro biológico**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Universidade do Porto, Porto, 2004.

SUN, H. et al. Denitrification using excess activated sludge as carbon source: performance and the microbial community dynamics. **Bioresour Technol**, v. 238, p. 624-632, 2017.

TEIXEIRA, A. A. **Painéis de bambu para habitações econômicas : avaliação do desempenho de painéis revestidos com argamassa**. 2006. Dissertação (Mestrado em

Arquitetura e Urbanismo) – Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

TEIXEIRA, R. M. **Remoção de nitrogênio de efluentes da indústria frigorífica através da aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação em biorreatores utilizados em um sistema de lagoas de tratamento.** 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2006.

TORRES, R. M. et al. Remoção biológica de nitrato em água de abastecimento utilizando o endocarpo de coco como fonte de carbono. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, v. 6, n. 2, p. 26–35, 2013.

TORRES, R. M. **Remoção biológica de nitrato em água de abastecimento humano utilizando o endocarpo de coco como fonte de carbono.** 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

USEPA United States Environmental Protection Agency. Municipal nutrient removal technologies -Reference document. EPA/832/R-08/006, 2008.

VASILIADOU, I.A. et al, Experimental and modelling study of drinking water hydrogenotrophic denitrification in packed-bed reactors. *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, p. 812–824, 2009.

VESILIND, P. A.; MORGAN, Susan. M. **Introdução à engenharia ambiental.** São Paulo: Cengage Learning, 2013.

VICTORIA, J. A. R. **Filtro biológico aeróbio-anóxico para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores UASB.** 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

WANG, J.; CHU, L. Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-phase denitrification process. *Biotechnology Advances*, v. 34, p. 1103–1112, 2016.

WASIK, E., BOHDZIEWICZ, J.; BŁASZCZYK, M. Removal of nitrates from ground water by a hybrid process of biological denitrification and microfiltration membrane. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 57 – 64, 2001.

WIESMANN, U.; CHOI, I.S.; DOMBROWSKI, E. M. **Fundamentals of Biological Wastewater Treatment.** 1º ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007.

XAVIER, L. M. **Caracterização química, física e mecânica do *Phyllostachys aurea* e sua resistência ao ataque de térmitas, preservado com ácido bórico e tanino condensável.** 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2004.

ZHANG, Y.; ANGELIDAK, I. I. A new method for in situ nitrate removal from groundwater using submerged microbial desalination e denitrification cell (SMDDC). **Water Research**, v. 47, p. 1827-1836, 2013.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, Á. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 29-42, 2016.